

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© ТРЕЩАЛИН М.И., НЕБОРАК Е.В., 2018
УДК 615.355:577.152.52].015.4

Трещалин М.И.¹, Неборак Е.В.²

ТОПОИЗОМЕРАЗЫ: ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ, КЛАССИФИКАЦИЯ, КЛЕТОЧНЫЕ ФУНКЦИИ, ИНГИБИТОРЫ, АНТРАФУРАНДИОН

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе», 119021, г. Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, г. Москва, Россия

Топоизомеразы, влияющие на топологию ДНК и способные релаксировать их сверхспирализованные молекулы путём внесения одно- или двухпочечных разрывов с последующим восстановлением, а также отрицательных супервитков или катенанов, известны как мишени для противоопухолевой терапии. Ингибиторы этих ферментов различной природы и химической структуры широко используются для подавления активности опухолевых топоизомераз I и/или II типа с блокированием клеток в фазе G₂ и задержкой их вступления в митоз. Наиболее чувствительными к этим препаратам оказались такие труднокурабельные опухоли, как колоректальный рак, рак желудка, немелкоклеточный рак лёгкого и пр. Поиски перспективных противоопухолевых ингибиторов ведутся, в основном, в рядах некамптотециновых агентов, среди которых наиболее значимые результаты демонстрируют гетероциклические конденсированные азотсодержащие соединения, в частности антрафурандионы. Описанию свойств топоизомераз-мишеней и их ингибиторов из перспективных классов посвящён данный обзор тематической литературы за 2011–2018 гг.

Цель исследования: оценка перспектив поиска новых противоопухолевых ингибиторов топоизомераз среди синтетических некамптотециновых соединений.

Задачи исследования:

Анализ сигнальных характеристик топоизомераз как мишеней для противоопухолевых некамптотециновых ингибиторов.

Выявление взаимосвязи структура–активность в рядах потенциальных ингибиторов топоизомераз.

Выбор наиболее перспективного некамптотецинового ингибитора топоизомераз в ряду гетероциклических соединений на основе сравнительного анализа структуры и свойств.

Материал и методы. *Аналізу подвергнуты материалы 41 научной статьи, опубликованной в ведущих биологических, биохимических и химических журналах разных стран мира в течение 8 последних лет. Структура обзора соответствует цели и задачам научного анализа. Заключение резюмирует мнение авторов, представляющие основные факторы эффективности изучаемых соединений: биохимию, фармакологию и токсикологию.*

Результаты. *Анализ тематической литературы показал, что топоизомеразы являются значимыми мишенями для таргетной противоопухолевой терапии тяжёлой онкологической патологии. В связи с этим в последние годы среди ингибиторов топоизомераз ведутся интенсивные поиски самых разнообразных лекарственных средств. Исследователи модифицируют известные базовые структуры, а также синтезируют новые. Открытие Тор-ингибирующей активности известных препаратов расширяет сведения о механизме их действия. Для выявления способности лекарственного соединения к угнетению активности топоизомераз применяют методы с использованием плазмидных ДНК. Параллельно изучается цитотоксическая активность, а также такие показатели, как индукция апоптоза, в том числе путём активации каспаз, изменение митохондриального потенциала, влияние на маркер апоптоза p53 и другие. Несомненную актуальность имеют исследования, направленные на выявление новых активных некамптотециновых пероральных ингибиторов топоизомераз среди производных антрациклинов. Такие агенты, в отличие от доксорубина (антрациклинового антибиотика, широко применяемого для лечения злокачественных новообразований), имеют умеренно выраженные токсические свойства и позволяют контролировать рост солидных опухолей и лейкозов при использовании в монорежиме.*

Заключение. *С точки зрения поиска оригинальных противоопухолевых средств, одним из наиболее перспективных является класс гетероциклических азотсодержащих соединений, прежде всего антрахинонов, представители которого проявляют выраженные свойства ингибиторов топоизомераз. Результаты химических и биологических исследований соединений этого ряда были положены в основу разработки лекарственных субстанций и их оптимальных лекарственных форм. Прогностически значимые данные, полученные в ходе доклинических исследований, позволяют надеяться, что созданные противоопухолевые средства проявят высокую эффективность при клинических испытаниях.*

Ключевые слова: *топоизомеразы; особенности действия; классификация; клеточные функции; ингибиторы; антрафурандион.*

Для цитирования: Трещалин М.И., Неборак Е.В. Топоизомеразы: особенности действия, классификация, клеточные функции, ингибиторы, антрафурандион. *Российский онкологический журнал*. 2018; 23 (2): 60–70. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2018-23-2-60-70>

Для корреспонденции: Трещалин Михаил Иванович, научный сотрудник лаборатории фармакологии и химиотерапии; 119021, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11, стр. 1. E-mail: funky@beatween.ru

Treshalin M.I.¹, Neborak E.V.²

TOPOISOMERASES: FEATURES OF THE ACTION, CLASSIFICATION, CELL FUNCTIONS, INHIBITION, ANTHRACURANDION

¹Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, 119021, Russian Federation;

²The Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198, Russian Federation

Introduction. *Topoisomerases influence on DNA topology and are capable of running down their super spiraling molecules by importation of one- or two-chained ruptures with the subsequent restitution and also the negative super rounds or catenae's. Topoisomerases are known to be targets for antineoplastic therapy. Inhibitors of these enzymes of various nature and chemical structure are widely used for the suppression of tumor Topoisomerase I and/or II activity with the blocking cells in the phase G2 and a delay of their introduction in mitosis. Such difficult curable tumors as colorectal cancer, carcinoma of the stomach, non-small cell lung cancer and so forth are the most sensitive to these drugs. The search of perspective antineoplastic inhibitors is implemented generally in ranks of the non-camptothecin agents among which heterocyclic condensed nitrogenous compounds, in particular, anthracurandiones show the most significant results. The review of thematic literature from 2011 to 2018 is devoted to the description of properties of topoisomerase as targets and their inhibitors from perspective classes.*

Objectives:

1. The analysis of signal characteristics of topoisomerases as targets for anticancer non-camptothecin inhibitors.
2. Identification of structure-activity relationship in the ranks of potential inhibitors of topoisomerases.
3. The choice of the most perspective non-camptothecin topoisomerase inhibitors among heterocyclic condensed nitrogenous compounds on the basis of the comparative analysis of structure and properties.

Material and methods. *Materials of 79 scientific articles published in the leading biological, biochemical and chemical journals of the different countries within the 8 last years are subjected to the analysis. The structure of the review meets the purpose and tasks of the scientific analysis.*

Results. *The analysis of the thematic literature showed topoisomerases to be relevant targets for antineoplastic therapy of severe oncological pathology. In this regard, intensive search of various pharmaceuticals among topoisomerase inhibitors is performed in recent years. Researchers modify the known basic structures as well as synthesize new compounds. The discovery of a top-directional effect of the known medicines expands the data on their mechanism of the action. To identify the topoisomerase inhibitory activity of the drug the methods with the use of plasmid DNA is applied. The cytotoxic activity, apoptosis induction, including the caspases activation, modification of mitochondrial potential, influence on p53 and others are examined in parallel studies. The research directed on the identification of new effective non-camptothecin oral topoisomerase inhibitors among the anthracycline derivatives are of undoubted relevance. Such agents, in contrast to Doxorubicin (anthracycline antibiotic widely used for tumor therapy), have moderate toxicity and allow to control the growth of solid tumors and leukemia in mono-therapy mode.*

Conclusion. *In terms of searching of original antineoplastic agents, a class of heterocyclic condensed nitrogenous compounds, first of all, the anthraquinones showing properties of topoisomerase inhibitors is one of the most promising. The results of chemical and biological research of the compounds of this series were laid in a basis of the design of medicinal substances and their drug formulations. Prognostically significant data obtained in preclinical testing allow us to hope that obtained antitumor agents will be highly effective on a clinical stage of trials.*

Key words: *topoisomerase; action mechanism; classification; cellular functions; inhibitors; anthracurandione.*

For citation: Treshalin M.I., Neborak E.V. Topoisomerases: features of the action, classification, cell functions, inhibition, anthracurandion. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. (Russian Journal of Oncology).* 2018; 23 (2): 60–70. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2018-23-2-60-70>

For correspondence: Michael I. Treshalin, MD, senior researcher of the Laboratory of pharmacology and chemotherapy of the Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, 119021, Russian Federation. E-mail: funky@beatween.ru

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

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 23 April 2018

Accepted 17 May 2018

Топоизомеразы: механизм действия и классификация

ДНК-топоизомеразы – это ферменты, ответственные за регуляцию топологии ДНК. Они вносят в структуру ДНК разрывы, а после релаксации суперспирали повторно их лигируют [1, 2]. В тексте арабские цифры использованы для обозначения фермента, римские – для обозначения его типа. Существует два типа топоизомераз ДНК: тип I и тип II. Недавний обзор J. Delgado посвящён детальному анализу каталитического механизма и функций топоизомераз [3]. Топоизомеразы I типа разрывают одну из цепочек дуплексной ДНК, тем самым давая возможность либо прохождению другой цепи ДНК через разрыв, либо вращению нижестоящего дуплекса ДНК вокруг

разрыва с последующим «зашиванием». В результате они изменяют степень спирализации на 1 шаг [1–4]. Известны три подтипа топоизомераз I типа: IA, IB и IC. Для топоизомераз подтипа IA требуется «ник» (одноцепочечный разрыв) для связывания с ДНК. Они расщепляют одну из нитей дуплексной ДНК, ковалентно присоединяются тирозином активного центра к 5'-фосфорильной группе и используют механизм «нитевого прохода» для изменения топологии ДНК. Топоизомеразы типа IB и IC расщепляют одну нить дуплексной ДНК, ковалентно присоединяются тирозином активного центра к 3'-фосфорильной группе и используют «вращающийся» механизм для релаксации суперспиралей ДНК. Бактериальные топоизомеразы 1 (Top1) и топоизомеразы 3 (Top3) относятся к топоизомеразам типа IA. Когда

топоизомеразы II типа расщепляют две цепи ДНК, они образуют фосфотирозильные связи между двумя тирозинами активного сайта и парой 5'-фосфатов для обеспечения целостности ДНК. Существует два подтипа топоизомераз II типа: IIA и IIB. Топоизомераза 6 относится к подтипу IIB, тогда как остальные известные топоизомеразы II типа относятся к подтипу IIA. Каждый подтип топоизомеразы структурно и функционально консервативен и образует одно семейство белков [1].

После открытия ДНК-гиразы она была идентифицирована как клеточная мишень кумариновых и хинолоновых антибактериальных препаратов. С этого момента топоизомеразы ДНК, особенно топоизомеразы типа IIA, признаны в качестве терапевтических мишеней многих противоопухолевых и антибактериальных препаратов [5, 6]. Для нескольких антибактериальных препаратов, включая фторхинолоны, мишенью являются топоизомеразы бактерий типа IIA, ДНК-гираза и топоизомераза 4 (Top4). Как Top1 (hTop1), так и две изоформы топоизомеразы 2 (hTop2) человека являются клеточными мишенями клинически значимых противоопухолевых препаратов. Большое количество малых молекул идентифицировано как ингибиторы hTop1 или hTop2. Многие из них были протестированы в клинических испытаниях, но лишь некоторые из них показали клинический успех. Манипулирование ферментативной активностью для достижения терапевтического эффекта осуществляется тремя путями: 1) подавлением активности фермента каталитическими ингибиторами; 2) повышением активности фермента в отношении разрыва ДНК; 3) превращением фермента в агент, токсичный для клеток. Многие клинически успешные ингибиторы hTop1 и hTop2, а также ингибиторы топоизомеразы бактериального типа IIA используют 3-й механизм, который часто называют топоизомеразным отравлением [6]. Эти «топоизомеразные яды» превращают топоизомеразу в клеточный яд путём связывания с образующимся в процессе катализа промежуточным соединением топоизомеразы-ДНК (топоизомераза присоединяется к ДНК ковалентно) с образованием тройного комплекса топоизомеразы/лекарственное вещество/ДНК. «Отравление» топоизомеразы часто вызвано ингибированием реакции повторного лигирования фермент успевает разорвать ДНК, но не может её повторно связать, что подтверждается структурными исследованиями тройных комплексов топоизомеразы/лекарственное вещество/ДНК [3]. Однако некоторые топоизомеразные яды, включая спонтанно повреждающие ДНК фторхинолоны, стимулируют реакцию разрыва цепи. Таким образом, 2-й механизм, по-видимому, используется некоторыми ингибиторами топоизомеразы для превращения своей мишени в токсин (отравление). Формирование тройного комплекса вызывает цитотоксические события, которые включают торможение репликации ДНК, генерацию двуниевых разрывов (double-strand breaks, DSB) и последующую гибель клеток [6]. Каталитические ингибиторы, инактивировавшие hTop1 либо hTop2 по механизму 1, не имели большого успеха в клинических исследованиях. Одно из возможных объяснений заключается в том, что повышенные уровни топоизомераз в опухолевых клетках снижают эффективность ингибиторов ферментов. Вместе

с тем высокие уровни топоизомераз повышают эффективность топоизомеразных ядов. Недавно были обнаружены новые хинолоны, которые ингибируют одновременно как hTop1, так и hTop2, не «отравляя» их [7]. Эти соединения продемонстрировали многообещающую противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo*. Таким образом, каталитические ингибиторы, способные ингибировать множественные топоизомеразы человека, могут иметь перспективу мощных противоопухолевых лекарственных средств. Разработка модуляторов активности ферментов выигрывает от детального понимания каталитических механизмов целевых ферментов.

Структурная биология топоизомераз оказалась особенно полезной для выяснения не только каталитических механизмов ферментов, но и проверки действия клинически важных лекарств, для которых эти эссенциальные ферменты являются специфическими мишенями [8, 9]. В дополнение к α - и β -формам hTop2, топоизомеразам типа IIA и двум топоизомеразам типа IIB, обнаруженным в ядре (hTop1) и митохондриях (mTop1), клетки человека также имеют две изоформы Top3 (hTop3 α и hTop3 β), топоизомеразы типа IA [1]. Однако о существовании ингибиторов Top3 пока сведений нет.

Клеточные функции топоизомераз

Топоизомеразы типа IВ

Шарнирная функция эукариотической Top1 имеет большое значение для удаления сверхспирального напряжения ДНК (репликация и транскрипция) [9]. Интересно, что присутствие Top1 (но не её каталитическая активность) необходимо для активации транскрипции; однако в случае Top2 β для транскрипции необходима её топоизомеразная активность. В клетках человека активность hTop1 и РНК-полимеразы II взаимосвязаны [10]. Исследования влияния камптотецина, яда Top1, показали, что для эффективной экспрессии длинных генов необходимы как Top1, так и Top2 β . mTop1 – единственная топоизомераза, встречающаяся исключительно в митохондриях [11, 12]. Однако в митохондриях обнаружена также длинная изоформа Top3 α , синтезируемая в результате альтернативной трансляции с вышерасположенным сайтом инициации, а также Top2 α и Top2 β . mTop1 играет важную роль в транскрипции и репликации кольцевой митохондриальной ДНК [13]. Хотя клеткам удаётся выживать в отсутствие mTop1, потеря её сильно влияет на целостность митохондрий и энергетический обмен [14, 15]; однако присутствие Top3 α в митохондриях, вероятно, способствует этому выживанию.

Топоизомеразы типа IА

ДНК-гираза является единственной топоизомеразой, способной вводить отрицательные суперспирали [16], в то время как Top4 ответственна в первую очередь за декартирование (отсоединение) дочерних хромосом. Бактериальная хромосома поддерживается в виде определённой отрицательной суперспирали за счёт баланса между релаксационной активностью Top1 и сверхспирализующей активностью ДНК-гиразы. Низшие эукариоты имеют только топоизомеразу типа IIA – Top2, структура и функция которой аналогичны таковым Top4 (Top4 и Top2 отли-

чаются по своим С-терминальным доменам). Одно явное различие между топоизомеразами бактериальных и эукариотических типов ПА заключается в том, что бактериальные ферменты являются гетеротетрамерами А2В2, тогда как эукариотические ферменты являются гомодимерами.

Показано, что топоизомеразы бактериального типа ПА сохраняют активность, когда две субъединицы соединены в один пептид. Доказано, что гетеротетрамерная топоизомераза типа II может быть превращена в гомоизомерную топоизомеразу типа II путём слияния генов. В отличие от низших эукариот, млекопитающие имеют две изоформы Top2: Top2 α и Top2 β . Эти изоформы имеют примерно 70% сходства аминокислотной последовательности и проявляют сходную каталитическую активность, но выполняют различные клеточные функции. Top2 α требуется для репликации ДНК и сегрегации хромосом, и её экспрессия значительно повышается, в том числе в опухолевых клетках. Считается, что hTop2 α служит биомаркером для некоторых опухолей, а Top2 β играет критическую роль в транскрипции всех видов клеток, в том числе нейронных.

Структурные исследования топоизомераз

Топоизомеразы типа IB

По сравнению с релаксированной ДНК, которая находится в энергетически низшей конформации, положительно или отрицательно свёрнутые молекулы ДНК находятся в более высоких энергетических состояниях из-за существования торсионных деформаций в этих структурах. В простом трёхэтапном процессе, который не требует дополнительной энергии, топоизомеразы типа IB эффективно накапливают свободную энергию, хранящуюся в виде суперспиралей ДНК, необходимую для того, чтобы вернуть эти энергетически напряжённые молекулы ДНК в их расслабленные формы. Доказано, что эта реакция релаксации начинается с каталитической тирозин-опосредованной нуклеофильной атаки на химически неустойчивую фосфодиэфирную связь в дуплексе ДНК, что приводит к образованию переходного одноцепочечного разрыва, состоящего из 3'-связанной фосфотирозильной связи и свободного 5'-ОН конца. Напряжение, возникающее в результате суперспирализации ДНК, может рассеиваться посредством вращения молекулы ДНК вокруг разрыва (рис. 1, см. 2-ю полосу вклейки).

Существует много доказанных и предположительных объяснений действия топоизомераз. Например, расщеплённая фосфодиэфирная связь восстанавливается, и тирозин каталитического центра регенерирует, возвращая фермент в исходное состояние для следующей реакции релаксации. Структурный анализ hTop1 в ковалентных и нековалентных комплексах с ДНК позволяет предположить, что постулированное вращение ДНК во время каталитического цикла, вероятно, достигается с помощью «механизма управляемого вращения». Каталитическое ядро топоизомераз типа IB состоит из домена Car и каталитического (CAT) домена, который был впервые обнаружен в тирозиновых рекомбиназах, и эти два домена зажимают ДНК-дуплекс выше сайта расщепления. ДНК, находящаяся выше одноцепочечного разрыва (перед ним), крепко связана посредством

ДНК-белковых взаимодействий в нескольких сайтах между ядром Top1 и ДНК – прежде всего, фосфатным скелетом ДНК, и, следовательно, не может вращаться. Напротив, ДНК, расположенная ниже сайта разрыва (нисходящая), слабо удерживается головной частью Car-домена и линкерных областей домена CAT. По-видимому, это слабое поверхностное соприкосновение белок-ДНК может быть легко разрушено сохраняющимся суперспиральным натяжением, и нижерасположенная ДНК может затем вращаться вокруг места расщепления одним или несколькими витками, пока все торсионные напряжения не будут ослаблены или разрыв не будет повторно закрыт. Учитывая ограниченное количество ДНК-взаимодействующих аминокислотных остатков, можно подумать, что фермент не способен захватывать нисходящую ДНК в присутствии высокого сверхспирального напряжения. Тем не менее этот интерфейс может быть восстановлен при более низкой суперспиральной плотности, которая останавливает вращающуюся ДНК и помещает 5'-ОН в благоприятное положение для участия в реакции повторного лигирования. Вращение и ориентация нисходящей ДНК контролируются ферментом, в отличие от случайного вращения, что усложняло бы повторное лигирование. Топоизомеразы типов IA, IB и ПА имеют различную потребность в ионах Mg²⁺ для реализации их каталитической активности. Топоизомеразы типа IB не нуждаются в двухвалентном катионе для проявления своей активности, и объяснить это помог структурный анализ ковалентного комплекса фермент-ДНК. Известно, что реакция переэтерификации, катализируемая топоизомеразой, протекает через высокоэнергетическое бипирамидное переходное состояние, в котором два оксианиона присоединены к пятивалентному фосфору. Топоизомеразы типа IA и ПА используют Mg²⁺ в качестве важного кофактора для электростатической стабилизации переходного состояния, тогда как топоизомеразы типа IB и члены семейства тирозин-рекомбиназы используют для этой цели положительно заряженные остатки Arg и Lys.

Топоизомеразы типа ПА

Ещё до того, как появилась первая кристаллографическая визуализация топоизомераз типа ПА, в серии изящных биохимических исследований было установлено, что топоизомеразы типа II изменяют степень спирализации ДНК через механизм «двойных ворот». Каталитический цикл топоизомеразы типа ПА начинается со связывания фермента с G-сегментом ДНК – процесс, соответствующий сборке так называемых «ворот» ДНК [3].

Известна динамика таких процессов. Формирование, например, бинарного комплекса топоизомеразы-ДНК позволяет обоим цепям G-сегмента расщепляться в Mg²⁺-зависимой реакции переэтерификации, происходящей между остатками тирозина и фосфодиэфирными связями ДНК-цепи, что создаёт обратимый двухцепочечный разрыв (DSB) в G-сегменте. Подходящий T-сегмент приближается к «воротам» ДНК, проходя через вход, расположенный на одном конце топоизомеразы типа ПА (N-терминальный конец эукариотической Top2), и двигаясь вдоль «пути для ДНК» для достижения своей поверхности связывания. Пройдя через «входные ворота» ДНК,

T-сегмент направляется к «выходным воротам» на другом конце топоизомеразы (С-концевой конец для эукариотической Top2) и в конечном счёте выходит сквозь них [1]. Этот режим однонаправленного переноса ДНК называется «двухзатворным», или механизмом «двойных ворот», поскольку вход и выход T-сегмента опосредуется через два отдельных белковых затвора топоизомеразы типа IIА. Данный процесс является АТФ-зависимым, что обеспечивается наличием АТФазного домена в структуре топоизомераз типа II [17].

Механизмы блокирования топоизомеразы типа IB

hTop1 представляет собой клеточную мишень хинолинового алкалоида камптотецина и его клинически активных производных – топотекана и иринотекана. Подобно Top2-ядам, они захватывают ковалентный комплекс Top1–ДНК и превращают фермент в цитотоксический ковалентно связанный аддукт белка и ДНК, что вызывает ингибирование репликации ДНК и генерацию двунитевых разрывов (DSB). Кристаллические структуры камптотецин- и топотекан-связанных ковалентных комплексов фермент–ДНК выявили интеркаляцию молекулы лекарственного вещества между расщеплёнными концами ДНК. В частности, А-D-кольца их пентациклической структуры укладываются против пары оснований, на конце сайта разрыва цепи, и азот хинолина В-кольца и полярные/заряженные группы Е-кольца образуют водородные связи или солевые мостики с соседними аминокислотными остатками. Реакция Top1-катализируемой релаксации также нарушена, поскольку взаимодействия между связанным лекарственным средством и парой 5'-оснований вокруг расщепляющегося фосфата будут увеличивать энергетический порог для вращения ДНК [17].

Некамптотециновые ингибиторы топоизомераз

Противоопухолевые агенты индолокарбазолы и инденоизохинолины также действуют как hTop1-яды [16]. Вместе с тем ветвящиеся группы образуют отличные от камптотецина химиотипически специфичные взаимодействия с белком. В совокупности наблюдаемые изменения структуры белка и взаимодействующих с различными лекарственными веществами аминокислотных остатков показали ландшафт и эластичность карманов, связывающихся с лекарственным веществом. Данная информация должна способствовать разработке новых ингибиторов топоизомеразы типа IB.

Интересно, что до сих пор не сообщалось о каталитическом ингибиторе топоизомераз типа IB. Структура hTop1 в комплексе с ДНК-дуплексом, содержащим 8-оксогуаниновое повреждение, предполагает, что фермент может принимать неактивную конформацию, в которой каталитический тирозин оказывается вне активного сайта. Любые соединения, которые связывают и стабилизируют это конформационное состояние hTop1, могут действовать как эффективные каталитические ингибиторы. Однако клиническую значимость разработки таких ингибиторов hTop1 ещё предстоит выяснить. Поиски некамптотециновых ингибиторов как для hTop1, так и для hTop2 ведутся среди самых разнообразных хи-

мических структур. В настоящее время анализ литературы позволяет выявить следующие тенденции в поиске новых химических структур ингибиторов: фторхинолоны, индолохинолины, нафтохиноны, хальконы (в том числе растительного происхождения), бензальдегиды, имидазопиридины, гетероциклические конденсированные азотсодержащие соединения. Последние включают уже известные активно используемые производные фенантролина, для которых, таким образом, был уточнён механизм действия, а также нуклеозидные ингибиторы топоизомеразы, производные бензотиазола, антрафурандионы. Приведённый перечень основных химических групп является далеко не полным, однако полный охват имеющейся литературы выходит за рамки данного обзора, поэтому мы приносим извинения тем авторам, чьим работам мы не смогли уделить достаточно внимания.

Фторхинолоны

В работе Т. Kloskowski и соавт. для известного антибиотика ципрофлоксацина был выявлен цитостатический эффект, однако только против клеточной линии рака лёгкого человека А549. При этом клеточный цикл А549 останавливался в фазе G₂/M, что указывает на механизм действия, связанный с ингибированием топоизомеразы II. Выявленные биологические эффекты ципрофлоксацина подтверждают гипотезу о том, что этот препарат может использоваться в адъювантной терапии для лечения рака лёгких благодаря его способности ингибировать топоизомеразы II типа [18].

В работе Y.-C. Ma и соавт. сообщается об агенте HMNE3 – новом бис-фторхинолоновом халькон-подобном производном, которое оказывает двоякое ингибирующее действие в отношении не только топоизомеразы II, но и тирозинкиназы, и индуцирует торможение роста и пролиферации опухолевых клеток [19]. Активность топоизомеразы 2 измеряли с использованием электрофореза в агарозном геле с плазмидой ДНК pBR322 в качестве субстрата. Обработка клеточных линий аденокарцином поджелудочной железы человека Saran-1 или Panc-1 агентом HMNE3 в концентрации 1,6–3,2 мкМ в течение 48 ч привела к значительному увеличению числа апоптотических клеток ($p < 0,05$). По сравнению с контролем HMNE3 индуцировал повышенную экспрессию белков, связанных с индукцией апоптоза. Одновременно с этим отмечалось снижение активности тирозинкиназы в Saran-1 при IC₅₀ 0,64 ± 0,34 мкМ и в Panc-1 при IC₅₀ 3,10 ± 0,86 мкМ. Также было отмечено дозо- и времязависимое ингибирование активности c-Src в этих клеточных линиях. В соответствии с данными об апоптозе после обработки HMNE3 в течение 24 ч отмечалось значительное снижение активности Top2β. Суммируя полученные данные, можно считать, что HMNE3 индуцировал апоптоз в клетках Saran-1 и Panc-1, ингибируя активность тирозинкиназы и Top2.

В недавнем исследовании [20] авторы продемонстрировали молекулярный докинг тринадцати фторхинолонов с человеческой Top2α и Top2β. Фторхинолоны являются антибактериальными антибиотиками широкого спектра действия и очень эффективны против различных бактериальных инфекций. Некоторые из фторхинолонов, такие как моксифлоксацин, ока-

зывают противогрибковое действие, а также обладают противоопухолевой активностью. Моксифлоксацин образует комплексы с Top2 α и ответственен за прекращение репликации ДНК. Исследования молекулярной стыковки показали, что фторхинолоны образуют водородную связь и обладают хорошей аффинностью связывания с Top2 α и Top2 β человека. Следовательно, фторхинолоны могут ингибировать активность фермента топоизомеразы путём связывания на её активном участке.

Предполагается, что офлоксацин, спарфлоксацин, ципрофлоксацин и моксифлоксацин являются самыми мощными ингибиторами среди тринадцати изученных фторхинолонов. В связывании Top2 α с фторхинолонами участвуют остатки аминокислот Gln773, Asn770, Lys723 и Trp931, в то время как в связывании Top2 β с фторхинолонами участвуют аминокислотные остатки AspO79, Ser480, Arg820, Arg503, Lys456 и Gln778. Исследователи предполагают, что фторхинолоны могут быть ингибиторами ДНК-топоизомеразы II и, следовательно, могут быть использованы в качестве противоопухолевых препаратов. 3-хлорметил-6-фтортиохроман-4-он (SMFT) представляет собой новое производное тиохроманов, которое обладает противоопухолевой активностью.

У. Wang и соавт. сравнили противоопухолевую активность цис- и транс-изомеров и исследовали их ингибирующее действие на топоизомеразу I и топоизомеразу II человека в бесклеточной системе [21]. Ингибирование SMFT Top1 и Top2 можно было идентифицировать путём добавления растворов SMFT в реакционные смеси топоизомеразы–ДНК и наблюдения относительных количеств релаксированных нитей и суперспиралей при электрофоретическом анализе. Результаты показали, что SMFT обладает ярко выраженной противоопухолевой активностью в низких концентрациях, при этом активность транс-изомера SMFT выше. Показано также, что SMFT индуцирует апоптоз. Анализ релаксации ДНК, а также анализы её расщепления и повторного лигирования продемонстрировали высокий потенциал взаимодействия с Top1 и Top2, подтвердив, что SMFT является Тор-ядом, что может быть одним из механизмов индукции апоптоза клеток.

Индолохинолины

Криптолепин (CRP) – встречающийся в природе индолохинолиновый алкалоид (выделенный из корней *Cryptolepis sanguinolenta* семейства *Periplocaceae*) – противомаларийный препарат, применяемый в Центральной и Западной Африке. Н.С. Pal и соавт. [22] изучили влияние криптолепина на рост немеланомных опухолевых клеток кожи человека (NMSCC) SCC-13 и A431 и механизм его действия. Клетки SCC-13 и A431 экспрессируют топоизомеразы (Top1 и Top2) в более высоких концентрациях. Их активность по сравнению с нормальными эпидермальными клетками человека также повышена. Обработка клеток криптолепином (2,5; 5,0 и 7,5 мкМ) в течение 24 ч приводила к заметному снижению активности топоизомеразы, ассоциированному с существенным повреждением ДНК, которое было обнаружено с помощью метода ДНК-комет. Все эти изменения в NMSCC под действием криптолепина приводили к значительному уменьшению

жизнеспособности клеток, снижению колониеобразования и индукции апоптоза. Криптолепин индуцировал повреждение ДНК, приводившее к увеличению фосфорилирования ATM/ATR, BRCA1, Chk1/Chk2 и γ H2AX, активации сигнального каскада p53, включая усиление экспрессии белков p16 и p21, ингибированию циклинзависимых киназ, циклинов D1, A, E и белков, участвующих в делении клеток (например, Cdc25a и Cdc25b), что приводило к остановке клеточного цикла в S-фазе. Кроме того, нарушался мембранный потенциал митохондрий и происходило высвобождение цитохрома C.

Нафтохиноны

Среди нафтохинонов особое внимание в последние годы уделяется исследователями лапахолу и его производным. Лапахол (4-гидрокси-3-(3-метилбут-2-енил)нафтален-1,2-дион) представляет собой нафтохинон, выделенный из многих видов семейства *Bignoniaceae*, произрастающих в Центральной и Южной Америке [23]. На опухолевых моделях лапахол изучали с 1970-х годов. Цитотоксичность лапахола и его производных была оценена на различных культурах клеток, а также на нескольких моделях перевиваемых опухолей мышей. Лапахол проявил значительное ингибирующее действие на рост глиомы C6 у крыс линии Wistar ($p < 0,05$) *in vitro* и *in vivo*. Показано также, что ингибирование пролиферации, индукция апоптоза и повреждение ДНК зависят от концентрации лапахола [24]. Влияние лапахола на Top1 и Top2 обнаружено при анализе релаксации суперспиральной ДНК плазмиды pBR322, опосредованной Top1 и Top2, а также в исследовании молекулярного докинга. Выявлено, что лапахол может ингибировать активность как Top1, так и Top2. В случае ингибирования Top2 механизм действия лапахола аналогичен таковому у этопозида. Кроме того, лапахол снижает уровни экспрессии Top2, хотя не влияет на экспрессию Top1. По мнению исследователей, цитотоксичность лапахола может быть опосредована его влиянием на топоизомеразы.

Н. Хи и соавт. синтезировали и изучили аминокислотные производные лапахола [23]. В этом ряду наиболее перспективным оказалось соединение 3a с пропиленовым заместителем в аминогруппе, показавшее значительную цитотоксичность для клеточных линий C6, LoVo, карциномы Эрлиха и K562, IC₅₀ = 3,7–7,0 мкМ [23–25]. Была разработана и синтезирована серия новых производных лапахола, имеющих индольные каркасы [26, 27]. Антипролиферативная активность этих новых соединений *in vitro* оценивалась на клеточных линиях Hca109 и Hela. Почти все исследованные соединения проявили сильную ингибирующую активность в отношении двух испытываемых линий опухолевых клеток. Тест на Top1-опосредованную активность релаксации ДНК показал, что эти новые соединения обладают мощным ингибирующим действием в отношении Top1. Самые активные в этом отношении соединения 4n и 4k продемонстрировали более высокую цитотоксичность, чем камптотецин, и сравнимое с камптотецином ингибирование Top1 при концентрации 25 мкМ. Кроме того, методом окрашивания Hoechst 33342 также было показано, что эти вещества могут индуцировать апоптоз клеток Hela.

Хальконы

К. Jeon и соавт. разработали и синтезировали 22 гетероароматических циклических эпоксид- или тио-эпоксидзамещённых производных халькона [24]. В тесте ингибирования Top1 соединения 1 было наиболее активным, но менее активным по сравнению с камптотецином. Соединения 9, 11 и 13 ингибировали функцию Top2 сильнее, чем этопозид: ингибирование около 90 и 30% против 72 и 18% при 100 и 20 мкМ соответственно. В цитотоксическом тесте на клетках рака молочной железы человека было показано, что соединения 9 при IC_{50} $6,61 \pm 0,21$ мкМ ингибирует рост линии T47D, а соединения 13 при IC_{50} $4,32 \pm 0,18$ мкМ эффективно подавляет рост клеток линии MDA-MB468.

Бензальдегиды

В исследовании на клетках аденокарциномы лёгкого человека A549 показано, что куминальдегид подавляет пролиферацию, индуцирует апоптоз и образование лизосом с увеличением объёма кислых компартментов, подавляет активность Top1 и Top2, а также активность теломеразы в зависимости от концентрации. Подобные эффекты были обнаружены и на других линиях клеток, включая плоскоклеточный рак лёгкого человека NCI-H520 и аденокарциному толстой кишки COLO205. Кроме того, куминальдегид эффективно ингибировал рост опухолей человека *in vivo* на модели мышей Nude. Авторы сделали вывод о том, что куминальдегид может быть потенциальным агентом для противоопухолевой терапии [28].

Имидазопиридины

Синтезирован ряд имидазопиридинил-1,3,4-оксадиазольных конъюгатов и исследована их цитотоксичность. Оказалось, что соединение 8q (NSC: 763639) было значимо активно на панели различных клеточных линий опухолей человека NCI-60 (США) ($IC_{50} = 1,30 \pm 5,64$ мкМ). Проточный цитометрический анализ показал, что соединение 8q останавливает клеточный цикл линии A549 в фазе суб-G₁ с последующей индукцией апоптоза. Это было дополнительно подтверждено с помощью V-FITC, Hoechst-ядерного окрашивания, выявления активации каспазы 3, измерения потенциала митохондриальной мембраны и детекции генерации АФК. Результаты анализа Top2-опосредованной релаксации ДНК показали, что конъюгат 8q может значительно ингибировать активность Top2. В молекулярно-докинговых исследованиях были выявлены механизмы связывания с ферментом топоизомеразой (PDBID 1ZXN) [29].

Гетероциклические конденсированные азотсодержащие соединения

В работе I. Riddell и соавт. противоопухолевый агент фенантриплатин – *cis*-[Pt(NH₂)₂(фенантридин)Cl](NO₃) проявил себя как яд Top2 в дополнение к его известным механизмам действия – ингибированию ДНК- и РНК-полимеразы. Его эффективность основана на сочетании различных путей ингибирования пролиферации. При этом повреждения типа образования ковалентного комплекса ДНК–платина отличаются от тех, которые генерируются известными токсинами топоизомеразы. Последние обычно оказывают своё действие путём интеркаляции в месте расщепления фермента. Выявление этого

феномена в отношении Top2 открывает возможность разработки неклассических противоопухолевых агентов, способных преодолевать лекарственную резистентность [30].

Приложено много усилий, направленных на разработку двойных ингибиторов Top1/Top2, которые проявляют высокую цитотоксичность и высокое сродство к обоим ферментам. В связи с этим было показано, что полное уничтожение топоизомеразных процессов в опухолевой клетке является чрезвычайно эффективным *in vitro* и *in vivo* для широкого спектра опухолей. Впоследствии двойные ингибиторы Top1/Top2 были оценены в клинических испытаниях фазы I/II: пиразолоакридин (PZA), бензопиридоиндоль-интоплицин, производные феназина XR11576 и XR594, батрацилин и инденохиолинон TAS-103, а также этопозидное производное тафлупозида гомокамптотецинэломотекан [31]. Хотя в доклинических исследованиях продемонстрирована перспективность этих производных, их эффективность пока не подтвердилась в клинике.

Известно, что природные бензо[с]фенантридиновые алкалоиды обладают широким спектром фармакологической активности [30]. Среди них четвертичные аммониевые соли фагаронина и нитидин проявляют умеренную двойную токсическую активность в отношении топоизомераз I и II типов. В середине 1990-х годов был найден лёгкий и простой путь синтеза других аналогов, например 11-замещённых 6-аминобензо[с]-фенантридинов. С. Meier и соавт. описывают пиридо[3,4-с][1,9]фенантролин (P8-D6) как мощный индуктор апоптоза, вызванного эквивалентным ингибированием активности топоизомераз I и 2 человека [30].

P8-D6 оказался активным против всех типов опухолей панели NCI-60. Вещество показало необыкновенно высокую общую цитотоксическую активность: средняя IC_{50} для всех протестированных линий составила 49 нМ, что сопоставимо с таковой у камптотецина. Его ингибирующий эффект был в 4–10 раз выше по сравнению с другими упомянутыми двойными ингибиторами Top1/Top2, недавно прошедшими клинические испытания. Особо была отмечена чувствительность к P8-D6 клеток лейкемии и клеток NSCLC (немелкоклеточный рак лёгкого). P8-D6 обладает способностью ингибировать каталитическую активность топоизомераз I и II типа в низких микромолярных концентрациях *in vitro*. Существенной разницы между Top2 α , которая достигает максимальных уровней белка в G₂/M-фазе в клетках человека, и Top2 β , которая экспрессируется независимо от пролиферативного статуса и клеточного цикла, не установлено [31].

Ещё одним классом в этой категории веществ являются акридины. Разработкам препаратов на их основе посвящён недавний фундаментальный обзор Zhang В. и соавт. [32]. Остановимся на некоторых из них, имеющих природное происхождение. Акроницин является естественным алкалоидом, выделенным в 1948 г. из австралийского дерева *Acronchia baueri* Schott, принадлежащего семейству Rutaceae. Он оказался активен против множества солидных опухолей. На основе его структуры синтезировано и описано в литературе множество соединений с антипролиферативной и анти топоизомеразной активностью.

Пиридоакридины, такие как амфимедин и нео-

амфимедин, которые были выделены из тихоокеанских губок *Amphimedon sp.* и *Xestospongia sp.*, соответственно обладают Top2-опосредованной цитотоксичностью. IC₅₀ неоамфимедина на восьми линиях опухолевых клеток составляла 0,83–7,6 мкМ, в то время как амфимедин не показал цитотоксичности в этой дозе. Кроме того, неоамфимедин проявлял противоопухолевую активность на подкожных ксенорафтах колоректального рака человека HCT116 у бестимусных (nude) мышей. Показано, что мишенями асцидимина, первоначально полученного из асцидий *Didemnum sp.*, являются Top2 и ДНК и это определяет его цитотоксичность. Асцидимин также проявляет антимикробную активность против *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* и *Cladisporium resinae*. Триазолоакридон, имидазоакридинон, а также акридин-индолные гибриды также оказывают ингибирующее действие на топоизомеразы II типа [32].

Нуклеозидные ингибиторы топоизомеразы

На основе нуклеозидов разработаны новые селективные ингибиторы топоизомеразы 2. Показана значимость фрагментов катехиновой природы для проявления ингибирующего действия производных нуклеозидов в отношении топоизомеразы 2. Кроме того, ряд соединений из числа нуклеозидных производных и промежуточных соединений их синтеза, содержащих TBS-группу (tert-butyl dimethylsilyl, трет-бутилдиметилсилил) и/или 1,3-дигидрокси-фрагмент, проявили сравнительно более высокую активность и селективность. В дальнейших экспериментах соединение 25b с β-конфигурацией тиминового фрагмента показало высокую антипролиферативную активность на 39 из 60 линий опухолевых клеток человека (NCI-60) и было более эффективным, чем его аналог 26b, содержащий тиминового фрагмент в α-конфигурации. В сравнении с неактивным на этих моделях этопозидом цитотоксичность соединения 15b была значимо выше, IC₅₀ = 8,1 ± 3,2 мкМ [33, 34].

Производные бензотиазола

Был синтезирован ряд новых 1-иминоизоиндолинов (3a-d) и изоиндолин-1-онов (4a-e), замещённых амидинобензотиазолами (3a-b, 4a-b) и амидинобензимидазолами (3c-d, 4c-e) [35]. Серосодержащие производные (3a-b, 4a-b) были малоизбирательны в отношении опухолевых клеток и показали высокую антипролиферативную активность не только в отношении различных карцином (цервикальной HeLa, колоректальной SW620, гепатоцеллюлярной HepG2 и молочной железы MCF-7), но и на диплоидных фибробластах человека BJ. Для наиболее эффективных соединений 4a и 4b анализ клеточного цикла и влияния на активность каспаз показал активацию митохондриального апоптотического пути в результате связывания с ДНК. Амидинзамещённые изоиндолин-1-оны 4a-d были более цитотоксичны по сравнению с амидинзамещёнными 1-иминоизоиндолинами 3a-d. Соединения без амидиновой группы ингибировали рост только клеток MCF-7. Для всех оцениваемых соединений показана ранняя ядерная локализация (после 5-часового лечения). Действительно, несущие положительный заряд амидинзамещённые производные 3a-d и 4a-b взаимодействуют с ДНК-спиралью. Напротив, производные 5a-d без амидиногруппы не проявляли ДНК-связывающих

свойств, видимо, из-за отсутствия положительного заряда. Соединения 4a-b связывались со спиральной канавкой ДНК (спектры кругового дихроизма) или интеркалировали её (эксперименты по разрыву ДНК, индуцированные топоизомеразой 1). Они действуют как ингибиторы топоизомеразы 2, локализуясь в ядре, что согласуется с их антипролиферативной активностью (индукция апоптоза) в субмикромольном диапазоне. Для амидинзамещённого производного 1-иминоизоиндолина 3a антипролиферативная активность оказалась значительно ниже для всех тестируемых клеточных линий, за исключением MCF-7 (в микромольном диапазоне). Этот результат стал неожиданностью. Высказано предположение, что ядерная локализация для связывания с канавкой ДНК и интеркалирующий механизм действия, приводящий в эксперименте к выраженному «отравлению» топоизомеразы 1, сходному с камптотециновым. Показанные для 3a свойства создают предпосылки для большей цитотоксичности, что может быть следствием неизвестных механизмов действия или инактивации данного соединения.

Амидинзамещённые производные 1-иминоизоиндолина 3b-d проявляли слабую антипролиферативную активность, ядерную и цитоплазматическую локализацию и интеркалирующее ДНК-связывание, но соединение 3d показало отсутствие или очень слабое ингибирование топоизомеразы. На этом основании высказано предположение о том, что для проявления как Top2-отравляющего действия, так и антипролиферативной активности наибольшее значение имеют структуры типа: изоиндолин-1-он + амидинобензотиазол с амидиновой группой [35].

Антрафурандионы

Сравнительно недавно был открыт перспективный класс противоопухолевых ингибиторов топо-изомераз на основе гетероциклических производных антрахинона, в частности производные антра[2,3-b]фуран-5,10-диона. Нуклеофильным замещением пропоксигрупп диаминами получена серия 4,11-диаминоантра[2,3-b]фуран-5,10-дионов (рис. 2) – аналогов противоопухолевого препарата аметантрон [36, 37]. Исследование антипролиферативной активности на широкой панели клеточных линий опухолей млекопитающих показало, что антрафурандионы (1, 2) обладают наибольшей активностью среди конденсированных гетероаренантрацендионов с одним гетероатомом [36, 37]. Идентифицирован ряд соединений, ингибирующих рост опухолевых клеток в субмикромольных концентрациях. Антра[2,3-b]фуран-5,10-дион (2) с дистальными метиламиногруппами оказался высокоактивен против лекарственно-устойчивых клеточных линий с избыточной экспрессией Р-гликопротеина или делецией гена p53 [36]. Кроме того, это соединение блокирует *in vitro* Top1-опосредованное раскручивание ДНК в низких микромольных концентрациях. Эти результаты показывают, что антрафурандионы представляют собой новый перспективный класс производных антрахинона со свойствами, потенциально ценными для противоопухолевой терапии.

Позднее была синтезирована и изучена вторая серия 4,11-диаминоантра[2,3-b]фуран-5,10-дионов с различными боковыми цепями [37]. От предыдущих аналогов [36] эти соединения отличаются

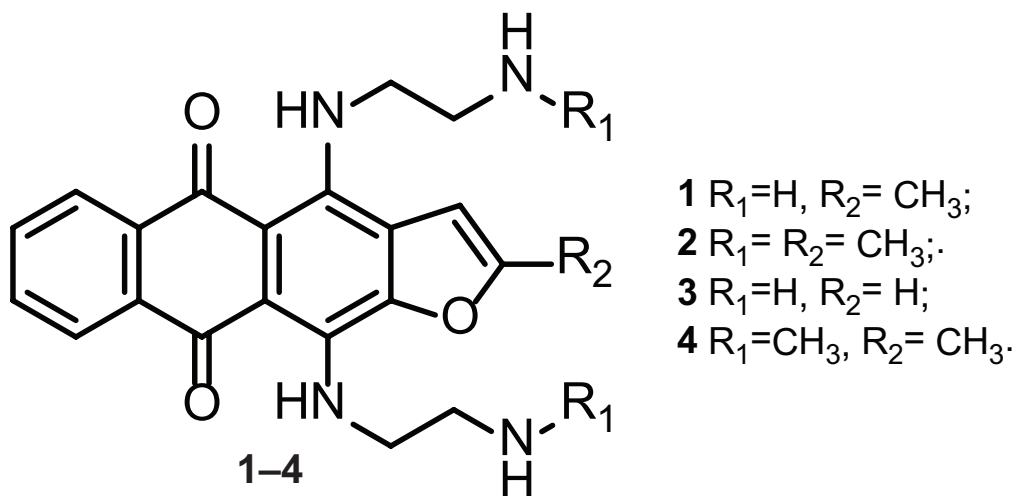


Рис. 2. Противоопухолевые производные 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]фуран-5,10-диона.

отсутствием алкильной группы в фурановом кольце. Такая модификация привела к росту антипролиферативной активности производных. Наиболее высокую активность на панели опухолевых клеток млекопитающих, включая варианты с множественной лекарственной устойчивостью, показали 2-незамещённые производные (3, 4), содержащие боковые amino- и метиламиногруппы. Для 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]фуран-5,10-дионов (1–4) выявлены множественные механизмы цитотоксичности, включая ингибирование Top1/Top2-опосредованной релаксации ДНК, снижение соотношения NAD⁺/NADH через ингибирование tNOX, подавление NAD⁺-зависимой активности деацетилазы Сиртуин 1 (SIRT1) и активацию каспазо-опосредованного апоптоза [37]. В этой работе впервые показано, что опухоль-ассоциированные NADH-оксидазы (tNOX) и SIRT1 являются важными клеточными мишенями противоопухолевых антрацен-9,10-дионов. Позднее было обнаружено, что антрафурандион (3) обладает высокой аффинностью к G-квадруплексам из 5'-нетранслируемого участка мРНК транскрипта онкогена *KRAS* и дозозависимо подавляет трансляцию мРНК этого онкогена и синтез его продукта в опухолевых клетках – белка p21KRAS [38].

Другим перспективным химотипом для поиска противоопухолевых ингибиторов топоизомераз являются производные антрафуран-3-карбоксамидов. Наиболее изученным соединением этого ряда является антрафуран ЛХТА-2034 (5), отличающийся от предыдущих веществ наличием аминопирролидидкарбонильной группы в положении 3 гетероцикла, а также гидроксигрупп в положениях 4, 11 (рис. 3) [39]. Антрафуран ЛХТА-2034 в низких концентрациях ингибирует топоизомеразы 1 и 2, а также ряд важных для опухолевого роста протеинкиназ (AurB, Pim). Это соединение обладает высокой активностью в отношении опухолевых клеток с различными фенотипами множественной лекарственной устойчивости и высокой

противоопухолевой эффективностью на прогностически значимых для клиники опухолевых моделях. В 2018 г. описан синтез расширенной серии аналогов ЛХТА-2034, тестирование биологических свойств которой позволило выявить роль функциональных групп в противоопухолевых свойствах антрафуран-3-карбоксамидов [40].

Для улучшения растворимости ЛХТА-2034 в воде были созданы и изучены его комплексы с солубилизирующим 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином (HP-βCD) [41]. Взаимодействие ЛХТА-2034 с HP-βCD привело к формированию комплекса включения ЛХТА-2034/HP-βCD со стехиометрическим соотношением 1:1. На основе комплекса ЛХТА-2034/HP-βCD разработан прототип парентеральной лиофилизированной лекарственной композиции с улучшенной по сравнению с субстанцией ЛХТА-2034 (более чем в 10 раз) растворимостью в воде, высокой стабильностью и меньшей «острой» токсичностью при парентеральном применении. Комплекс ЛХТА-2034/HP-βCD показал высокую противоопухолевую эффективность, увеличивая выживаемость мышей с

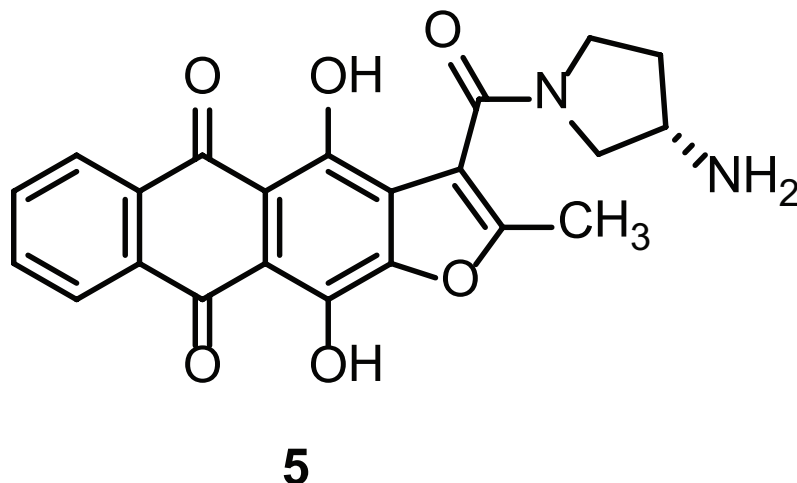


Рис. 3. Антрафуранкарбоксамид ЛХТА-2034 (5).

лейкозом P388 до 140%, без достоверных отличий от субстанции ЛХТА-2034 в идентичных схемах применения (30 мг/кг × 5 дней). Кроме того, композиция ЛХТА-2034/НР-βCD эффективна на модели лейкоза с множественной лекарственной устойчивостью P388/ADR, а также на высокометастазирующей в лёгкие меланоме B16/F10 [42].

Заключение

Таким образом, анализ тематической литературы показал, что среди ингибиторов топоизомеразы ведутся интенсивные поиски самых разнообразных лекарственных средств. Исследователи как модифицируют известные базовые структуры, так и синтезируют новые. Открытие Тор-направленного действия у уже известных препаратов, таких как фенантридин, расширяет сведения об их механизме действия. Для выявления ингибирующего действия в отношении топоизомераз применяют методы с использованием плазмидных ДНК. Параллельно изучается цитотоксическая активность, а также такие показатели, как индукция апоптоза, в том числе путём активации каспаз, изменение митохондриального потенциала, влияние на p53 и другие. Среди агентов, проявляющих свойства ингибиторов топоизомераз, одними из наиболее перспективных для онкологии химических соединений можно считать антрафурандионы, дающие хороший выход активных оригинальных ингибиторов. Особенно важен тот факт, что в РФ осуществляются синтетические и аналитические исследования этого ряда, лежащие в основе разработки лекарственных субстанций и их оптимальных лекарственных форм. Всё вышесказанное позволяет заключить, что исследования в данном направлении чрезвычайно актуальны и востребованы. Прогностически значимые данные, полученные в ходе доклинических исследований, позволяют надеяться, что созданные противоопухолевые средства проявят высокую эффективность при клинических испытаниях.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Chen S.H., Chan N.L., Hsieh T. New mechanistic and functional insights into DNA topoisomerases. *Annu. Rev. Biochem.* 2013; 82: 139–70. DOI: 10.1146/annurev-biochem-061809-100002
- Pommier Y., Sun Y., Huang, S.N., Nitiss J.L. Roles of eukaryotic topoisomerases in transcription, replication and genomic stability. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2016; 17: 703–21. DOI: 10.1038/nrm.2016.111
- Delgado J.L., Hsieh C.M., Chan N.L., Hiasa H. Topoisomerases as anticancer targets. *Biochem. J.* 2018; 475(2): 373–98. DOI: 10.1042/BCJ20160583
- Pommier Y. Drugging topoisomerases: lessons and challenges. *ACS Chem. Biol.* 2013; 8: 82–95. DOI: 10.1021/cb300648v
- Aldred K.J., Kerns R.J., Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochem.* 2014; 53(10): 1565–74. DOI: 10.1021/bi5000564
- Hiasa H. DNA topoisomerases as targets for antibacterial agents. *Method. Mol. Biol.* 2018; 1703: 47–62. DOI: 10.1007/978-1-4939-7459-7_3
- Kerns R.J., Towle T.R., Hiasa H. Quinolone-based Compounds with Anticancer Activity. *Drugs.* 2016; 76(13): 1245–55. PCT Application No. PCT/US2017/065448.-2017.
- Wu C.C., Li Y.C., Wang Y.R., Li T.K., Chan N.L. On the structural basis and design guidelines for type II topoisomerase-targeting anticancer drugs. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41(22): 10630–40. DOI: 10.1093/nar/gkt828
- Ehmann D.E., Lahiri S.D. Novel compounds targeting bacterial DNA topoisomerase/DNA gyrase. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2014; 18: 76–83. DOI: 10.1016/j.coph.2014.09.007
- Baranello L., Wojtowicz D., Cui K., Devaiah B.N., Chung H.J., Chan-Salis K.Y. et al. RNA polymerase II regulates topoisomerase I activity to favor efficient transcription. *Cell.* 2016; 165(2): 357–71. DOI: 10.1016/j.cell.2016.02.036
- Solier S., Ryan M.C., Martin S.E., Varma S., Kohn K.W., Liu H. et al. Transcription poisoning by topoisomerase I is controlled by gene length, splice sites, and miR-142-3p. *Cancer Res.* 2013; 73: 4830–9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3504
- King I.F., Yandava C.N., Mabb A.M., Hsiao J.S., Huang H.-S., Pearson B.L. et al. Topoisomerases facilitate transcription of long genes linked to autism. *Nature.* 2013; 501: 58–62. DOI: 10.1038/nature12504
- Sobek S., Dalla Rosa I., Pommier Y., Bornholz B., Kalfalah F., Zhang H. et al. Negative regulation of mitochondrial transcription by mitochondrial topoisomerase I. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41: 9848–57. DOI: 10.1093/nar/gkt768
- Douarre C., Sourbier C., Dalla Rosa I., Brata Das B., Redon C.E., Zhang H. et al. Mitochondrial topoisomerase I is critical for mitochondrial integrity and cellular energy metabolism. *PLoS ONE.* 2012; 7: e41094. DOI: 10.1371/journal.pone.0041094
- Khiati S., Baechler S.A., Factor V.M., Zhang H., Huang S.-y.N., Dalla Rosa I. et al. Lack of mitochondrial topoisomerase I (TOP1mt) impairs liver regeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015; 112: 11282–7. DOI: 10.1073/pnas.1511016112
- Kummar S., Chen, A., Gutierrez M., Pfister T.D., Wang, L., Redon C. et al. Clinical and pharmacologic evaluation of two dosing schedules of indotecan (LMP400), a novel indenoisoquinoline, in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2016; 78: 73–81. DOI: 10.1007/s00280-016-2998-6
- Schmidt B.H., Osheroff N., Berger J.M. Structure of a topoisomerase II–DNA–nucleotide complex reveals a new control mechanism for ATPase activity. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2012; 19: 1147–54. DOI: 10.1038/nsmb.2388
- Kloskowski T., Gurtowska N., Olkowska J., Nowak, J.M., Adamowicz J., Tworkiewicz J., Dębski R., Grzanka A., Drewa T. Ciprofloxacin is a potential topoisomerase II inhibitor for the treatment of NSCLC. *Int. J. Oncol.* 2012; 41(6): 1943–9. DOI: 10.3892/ijo.2012.1653. Epub 2012 Oct 4.
- Ma Y.-C., Wang Z.-X., Jin S.-J., Zhang Y.-X., Hu G.-Q., Cui D.-T. et al. Dual Inhibition of Topoisomerase II and Tyrosine Kinases by the Novel Bis-Fluoroquinolone Chalcone-Like Derivative HMNE3 in Human Pancreatic Cancer Cells. *PLoS ONE.* 2016; 11(10): e0162821. DOI: 10.1371/journal.pone.0162821
- Jadhav A.K., Karuppaiyl S.M. Molecular docking studies on thirteen fluoroquinolones with human topoisomerase II a and b. *In Silico Pharmacol.* 2017; 5(4): 1–4. DOI: 10.1007/s40203-017-0024-2
- Wang Y., Chen J., Shen R., Yang Ch., Ma Zh., Liu Y. 3-chloromethylene-6-fluorothiochroman-4-one, A novel DNA Topoisomerase poison. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2016; 29 (6 Suppl): 2377–2383. PMID: 28167481.
- Pal H.C., Katiyar S.K. Cryptolepine, a Plant Alkaloid, Inhibits the Growth of Non-Melanoma Skin Cancer Cells through Inhibition of Topoisomerase and Induction of DNA Damage. *Molecules.* 2016; 21(12): 1758–64. DOI: 10.3390/molecules21121758
- Xu H., Chen Q., Wang H., Xu P., Yuan R., Li X., Xue M. Inhibitory effects of lapachol on rat C6 glioma in vitro and in vivo by targeting DNA topoisomerase I and topoisomerase II. *J. Exper. Clin. Cancer Res.* 2016; 35: 178. DOI: 10.1186/s13046-016-0455-3
- Jeon K.H., Yu H.B., Kwak S.Y., Kwon Y., Na Y. Synthesis and

- topoisomerases inhibitory activity of heteroaromatic chalcones. *Bioorg. Med. Chem.* 2016; 24(22): 5921–8. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.09.051. Epub 2016 Sep 21.
25. Fiorito S., Epifano F., Bruyère C., Mathieu V., Kiss R., Genovese S. Growth inhibitory activity for cancer cell lines of lapachol and its natural and semi-synthetic derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2014; 24: 454–7. DOI: 10.1016/j.bmcl.2013.12.049
26. Sunassee S.N., Veale C.G.L., Shunmoogam-Gounden N., Osoniyi O., Hendricks D.T., Caira M.R., de la Mare J.-A., Edkins A.L., Pinto A.V., da Silva J. E.N., Davies-Coleman M.T. Cytotoxicity of lapachol, β -lapachone and related synthetic 1,4-naphthoquinones against oesophageal cancer cells. *Eur. J. Med. Chem.* 2013; 62: 98–110. DOI: 10.1016/j.ejmech.2012.12.048
27. Zhang C., Qu Y., Niu B. Design, synthesis and biological evaluation of lapachol derivatives possessing indole scaffolds as topoisomerase I inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 2016; 24(22): 5781–6. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.09.034. Epub 2016 Sep 15.
28. Chen T.W., Tsai K.D., Yang S.M., Wong H.Y., Liu Y.H., Cherng J., Chou K.S., Wang Y.T., Cuizon J., Cherng J.M. Discovery of a Novel Anti-Cancer Agent Targeting Both Topoisomerase I & II as Well as Telomerase Activities in Human Lung Adenocarcinoma A549 Cells In Vitro and In Vivo: Cinnamomum verum Component Cuminaldehyde. *Curr. Cancer Drug Targets.* 2016; 16(9): 796–806. DOI: 10.2174/1568009616666160426125526
29. Rao S.A.V., Vishnu M.V.P.S.V., Reddy N.V.S., Reddy T.S., Shaik S.P., Bagul Ch., Kamal A. Synthesis and biological evaluation of imidazopyridinyl-1,3,4-oxadiazole conjugates as apoptosis inducers and topoisomerase II α inhibitors. *Bioorgan. Chem.* 2016; 69: 7–19. DOI: 10.1016/j.bioorg.2016.09.002
30. Riddell I.A., Park G.Y., Agama K., Pommier Y., Lippard S.J. Phenanthriplatin Acts as a Covalent Topoisomerase II Poison. *ACS Chem. Biol.* 2016; 11(11): 2996–3001. DOI: 10.1021/acscchembio.6b00565
31. Meier C., Steinhauer T.N., Koczian F., Plitzko B., Jarolim K., Girreser U., Braig S., Marko D., Vollmar A.M., Clement B. A Dual Topoisomerase Inhibitor of Intense Pro-Apoptotic and Antileukemic Nature for Cancer Treatment. *Chem. Med. Chem.* 2017; 12(5): 347–52. DOI: 10.1002/cmdc.201700026. Epub 2017 Feb 8.
32. Zhang B., Li X., Li B., Gao C., Jiang Y. Acridine and its derivatives: a patent review (2009–2013). *Expert Opin. Ther. Pat.* 2014; 24(6): 647–64. DOI: 10.1517/13543776.2014.902052
33. Matsumoto H., Yamashita T., Tahara S., Hayakawa Sh., Wada K., Tomioka A. Design, synthesis, and evaluation of DNA topoisomerase II-targeted nucleosides. *Bioorg. Med. Chem.* 2018; 26 (8): 1920–8. DOI: 10.1016/j.bmc.2017.06.001
34. Sović I., Jambon, S., Pavelić S.K., Markova-Car E., Ilić N., Depauw S., David-Cordonnier M.-H., Karminski-Zamola G. Synthesis, antitumor activity and DNA binding features of benzothiazolyl and benzimidazolyl substituted isoindolines. *Bioorg. Med. Chem.* 2018; 26 (8): 1950–60. DOI: 10.1016/j.bmc.2018.02.045
35. Shchekotikhin A.E., Glazunova V.A., Dezhenkova L.G., Shevtsova E.K., Traven V.F., Balzarini J., Huang H.S., Shtil A.A., Preobrazhenskaya M.N. The first series of 4,11-bis[(2-aminoethyl)-amino]anthra[2,3-b]furan-5,10-diones: Synthesis and anti-proliferative characteristics. *Eur. J. Med. Chem.* 2011; 46(1): 423–8. DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.11.017. Epub 2010 Nov 19.
36. Tikhomirov A.S., Shchekotikhin A.E., Lee Y.H., Chen Y.A., Yeh C.A., Tatarskiy V.V. Jr, Dezhenkova L.G., Glazunova V.A., Balzarini J., Shtil A.A., Preobrazhenskaya M.N., Chueh P.J. Synthesis and Characterization of 4.11-Diaminoanthra[2,3-b]furan-5,10-diones: Tumor Cell Apoptosis through tNOX-Modulated NAD(+)/NADH Ratio and SIRT1. *J. Med. Chem.* 2015; 58(24): 9522–34. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00859. Epub 2015 Dec 15.
37. Shchekotikhin A.E., Dezhenkova L.G., Tsvetkov V.B., Luzikov Y.N., Volodina Y.L., Tatarskiy V.V. Jr, Kalinina A.A., Treshalina M.I., Treshalina H.M., Romanenko V.I., Kaluzhny, D.N., Kubbutat M., Schols D., Pommier Y., Shtil A.A., Preobrazhenskaya M.N. Discovery of antitumor anthra[2,3-b]furan-3-carboxamides: Optimization of synthesis and evaluation of antitumor properties. *Eur. J. Med. Chem.* 2016; 112: 114–29. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.01.050
38. Miglietta G., Cogoi S., Marinello J., Capranico G., Tikhomirov A.S., Shchekotikhin A.E., Xodo L.E. RNA G-Quadruplexes in Kirsten Ras (*KRAS*) oncogene as targets for small molecules inhibiting translation. *J. Med. Chem.* 2017; 60(23): 9448–61. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00622
39. Treshalina H.M., Romanenko V.I., Kaluzhny D.N., Treshalina M.I., Nikitin A.A., Tikhomirov A.S., Shchekotikhin A.E. Development and pharmaceutical evaluation of the anticancer Anthra[2,3-b]furan/Cavitron complex, a prototypic parenteral drug formulation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2017; 109: 631–7. DOI: 10.1016/j.ejps.2017.09.025
40. Tikhomirov A.S., Lin C.-Y., Volodina Y.L., Dezhenkova L.G., Tatarskiy V.V., Schols D., Shtil A.A., Kaur P., Chueh P.J., Shchekotikhin A.E. New antitumor anthra[2,3-b]furan-3-carboxamides: Synthesis and structure-activity relationship. *Eur. J. Med. Chem.* 2018; 148: 128–39. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.02.027
41. Shchekotikhin A.E., Treshalina E.M., Treshalin I.D. *Oral antineoplastic agents and methods of treatment of oncological diseases*. Patent RF №2639479. 2017. <http://www.findpatent.ru/patent/263/2639479.html>. (in Russian) / Щекотихин А.Е., Трещалина Е.М., Трещалин И.Д. *Пероральные противоопухолевые средства и способы лечения онкологических заболеваний*. Патент РФ № 2639479. 2017. <http://www.findpatent.ru/patent/263/2639479.html>.
42. Pereverzeva E.R., Treshalin M.I., Eremkin N.V., Shchekotikhin A.E., Treshalin I.D. Toxicological characteristics of the new antitumoral multitarget preparation anthra[2,3-b]furan. *Rossiiskij bioterapevticheskij zhurnal.* 2017; 16 (4): 80–4. DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-4-80-84. (in Russian) / Переверзева Э.Р., Трещалин М.И., Еремкин Н.В., Щекотихин А.Е., Трещалин И.Д. Токсикологическая характеристика нового противоопухолевого мультитаргетного препарата антрафуран. *Российский биотерапевтический журнал.* 2017; 16 (4): 80–4. DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-4-80-84

Поступила 23.04.18
Принята к печати 17.05.18

К ст. М.И. Трещалина и соавт.

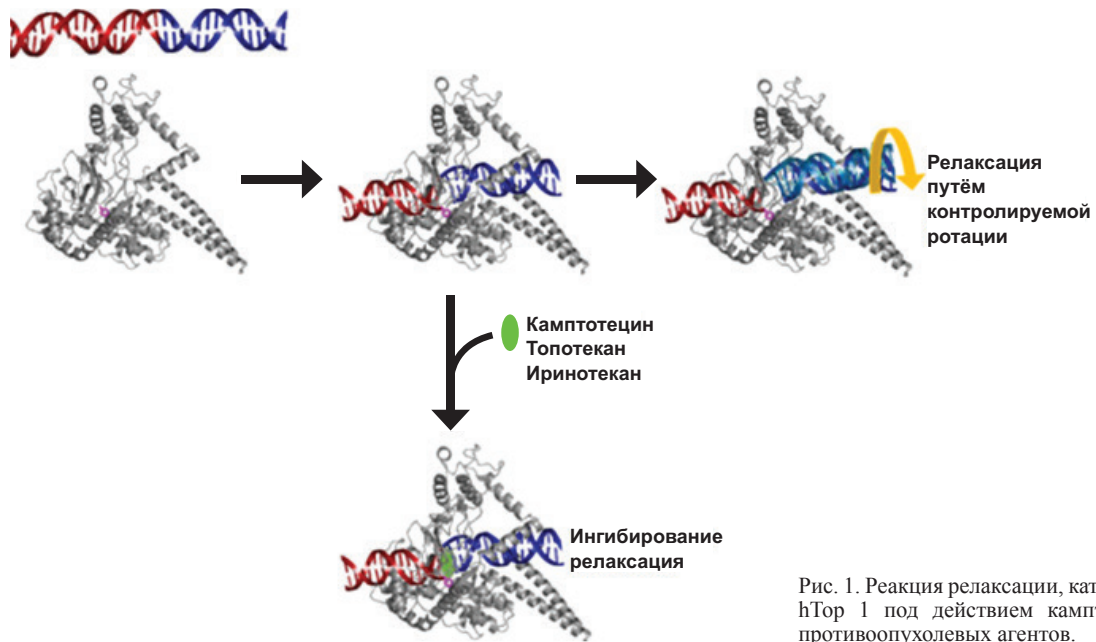


Рис. 1. Реакция релаксации, катализируемая hTop 1 под действием камптотециновых противоопухолевых агентов.

К ст. Т.Н. Борисовой и соавт.

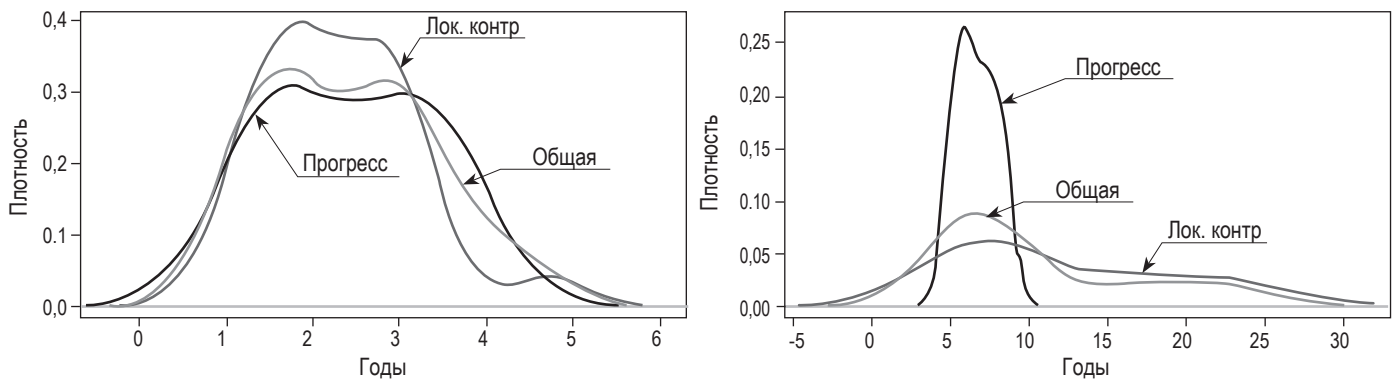


Рис. 2. Параметрическая оценка плотности распределения параметров: размер опухоли и SUV_{max} . Гистограмма 1 – размер опухоли. Гистограмма 2 – SUV_{max} .

К ст. О.Г. Григоруку и соавт.

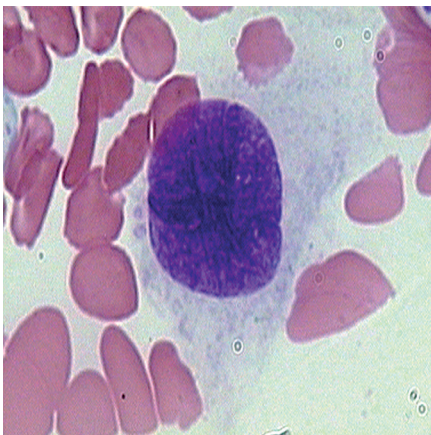


Рис. 1. Циркулирующие клетки в периферической крови в виде голоядерных атипизированных элементов у пациента 63 лет с аденогенным раком лёгкого.

Препарат приготовлен методом гемоцитифiltrации. Окраска по Паппенгейму. Ув. 1000.

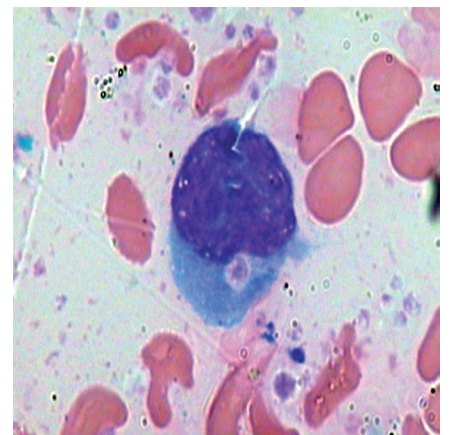


Рис. 2. Циркулирующие опухолевые клетки в периферической крови у пациентки 57 лет с перстневидноклеточным раком желудка.

Препарат приготовлен методом гемоцитифiltrации. Окраска по Паппенгейму. Ув. 1000.