

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-1-10-18>

Комбретастатины А-4 и А-1 и их производные: обзор

Е.Р. Немцова, Н.Б. Морозова, А.Д. Плютинская, А.Н. Ноев, А.А. Панкратов, П.В. Шегай

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский пр., 3

Контакты: Елена Романовна Немцова nemtzh@yandex.ru

В обзоре литературы рассмотрены результаты исследований различных ингибиторов тубулина (основного компонента микротрубочек), преимущественно колхициноподобных соединений — комбретастатинов А-4 и А-1 (СА-4 и СА-1). Представлены данные исследований SAR (structure activity relation), механизмов действия, оцененных в системах *in vitro* (на культурах опухолевых клеток) и *in vivo* (у животных с привитыми опухолями мышей и ксенографтами опухолей человека различного гистогенеза), охарактеризовано фосфатное производное комбретастатина А-4 как vascular disrupting agent (VDAs), описаны подходы к получению аналогов СА-4, стабильных в *cis*-конфигурации, и способы повышения гидрофильности перспективных производных при сохранении их высокой цитотоксичности. Приведены данные о результатах клинических испытаний СА-4Р и СА-1Р, назначаемых индивидуально или в комбинации с химиопрепаратами.

На основании анализа имеющихся результатов исследований производных комбретастатинов А-4 и А-1 сделан вывод об отсутствии среди них в настоящее время идеального водорастворимого вещества со стабильной *cis*-конфигурацией молекулы и высокой цитотоксической активностью, на основе которого можно создать активное противоопухолевое лекарственное средство.

Целью обзора является систематизация данных о противоопухолевой активности, путях модификации и возможностях терапевтического использования соединений на основе комбретастатинов (СА-4 и СА-1) и их производных.

Ключевые слова: комбретастатины А-4 и А-1, структура производных, ингибиторы тубулина, разрушающие сосуды агенты, доклинические и клинические исследования

Для цитирования: Немцова Е.Р., Морозова Н.Б., Плютинская А.Д. и др. Комбретастатины А-4 и А-1 и их производные: обзор. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(1):10–8. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-1-10-18>

Combretastatins A-4 and A-1 and their derivatives: Review

Elena R. Nemtsova, Natalia B. Morozova, Anna D. Plyutinskaya, Alexey N. Noev, Andrey A. Pankratov, Peter V. Shegay

P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute — branch of the National Medical Research Radiological Centre, Ministry of Health of Russia; 3 2nd Botkinskiy pr., Moscow 125284, Russia

Contacts: Elena Romanovna Nemtsova nemtzh@yandex.ru

This modern literature review covers the results of study of the tubulin inhibitors, mainly combretastatins A-4 and A-1 (CA-4 and CA-1) or colchicinoids. The article presents data of SAR (Structure Activity Relation) study of numerous CA-4 analogues as well as mechanisms of their action evaluated *in vitro* (using cultured tumor cells) and *in vivo* (using animals with transplanted murine tumors or with xenografts of human tumors of various histogenesis). The phosphate CA-4 derivative (CA-4P) is characterized as a vascular disrupting agent (VDAs). Approaches are described for developing CA-4 analogues stable in *cis*-configuration as well as methods for enhancing hydrophilicity of promising derivatives along with retention of their high cytotoxicity. The results of various clinical trials both of CA-4P and CA-1P administered individually or in combination with chemotherapeutic drugs are also presented. Our conclusion is that despite numerous studies performed during the last thirty years no ideal water-soluble molecule with stable *cis*-configuration and high cytotoxic activity has been obtained which could become the basis of an active anti-tumor medicine.

The aim of the review is to present the systematic data on antitumor activity of combretastatin CA-4 and CA-1 analogues as well as the modes of their modification and therapeutic usage.

Keywords: combretastatins A-4 and A-1, structure of derivatives, tubulin inhibitors, vascular disrupting agents, preclinical and clinical trials

For citation: Nemtsova E.R., Morozova N.B., Plyutinskaya A.D. et al. Combretastatins A-4 and A-1 and their derivatives: Review. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2024;23(1):10–8. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-1-10-18>

Введение

Основной биологический процесс, обуславливающий канцерогенез и развитие опухоли, — неконтролируемое деление клеток. Ключевую роль в клеточном цикле играют микротрубочки [1]. Они были открыты примерно 50 лет назад и к настоящему времени стали одной из основных мишеней противоопухолевой терапии [2, 3]. Микротрубочки являются основным компонентом скелета эукариотических клеток и играют существенную роль в делении и формировании клеток вследствие образования веретена деления, а также в обеспечении подвижности клеток и внутриклеточного транспорта. Цитоскелет микротрубочек представляет собой разветвленную сеть филаментов, пронизывающих внутреннюю часть клетки [3]. Несмотря на функциональную гетерогенность, микротрубочки имеют высококонсервативную структуру, которая построена из однотипных молекулярных блоков гетеродимеров α - и β -тубулина, взаимодействующих с образованием протофиламентов, которые латерально связываются и формируют микротрубочки. Эти динамичные структуры постоянно удлиняются и укорачиваются во всех фазах клеточного цикла за счет добавления и удаления гетеродимеров тубулина на концах микротрубочек, а их взаимодействие с окружающими белками регулирует стабильность и подвижность [4, 5].

Основной компонент этих структур — белок тубулин — содержит несколько различных центров связывания: таксановый, лаулималидный, винкаалкалоидный и колхициновый, названных в соответствии с соединениями, способными связываться с тубулином [6, 7]. Упомянутые молекулы являются антимитотическими агентами, которые ингибируют не только митоз, предотвращая образование веретена деления, но и осуществляют арест клеточного цикла в интерфазе по различным механизмам [8, 9].

Таксаны, включая паклитаксел и доцетаксел, связываются с полимеризованными микротрубочками, способствуют их стабилизации и таким образом нарушают их динамику [10]. Лаулималид действует аналогично таксанам, но связывается с другим центром на микротрубочках [11]. Винкаалкалоиды, включая винбластин, винкристин и винорелбин, способствуют деполимеризации микротрубочек [12, 13]. Как правило, они с высокой аффинностью связываются

с молекулами тубулина на верхушках микротрубочек, но не сополимеризуются с ними, и это препятствует полимеризации тубулина. Еще одна группа соединений, влияющих на функциональное состояние микротрубочек, представлена колхицином и подобными ему агентами, которые также вызывают деполимеризацию [14–17]. В отличие от соединений, которые связываются с тремя другими центрами, колхицин и подобные ему соединения способны взаимодействовать с β -тубулином, в норме сополимеризующимся с α -тубулином с образованием микротрубочек. Однако в результате взаимодействия с колхицином образуется изогнутый димер тубулина, который не способен выпрямляться вследствие стерического конфликта между колхицином и α -тубулином, что создает препятствие для формирования микротрубочек.

Хорошо известно, что в результате широкомасштабных исследований, проведенных в мире с момента открытия важнейшей роли микротрубочек в динамике клеточного цикла и, соответственно, деления клеток, доказано противоопухолевое действие таксанов [10] и винкаалкалоидов [17]. Вследствие этого в последние 30 лет внимание исследователей привлекают в основном колхициноподобные соединения [18–20].

Колхицин эффективно ингибирует митоз путем дестабилизации тубулина. Поскольку скорость входа в митоз опухолевых клеток выше, чем нормальных, представлялось, что он может служить противоопухолевым средством. Однако оказалось, что колхицин имеет низкий терапевтический индекс в результате его выраженных токсических свойств. Колхицин вызывает повреждение костного мозга, обуславливающее снижение кроветворения по обоим росткам — красному и белому, а также поражение органов желудочно-кишечного тракта.

Несмотря на то что колхицин не используется в качестве противоопухолевого средства, широко развиваются исследования по разработке соединений, способных эффективно связываться с колхициновым центром на микротрубочках и ингибировать процессы деления опухолевых клеток и васкуляризации опухолей. Многие агенты, находящиеся в настоящее время в разработке, доклинических исследованиях и клинических испытаниях, являются

природными или полусинтетическими соединениями — комбретастинами. Благодаря структурному и функциональному сходству с колхицином они получили также название колхициноидов [20, 21].

Целью обзора является систематизация данных о противоопухолевой активности, путях модификации и возможностях терапевтического использования соединений на основе комбретастинов (СА-4 и СА-1) и их производных.

Комбретастины – ингибиторы полимеризации тубулина

Комбретастины — это класс *cis*-стильбеновых фенолов, впервые выделенных из африканской ивы — *Combretum caffrum* — в 1970-х годах [22]. Комбретастин А-4 (СА-4) (рис. 1, а) является наиболее изученным природным соединением этого класса, обладающим способностью связываться с колхициновым центром тубулина и ингибировать его полимеризацию, что приводит к повреждению микротрубочек и аресту клеточного цикла в стадии митоза вследствие предотвращения образования веретена деления [21]. Благодаря этому механизму СА-4 проявляет высокую цитотоксическую активность в отношении культивируемых опухолевых клеток.

Другим комбретастином, изучаемым для медицинских целей, хотя и меньше, чем СА-4, является комбретастин А-1 (СА-1); рис. 1, б [23].

Однако природные комбретастины, обладая липофильной структурой молекулы, очень слабо растворимы в водных средах, что сильно затрудняет разработку противоопухолевых препаратов на их основе и вынуждает исследователей искать более растворимые соединения — аналоги СА-4 и СА-1, не уступающие им в специфической активности.

Изучение зависимости функции СА-4 от структуры его молекулы (направление исследований, получившее название SAR Study — Structure Activity Relationship Study) позволило выяснить, что для оптимального проявления цитотоксической активности молекула комбретастина или его аналога должна обладать тремя основными характеристиками: иметь *cis*-ориентацию обоих ароматических колец, 3,4,5-триметоксигруппы на кольце А и пара-метоксигруппу на кольце В [24, 25].

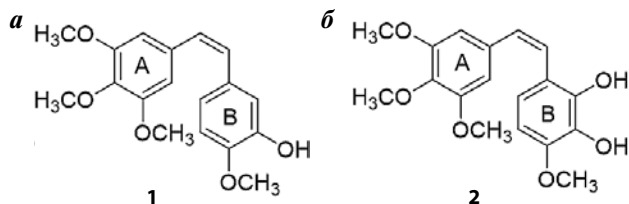


Рис. 1. Структуры молекул комбретастина: а — СА-4; б — СА-1
Fig. 1. Structures of combretastatin: а — СА-4; б — СА-1

Низкая растворимость комбретастинов в водных средах обуславливает их ограниченную биодоступность и быструю фармакокинетику в организме. Получение фосфорилированных молекул СА-4 и СА-1 (СА-4Р и СА-1Р соответственно) (рис. 2, а, б) является самым простым и очевидным способом улучшить растворимость комбретастинов [25, 23]. СА-4Р и СА-1Р являются пролекарствами, которые в организме быстро дефосфорилируются с образованием активных цитотоксических молекул СА-4 и СА-1.

Недостатком СА-4 и СА-1 является также их способность в белковых средах изомеризоваться по олефиновой двойной связи из активной цитотоксической *cis*-конформации в соответствующую *trans*-неактивную форму, что значительно снижает их ценность в качестве активного компонента противоопухолевого препарата и накладывает существенные ограничения на их клиническое применение. Вместе с тем разнообразные подходы, включающие получение пролекарств, солей, структурных модификаций, предотвращение конверсии олефиновой двойной связи и включение заместителей в ароматические кольца молекул, привели к успешному синтезу многих аналогов и производных комбретастинов, прежде всего СА-4, которые проявляют активность в отношении различных типов опухолевых клеток и ксенографтов в исследованиях *in vitro* и *in vivo* [21, 26–29].

Комбретастины – агенты, разрушающие сосуды

Наряду со способностью ингибировать образование микротрубочек и тем самым влиять на процессы деления клеток СА-4, СА-1 и их более растворимые

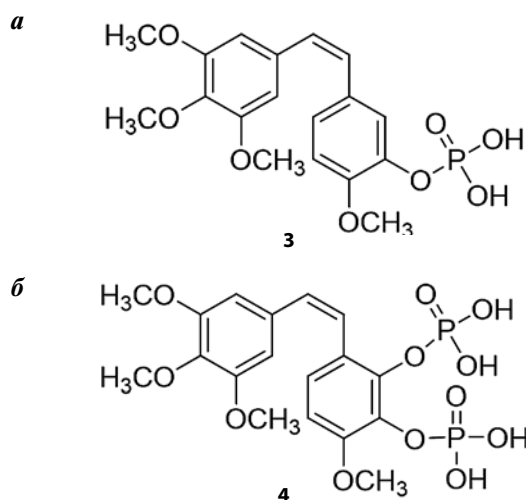


Рис. 2. Фосфорилированные производные комбретастина: а — А-4 (СА-4Р); б — комбретастин А-1 (СА-1Р)
Fig. 2. Phosphorylated derivatives of combretastatin: а — А-4 (СА-4Р); б — А-1 (СА-1Р)

фосфатные формы — CA-4P и CA-1P — проявляют также антивазкулярную активность, что способствует их противоопухолевому действию [30–32].

Формирование кровеносных сосудов в опухоли (ангиогенез) играет ключевую роль в ее развитии и прогрессии. При этом вновь образованные опухолевые сосуды отличаются от нормальных по клеточному составу и строению, но благодаря этим отличиям внутриопухолевая сосудистая система, помимо снабжения ткани кислородом и питательными веществами, существенно влияет на развитие гипоксии в новообразовании и формирование путей метастазирования и, соответственно, привлекает внимание исследователей как мишень противоопухолевой терапии.

Существуют 2 подхода к терапии, которые нацелены на внутриопухолевую сосудистую сеть: 1-й — ингибирование процесса ангиогенеза, т.е. формирования новых сосудов; 2-й — специфическое воздействие на существующие опухолевые сосуды агентами, разрушающими сосуды (vascular disrupting agents — VDAs).

Известны 3 группы VDAs:

- 1) препараты, дестабилизирующие микротрубочки;
- 2) флавоноиды с антивазкулярными функциями;
- 3) препараты, мишенью которых являются рецепторы эндотелиальных клеток.

Применение стратегии разрушения внутриопухолевых сосудов приводит к повреждению сосудистой сети, необходимой для прогрессии злокачественного процесса — роста первичного опухолевого узла и метастазирования. Антивазкулярные агенты вызывают быструю и селективную блокировку сосудов в опухоли, что обуславливает ишемию, индуцирующую гибель опухолевых клеток.

Наиболее изученным агентом в этой терапевтической стратегии является фосфат комбретастина А-4 (CA-4P), относящийся к 1-й группе VDAs [33]. Несмотря на то, что механизм избирательного повреждения опухолевых сосудов изучен не до конца, существуют данные о том, что этот эффект CA-4P обусловлен морфологическими и функциональными изменениями в пролиферирующих эндотелиальных клетках в опухоли за счет разрушения их цитоскелета. В основе этого процесса, по-видимому, лежит тот же механизм, что и при остановке деления опухолевых клеток. После поступления пролекарства CA-4P в эндотелиальные клетки и его дефосфорилирования активное лекарственное вещество CA-4 связывается с тубулином в колхициновом центре, что приводит к деполимеризации тубулина. В результате подавляется образование микротрубочек в клетках опухолевых сосудов, что обуславливает изменение формы и отрыв незрелых пролиферирующих эндотелиальных клеток [34]. Это, в свою очередь, вызывает повышение проницаемости сосудов и вязкости

крови, а соответственно, и прокоагуляционные эффекты [35]. Увеличение давления интерстициальной жидкости приводит к повреждению незрелых сосудов. В противоположность этим процессам, происходящим в незрелых клетках, высокоразвитый актиновый скелет нормальных зрелых эндотелиальных клеток противостоит такому разрушению, несмотря на деполимеризацию тубулина в цитоскелете. Помимо этого, присутствие нормальных гладкомышечных клеток ингибирует разрыв контактов между нормальными эндотелиальными клетками. Быстрые и селективные эффекты CA-4P в отношении внутриопухолевой васкуляризации были показаны *in vivo* в опухолевых моделях на грызунах и у пациентов со злокачественными новообразованиями [36–42].

Выключение опухолевых сосудов вследствие описанных процессов происходит в течение 1 ч после введения CA-4P крысам с подкожными ксенографтами злокачественных опухолей [35, 37, 43], а также у пролеченных больных [41]. Максимальное снижение внутриопухолевого кровотока наблюдается через 4–6 ч после введения CA-4P как у животных с опухолями, так и у исследуемых больных, и в зависимости от дозы лекарственного средства сохраняется в течение 12–24 ч. На основании данных накопления радиомеченного йодантипирина у крыс с подкожными ксенографтами саркомы в течение 6 ч после введения CA-4P внутриопухолевый кровоток в центральной части опухоли был 100-кратно снижен по сравнению с таковым у контрольных животных, тогда как кровоток в сердце, почках и тонком кишечнике практически не был изменен. Через 24 ч после введения CA-4P отмечена гибель большинства опухолевых клеток у грызунов.

Необходимо отметить, что у онкопациентов наблюдали минимальные побочные эффекты CA-4P после его введения, что, по-видимому, обусловлено коротким периодом полужизни (не более 30 мин) и обратимыми механизмами действия CA-4P [44–46].

Однако быстрое изменение пространственной конфигурации CA-4 и CA-4P и переход их в неактивную *trans*-форму обусловили необходимость искать пути стабилизации молекулы в *cis*-конфигурации.

Аналоги CA-4

Большинство исследований по разработке аналогов CA-4 было направлено на модификацию *cis*-олефиновой связи с целью предотвращения трансформации молекулы в *trans*-форму путем введения гетероциклических групп или замены олефиновой связи другим линкером. Параллельно с модификацией олефиновой связи нередко в кольцо А или В вводили различные заместители. В некоторых работах исследователи ограничивались только модификацией бензольных колец [21].

Гетероциклы играют важную роль в различных лекарственных средствах и активно используются для придания перспективным молекулам необходимых свойств. В большинстве случаев молекула комбретастина А-4 была модифицирована путем замены олефиновой связи на 5-членный гетероцикл с получением пирролов, имидазолов, изоксазолов, тиазолов и других производных [21].

Большая серия соединений на основе 1-(3,4,5-триметилксифенил)-2-арил-1*H*-имидазола была получена международной группой ученых [21, 47]. Исследователями было изучено влияние различных заместителей фенила во 2-м положении имидазольного кольца на биологическую активность соединений. Показано, что введение хлора и этоксигруппы в *мета*- и *пара*-положения, соответственно, приводило к получению наиболее активного соединения **5** (рис. 3), ингибирующего полимеризацию тубулина и, следовательно, нарушающего сборку микротрубочек, IC_{50} которого в отношении опухолевых клеток человека 7 различных клеточных линий (HeLa – карцинома шейки матки, HT-29 – карцинома толстой кишки, A-549 – карцинома легкого, MCF7-аденокарцинома молочной железы, Jurkat – Т-лимфоциты первоначально из крови больного острым лимфобластным лейкозом, RS4; 11 – лимфобласты из крови больного острым лимфобластным лейкозом, HL-60 – клетки из крови больного острым миелобластным лейкозом) находилась в пределах 0,4–3,8 нМ.

В системе *in vivo* на модели сингенной опухоли мышей (меланома мыши BL6-B16) была подтверждена противоопухолевая активность соединения **5** в дозе, в 30 раз меньшей, чем доза СА-4, использованной в качестве контроля.

Продолжение исследований привело к синтезу различных молекул на основе 2-метил-4-(3,4,5-триметоксифенил)-5-замещенных оксазолов и связанных с ними 4-замещенных-5-(3,4,5-триметоксифенил) региоизомерных производных [48]. Большая

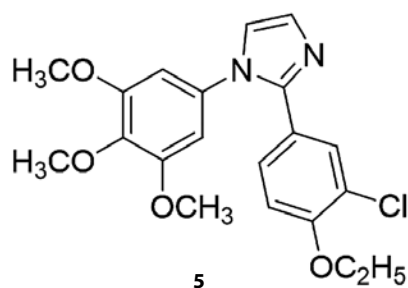


Рис. 3. Структура аналога комбретастина А-4 на основе *N*-замещенного имидазола (**5**), проявившего наибольшую активность в серии соединений, по данным [21]

Fig. 3. Structure of combretastatin A-4 analogue on the basis of *N*-substituted imidazole (**5**) with the most pronounced activity in the series of compounds according to data of [21]

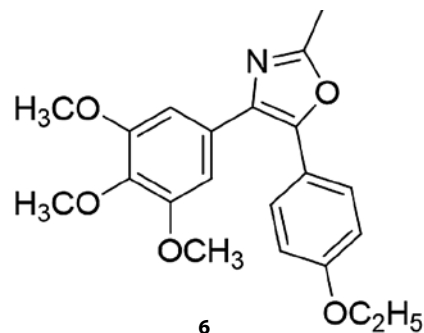


Рис. 4. Структура аналога комбретастина А-4 на основе 2-метилоксазола (**6**), проявившего наибольшую активность в серии соединений, по данным [48]

Fig. 4. Structure of combretastatin A-4 analogue on the basis of 2-methyl-oxazole (**6**) with the most pronounced activity in the series of compounds according to data of [48]

панель синтезированных соединений была протестирована для оценки их антипролиферативной активности, взаимодействия с тубулином, влияния на клеточный цикл в системе *in vitro* на культивируемых опухолевых клетках человека 7 линий, а также в системе *in vivo* для оценки противоопухолевой активности.

Соединение **6**, содержащее *n*-этоксифенильную группу в 5-м положении 2-метилоксазольного кольца (рис. 4), обладало IC_{50} 0,5–20,2 нМ в отношении исследованных опухолевых клеток и связывалось с колхициновым центром тубулина, ингибируя его полимеризацию в субмикромольных концентрациях. Более того, оно выражено индуцировало апоптоз по митохондриальному пути, а в системе *in vivo* на сингенной модели опухоли мышей (меланома мыши BL6-B16) существенно ингибировало рост опухоли в дозе, в 10 раз меньшей, чем СА-4 на той же модели [48].

Группой российских ученых по оригинальной методике также синтезирована серия аналогов СА-4 путем замещения олефиновой двойной связи гетероциклами, в ряде соединений дополненного введением заместителей в кольцо В [29].

Анализ цитотоксической активности полученных соединений на опухолевых клетках человека (A549 – карцинома легкого, PC-3 – аденокарцинома предстательной железы) позволил выявить наиболее активные из них – 4-(4-метоксифенил)-5-(3,4,5-триметоксифенил) изоксазол (**7**) и 3-(3,4,5-триметоксифенил)-4-(4-метоксифенил)изоксазол (**8**), с $IC_{50} \approx 8$ нМ (рис. 5, а, б) [49].

Из сказанного очевидно, что методы медицинской химии позволяют синтезировать множество ингибиторов полимеризации тубулина – аналогов СА-4, которые превышают по цитотоксической активности природное соединение – комбретастин А-4 – и обладают другими преимуществами по сравнению с ним [50]. Однако модификация молекулы СА-4 по

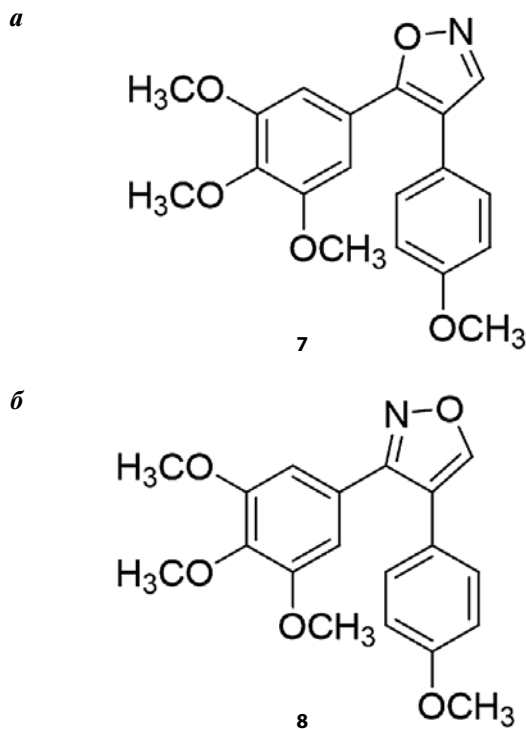


Рис. 5. Структуры аналогов комбретастина А-4 (7) и (8) (а, б), проявивших наибольшую активность в серии соединений, по данным [49]

Fig. 5. Structures of combretastatin A-4 analogues (7) and (8) (a, б) with the most pronounced activity in the series of compounds according to data of [49]

олефиновой связи не приводит к изменению очень важного для медицинского применения свойства — его растворимости в водных биологических средах [51–54]. Именно поэтому исследования продолжают в направлении создания активных водорастворимых молекул, отвечающих требованиям современной фармацевтики.

Как правило, растворимость соединений в водных средах можно повысить путем подбора соответствующей лекарственной формы или химической модификацией структуры молекулы. Недостатком первого пути может явиться повышение токсичности лекарственного средства вследствие необходимости добавления небезопасных вспомогательных веществ, способствующих растворению, поэтому химическая модификация самой молекулы представляется более предпочтительной.

Предпринятые усилия преодолеть низкую растворимость СА-4 привели к получению нескольких растворимых соединений — пролекарств, среди которых динатриевая соль фосфата СА-4 (СА-4Р, fosbretabulin, Zybrestat™), соль аминокислоты AVE8062 (ombrabulin, Sanofi-Aventis, аналог СА-4) и OXi4503 — фосфат комбретастина А1 (СА-1Р), которые получили разрешение на клинические испытания [55, 23].

Клинические испытания СА-4Р и СА-1Р

В 2003 г. фосфат СА-4 (СА-4Р, fosbretabulin, Zybrestat™) был одобрен FDA (США) и ЕМА (Европейское медицинское агентство) в качестве орфанного препарата для лечения больных анапластическим раком щитовидной железы. Несколько других аналогов СА-4 и СА-1 проходят доклиническое изучение в качестве противоопухолевых агентов, а 3 препарата (fosbretabulin, OXi4503, AVE8062) находятся на клинических испытаниях в рамках протоколов сочетанного применения с доцетакселом и другими химиопрепаратами.

В испытаниях I фазы СА-4Р вводили внутривенно однократно, в организме пролекарство быстро дефосфорилировалось и вызывало снижение кровотока в опухоли [25]. Полученный у больных эффект коррелировал с действием СА-4Р в качестве VDA, детектированным в доклинических испытаниях у животных [3, 43]. Разрушение сосудов опухоли приводит к прекращению снабжения опухолевых клеток кислородом и питательными веществами, что обуславливает их гибель. Клинические данные показали, что СА-4Р является короткоживущим — период его полужизни не превышает 30 мин. Он быстро выводится из кровотока, что способствует его хорошей переносимости.

Учитывая его антисосудистый эффект, предположили, что наибольшего эффекта можно ожидать при лечении больных с хорошо васкуляризированными опухолями [56]. Вследствие этого дальнейшие клинические испытания II фазы были проведены у больных анапластической карциномой щитовидной железы [57]. Однако в этом исследовании не удалось добиться увеличения общей и безрецидивной выживаемости, поэтому исследование было прекращено в 2007 г.

При оценке результатов комбинированной терапии (СА-4Р, карбоплатин, паклитаксел) в рамках III фазы клинических испытаний у больных анапластической карциномой щитовидной железы было выявлено, что пролекарство СА-4Р увеличивало общую выживаемость больных по сравнению с группой сравнения без СА-4Р на фоне приемлемого профиля токсичности. Однако поставленная цель двукратного увеличения медианы выживаемости не была достигнута [58]. По-видимому, быстрая трансформация молекулы в *trans*-форму, в 100 раз менее активную, чем *cis*-форма, обусловила недостаточно выраженный терапевтический эффект. Это предположение стимулировало синтез аналогов, модифицированных по двойной олефиновой связи, описанных выше, а также последнее исследование, описанное в литературе к настоящему моменту [59].

Параллельно в Великобритании проведено клиническое исследование IA-фазы, направленное на изучение безопасности и эффективности применения

препарата ОХi4503 (СА-1Р) для лечения острого миелобластного лейкоза [23]. Результаты этого пилотного исследования показали, что препарат имеет приемлемый профиль токсичности и, по предварительным данным, проявляет терапевтическую эффективность.

Однако задача получения высокоактивного водорастворимого аналога СА-4, сохраняющего *cis*-конфигурацию молекулы в биологических средах, по-прежнему оставалась весьма актуальной.

Группой китайских ученых проведено интересное исследование, позволившее в значительной степени приблизиться к решению этой задачи [59]. Первоначально к молекуле СА-4 была присоединена аминогруппа в кольцо В, а затем цианогруппа по олефиновой связи с получением соединения **9a**, что, с одной стороны, сделало структуру нитрилостильбена более устойчивой, а с другой стороны, еще менее водорастворимой (рис. 6, а). Поскольку это соединение содержит аминогруппу в кольце В, которая достаточно реакционноспособна, была получена серия производных с присоединенным пиперазиновым кольцом с различными заместителями и оценено их влияние на растворимость соединений.

Наиболее растворимыми оказались соединения **9b** и **9c** (см. рис. 6, в, з), растворимость которых в воде превышала таковую у соединения **9a** (см. рис. 6, а) примерно в 1700 и 2500 раз соответственно. Однако изменение структуры молекулы с целью увеличения ее гидрофильности снижало цитотоксическую активность соединений.

Тщательное сравнение свойств полученных соединений позволило сделать вывод о том, что молекула **9b** (см. рис. 6, в) является наиболее перспективной для использования ее в качестве активного компонента при разработке лекарственного средства. Тем не менее исследователи справедливо заключают, что требуется провести полноценные доклинические испытания этого вещества, прежде чем его можно будет рекомендовать для клинического изучения.

Заключение

В обзоре представлены современные данные о комбретастинах А4 и А1, путях их модификации

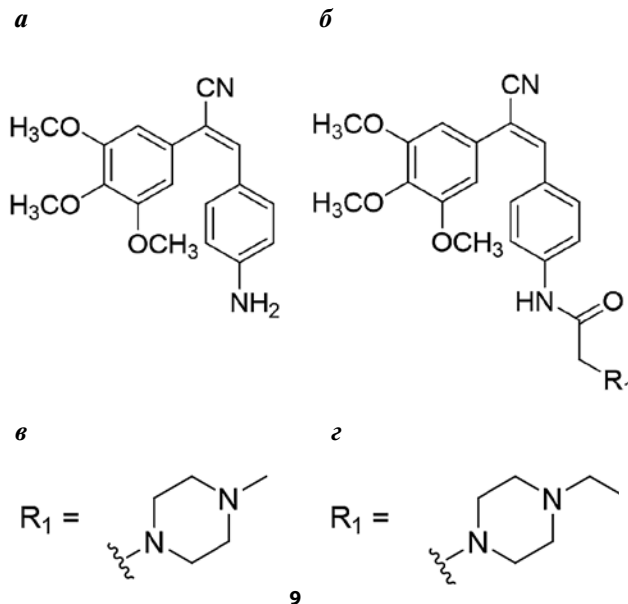


Рис. 6. Структуры водорастворимых аналогов комбретастина А-4 (а–з), по данным [59]

Fig. 6. Structures of water-soluble combretastatin A-4 analogues (a–z) according to data of [59]

и получении производных с различной структурой молекул, связи ее с цитотоксичностью. Рассмотрены также возможности использования аналогов комбретастинов для создания активного противоопухолевого средства. Обсуждены недостатки комбретастинов как гидрофобных соединений и их структурные особенности — переход из активной *cis*-формы в неактивную *trans*-форму в биологических средах, который диктует необходимость синтезировать новые более активные соединения.

К сожалению, приходится констатировать, что, несмотря на многолетние разнообразные исследования, проведенные в области синтеза и изучения аналогов комбретастинов А-4 и А-1, к настоящему моменту не получено водорастворимой молекулы с высокой цитотоксической активностью, полностью отвечающей требованиям фармацевтики в плане создания биодоступного противоопухолевого лекарственного средства на ее основе.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ong J.Y., Torres J.Z. Phase separation in cell division. *Mol Cell* 2020;80(1):9–20. DOI: 10.1016/j.molcel.2020.08.007
2. Akhmanova A., Steinmetz M.O. Control of microtubule organization and dynamics: Two ends in the limelight. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015;16(12):711–26. DOI: 10.1038/nrm4084
3. Janke C., Magiera M.M. The tubulin code and its role in controlling microtubule properties and functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020;21(6):307–26. DOI: 10.1038/s41580-020-0214-3
4. Steinmetz M.O., Prota A.E. Microtubule-targeting agents: Strategies to hijack the cytoskeleton. *Trends Cell Biol* 2018;28(10):776–92. DOI: 10.1016/j.tcb.2018.05.001
5. Goodson H.V., Jonasson E.M. Microtubules and microtubule-associated proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2018;10(6):a022608. DOI: 10.1101/cshperspect.a022608
6. Vindya N.G., Sharma N., Yadav M., Ethiraj K.R. Tubulins — the target for anticancer therapy. *Curr Top Med*

- Chem 2015;15(1):73–82.
DOI: 10.2174/1568026615666150112115805
7. Parker A.L., Teo W.S., McCarroll J.A., Kavallaris M. An emerging role for tubulin isotypes in modulating cancer biology and chemotherapy resistance. *Int J Mol Sci* 2017;18(7):1434. DOI: 10.3390/ijms18071434
 8. Cheng Z., Lu X., Feng B. A review of research progress of antitumor drugs based on tubulin targets. *Transl Cancer Res* 2020;9(6):4020–27. DOI: 10.21037/tcr-20-682
 9. Zhou X., Xu Z., Li A. et al. Double-sides sticking mechanism of vinblastine interacting with α , β -tubulin to get activity against cancer cells. *J Biomol Struct Dyn* 2019;37(15):4080–91. DOI: 10.1080/07391102.2018.1539412
 10. Mosca L., Ilari A., Fazi F. et al. Taxanes in cancer treatment: Activity, chemoresistance and its overcoming. *Drug Resist Updat* 2021;54:100742. DOI: 10.1016/j.drug.2020.100742
 11. Castro-Alvarez A., Pineda O., Villarrasa J. Further insight into the interactions of the cytotoxic macrolides Lauimalide and Peloruside A with their common binding site. *ACS Omega* 2018;3(2):1770–82. DOI: 10.1021/acsomega.7b01723
 12. Martino E., Casamassima G., Castiglione S. et al. Vinca alkaloids and analogues as anti-cancer agents: Looking back, peering ahead. *Bioorg Med Chem Lett* 2018;28(17):2816–26. DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.06.044
 13. Tang S., Zhou Z., Jiang Z. et al. Indole-based tubulin inhibitors: binding modes and SARs investigations. *Molecules* 2022;27(5):1587. DOI: 10.3390/molecules27051587
 14. Lu Y., Chen J., Xiao M. et al. An Overview of tubulin Inhibitors that interact with the colchicine binding site. *Pharm Res* 2012;29(11):2943–71. DOI: 10.1007/s11095-012-0828-z
 15. Kumar A., Sharma P.R., Mondhe D.M. Potential anticancer role of colchicine-based derivatives: An overview. *Anticancer Drugs* 2017;28(3):250–62. DOI: 10.1097/CAD.0000000000000464
 16. McLoughlin E.C., O'Boyle N.M. Colchicine-binding site inhibitors from chemistry to clinic: A review. *Pharmaceuticals* 2020;13(1):8. DOI: 10.3390/ph13010008
 17. Dhyani P., Quispe C., Sharma E. et al. Anticancer potential of alkaloids: A key emphasis to colchicine, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine and vincamine. *Cancer Cell International* 2022;22(1):206. DOI: 10.1186/s12935-022-02624-9
 18. Jaroch K., Karolak M., Górski P. et al. Combretastatins: *In vitro* structure-activity relationship, mode of action and current clinical status. *Pharmacol Rep* 2016;68(6):1266–75. DOI: 10.1016/j.pharep.2016.08.007
 19. Johnson L., Goping I.S., Rieger A. et al. Novel colchicine derivatives and their anti-cancer activity. *Curr Top Med Chem* 2017;17(22):2538–58. DOI: 10.2174/1568026617666170104143618
 20. Karatoprak G.S., Akkol E.K., Genç Y. et al. Combretastatins: An overview of structure, probable mechanisms of action and potential applications. *Molecules* 2020;25(11):2560. DOI: 10.3390/molecules25112560
 21. Seddigi Z.S., Malik M.S., Saraswati A.P. et al. Recent advances in combretastatin based derivatives and prodrugs as antimetabolic agents. *Med Chem Comm* 2017;8(8):1592–603. DOI: 10.1039/c7md00227k
 22. Li W., Sun H., Xu S. et al. Tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site: A perspective of privileged structures. *Future Med Chem* 2017;9(15):1765–94. DOI: 10.4155/fmc-2017-0100
 23. Cogle C.R., Collins B., Turner D. et al. Safety, feasibility and preliminary efficacy of single agent combretastatin A1 diphosphate (OXI4503) in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 2020;189(5):e194–221. DOI: 10.1111/bjh.16629
 24. Song M.Y., He Q.R., Wang Y.L. et al. Exploring diverse-ring analogues on combretastatin A4 (CA-4) olefin as microtubule-targeting agents. *Int J Mol Sci* 2020;21(5):1817. DOI: 10.3390/ijms21051817
 25. Siemann D.W., Chaplin D.J., Walicke P.A. A review and update of the current status of the vasculature disabling agent combretastatin-A4 phosphate (CA4P). *Expert Opin Investig Drugs* 2009;18(2):189–97. DOI: 10.1517/13543780802691068
 26. Nainwal L.M., Alam M.M., Shaquiquzzaman M. et al. Combretastatin-based compounds with therapeutic characteristics: A patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2019;29(19):703–31. DOI: 1080/13543776.2019.1651841
 27. Piekuś-Slomka N., Mikstacka R., Ronowicz J., Sobiak S. Hybrid *cis*-stilbene molecules: Novel anticancer agents. *Int J Mol Sci* 2019;20(6):1300. DOI: 10.3390/ijms20061300
 28. Hura N., Sawant A.V., Kumari A. et al. Combretastatin-inspired heterocycles as antitubulin anticancer agents. *ACS Omega* 2018;3(8):9754–69. DOI: 10.1021/acsomega.8b00996
 29. Каприн А.Д., Шерай П.В., Немцова Е.Р. и др. Способ получения 4,5-диарилазолов. Патент РФ № 2799312, рег. 4 июля 2023 г. Каприн А.Д., Шерай П.В., Немцова Е.Р. et al. Method of 4,5-diarylazoles synthesis. Patent RF № 2799312, reg. 4 July 2023.
 30. Tozer G.M., Prise V.E., Wilson J. et al. Combretastatin A-4 phosphate as a tumor vascular-targeting agent: Early effects in tumors and normal tissues. *Cancer Res* 1999;59(7):1626–34. PMID: 10197639
 31. Galbraith S.M., Chaplin D.J., Lee F. et al. Effects of combretastatin A4 phosphate on endothelial cell morphology in vitro and relationship to tumour vascular targeting activity in vivo. *Anticancer Res* 2001;21(1A):93–102. PMID: 11299795
 32. Vincent L., Kermani P., Young L.M. et al. Combretastatin A-4 phosphate induces rapid regression of tumor neovessels and growth through interference with vascular endothelial cadherin signaling. *J Clin Invest* 2005;115(11):2992–3006. DOI: 10.1172/JCI24586
 33. Tozer G., Prise V.E., Wilson J. et al. Mechanisms associated with tumor vascular shut-down induced by combretastatin A-4 phosphate: Intravital microscopy and measurement of vascular permeability. *Cancer Res* 2001;61(17):6413–22. PMID: 11522635
 34. Kanthou C., Tozer G.M. The tumor vascular targeting agent combretastatin A-4-phosphate induces reorganization of the actin cytoskeleton and early membrane blebbing in human endothelial cells. *Blood* 2002;99(6):2060–9. DOI: 10.1182/blood.v99.6.2060
 35. Thoeny H.C., De Keyser F., Vandecaveye V. et al. Effect of vascular targeting agent in rat tumor model: dynamic contrast-enhanced versus diffusion-weighted MR imaging. *Radiology* 2005;237(2):492–9. DOI: 10.1148/radiol.2372041638
 36. Dark G.G., Hill S.A., Prise V.E. et al. Combretastatin A-4, an agent that displays potent and selective toxicity toward tumor vasculature. *Cancer Research* 1997;57(10):1829–34. PMID: 9157969
 37. Wang H., Sun X., Chen F. et al. Treatment of rodent liver tumor with combretastatin A4 phosphate: noninvasive therapeutic evaluation using multiparametric magnetic resonance imaging in correlation with microangiography and histology. *Invest Radiol* 2009;44(1):44–53. DOI: 10.1097/RLI.0b013e31818e5ace
 38. Smolarczyk R., Czapla J., Jarosz-Biej M. et al. Vascular disrupting agents in cancer therapy. *Eur J Pharm* 2021;891:173692. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173692
 39. Bi R., Balasundaram G., Jeon S. et al. Photoacoustic microscopy for evaluating combretastatin A4 phosphate induced vascular disruption in orthotopic glioma. *J Biophotonics* 2018;11(10):e201700327. DOI: 10.1002/jbio.201700327
 40. Fruytier A.C., Le Du C.S., Po C. et al. The blood flow shutdown induced by combretastatin A4 impairs gemcitabine delivery in a mouse hepatocarcinoma. *Front Pharmacol* 2016;7:506. DOI: 10.3389/fphar.2016.00506
 41. Dowlati A., Robertson K., Cooney M. et al. A phase I pharmacokinetic and translational study of the novel vascular targeting agent combretastatin A-4 phosphate on a single-dose intravenous schedule in patients with advanced cancer. *Cancer Research* 2002;62(12):3408–16. PMID: 12067983

42. Anderson H., Yap J., Miller M. et al. Assessment of pharmacodynamic vascular response in a phase I trial of combretastatin A4 phosphate. *J Clin Oncol* 2003;21(15):2823–30. DOI: 10.1200/JCO.2003.05.186
43. Abma E., Daminet S., Smets P. et al. Combretastatin A4-phosphate and its potential in veterinary oncology: A review. *Vet Comp Oncol* 2017;15(1):184–93. DOI: 10.1111/vco.12150
44. Grisham R., Ky B., Tewari K.S. et al. Clinical trial experience with CA4P anticancer therapy: Focus on efficacy, cardiovascular adverse events, and hypertension management. *Gyn Oncol Res Pract* 2018;5:1. DOI: 10.1186/s4066-017-0058-5
45. Mooney C.J., Nagaiah G., Fu P. et al. A phase ii trial of fosbretabulin in advanced anaplastic thyroid carcinoma and correlation of baseline serum-soluble intracellular adhesion molecule-1 with outcome. *Thyroid* 2009;19(3):233–40. DOI: 10.1089/thy.2008.0321
46. Rustin G.J., Galbraith S.M., Anderson H. et al. Phase I clinical trial of weekly combretastatin A4 phosphate: Clinical and pharmacokinetic results. *J Clin Oncol* 2003;21(15):2815–22. DOI: 10.1200/JCO.2003.05.185
47. Romagnoli R., Baraldi P.G., Precipe F. et al. Design and synthesis of potent *in vitro* and *in vivo* anticancer agents based on 1-(3',4',5'-trimethoxyphenyl)-2-aryl-1H-imidazole. *Sci Rep* 2016;6:26602. DOI: 10.1038/srep26602
48. Romagnoli R., Baraldi P.G., Precipe F. et al. Synthesis and biological evaluation of 2-methyl-4,5-disubstitutedoxazoles as a novel class of highly potent antitubulin agents. *Sci Rep* 2017;7:46356. DOI: 10.1038/srep46356
49. Plyutinskaya A.D., Nemtsova E.R., Pankratov A.A. et al. Cytostatic activity of combretastatin A-4 derivatives in an *in vitro* system. *Bull Exp Biol Med* 2022;174(2):221–5. DOI: 10.1007/s10517-023-05677-6
50. Faustino C., Francisco A.P., Isca V.M., Neelia D. Cytotoxic stilbenes and derivatives as promising antimitotic leads for cancer therapy. *Curr Pharm Des* 2018;24(36):4270–311. DOI: 10.2174/138161282566619011123959
51. Oliva P., Romagnoli R., Cacciari B. et al. Synthesis and biological evaluation of highly active 7-anilino triazolopyrimidines as potent antimicrotubule agents. *Pharmaceutics* 2022;14(6):1191. DOI: 10.3390/pharmaceutics14061191
52. González M., Ellahioui Y., Álvarez R. et al. The masked polar group incorporation (MPGI) strategy in drug design: Effects of nitrogen substitutions on combretastatin and isocombretastatin tubulin inhibitors. *Molecules* 2019;24(23):4319. DOI: 10.3390/molecules24234319
53. Mustafa M., Anwar S., Elgamel F. et al. Potent combretastatin A-4 analogs containing 1,2,4-triazole: Synthesis, antiproliferative, anti-tubulin activity, and docking study. *Eur J Med Chem* 2019;183:111697. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111697
54. O'Boyle N.M., Ana G., Kelly P.M. et al. Synthesis and evaluation of antiproliferative microtubule-destabilising combretastatin A-4 piperazine conjugates. *Org Biomol Chem* 2019;17(25):6184–200. DOI: 10.1039/c9ob0058g
55. Eskens F.A., Tresca P., Tosi D. et al. A phase I pharmacokinetic study of the vascular disrupting agent ombrabulin (AVE8062) and docetaxel in advanced solid tumours. *Br J Cancer* 2014;110(9):2170–7. DOI: 10.1038/bjc.2014.137
56. Yeung S.C., She M., Yang H. et al. Combination chemotherapy including combretastatin A-4 phosphate and paclitaxel is effective against anaplastic thyroid cancer in a nude mouse xenograft model. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(8):2902–9. DOI: 10.1210/jc.2007-0027
57. Sosa J.A., Elisei R., Jarzab B. et al. Randomized safety and efficacy study of fosbretabulin with paclitaxel/carboplatin against anaplastic thyroid carcinoma. *Thyroid* 2014;24(2):232–40. DOI: 10.1089/thy.2013.0078
58. Qian C., Jiang L., Xu S. et al. Advances in targeted therapy for anaplastic thyroid carcinoma. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2021;50(6):685–93. DOI: 10.3724/zdxbyxb-2021-0249
59. Chen Z.-H., Xu R.-M., Zheng G.-H. et al. Development of combretastatin A-4 analogues as potential anticancer agents with improved aqueous solubility. *Molecules* 2023;28(4):1717. DOI: 10.3390/molecules28041717

Вклад авторов

Е.Р. Немцова: концепция и методология, анализ данных, подготовка текста, редактирование статьи;
 Н.Б. Морозова: методология, анализ данных, подготовка текста, редактирование статьи;
 А.Д. Плютинская: методология, анализ данных, редактирование статьи;
 А.Н. Ноев: программное обеспечение, редактирование статьи;
 А.А. Панкратов: обеспечение ресурсов, администрирование проекта, анализ данных, редактирование статьи;
 П.В. Шерай: обеспечение ресурсов, администрирование проекта, редактирование статьи.

Author's contributions

E.R. Nemtsova: conceptualization, methodology, data analysis, writing and editing of the manuscript;
 N.B. Morozova: methodology, data analysis, writing and editing of the manuscript;
 A.D. Plyutinskaya: methodology, data analysis, editing of the manuscript;
 A.N. Noev: software, editing of the manuscript;
 A.A. Pankratov: resources, project administration, data analysis, editing of the manuscript;
 P.V. Shegay: resources, project administration, editing of the manuscript.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.Р. Немцова / E.R. Nemtsova: <https://orcid.org/0000-0002-3579-1733>
 Н.Б. Морозова / N.B. Morozova: <https://orcid.org/0000-0002-7159-805X>
 А.Д. Плютинская / A.D. Plyutinskaya: <https://orcid.org/0000-0002-6898-2931>
 А.Н. Ноев / A.N. Noev: <https://orcid.org/0000-0003-2245-4946>
 А.А. Панкратов / A.A. Pankratov: <https://orcid.org/0000-0001-7291-9743>
 П.В. Шерай / P.V. Shegay: <https://orcid.org/0000-0001-9755-1164>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 11.10.2023. **Принята в печать:** 05.02.2024.

Article received: 11.10.2023. **Accepted for publication:** 05.02.2024.