

DOI: <https://doi.org/10.17816/onco642137>

Противоопухолевый эффект производных бисбензимидазола на моделях мышинной меланомы и рака лёгкого *in vivo*

С.Ш. Каршиева¹, А.Ф. Арутюнян², Е.А. Зайцева¹, Н.М. Смирнов², А.Л. Жузе², О.Ю. Сусова¹¹ Научный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия;² Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Разработка новых противоопухолевых препаратов на основе бензимидазолов открывает новые возможности для лечения злокачественных опухолей, в том числе устойчивых к традиционным лекарственным препаратам. Бензимидазольные соединения обладают широким спектром биологических активностей, включая противоопухолевое действие, и демонстрируют высокую цитотоксичность в отношении клеточных линий опухолей человека. Исследование противоопухолевых эффектов новых синтетических производных бензимидазолов на моделях опухолевого роста *in vivo* позволит разработать эффективные дозы и схемы лечения рака с использованием подобных соединений.

Цель. Исследование противоопухолевого эффекта производных бисбензимидазола мономерного соединения MB₂Py(Ac) и димерного DB₂Py(3) на перевиваемых моделях карциномы лёгкого Льюиса (англ. Lewis Lung Carcinoma, LLC) и меланоме B16 у мышей.

Методы. Оценку противоопухолевого эффекта *in vivo* выполняли на перевиваемых мышинных моделях LLC и меланоме B16 при однократном внутривенном введении MB₂Py(Ac) и DB₂Py(3). В качестве препарата сравнения использовали иринотекан. Для оценки противоопухолевого действия исследуемых веществ применяли стандартные показатели: торможение роста опухоли (ТРО, %) и индекс прироста опухоли.

Результаты. Соединения DB₂Py(3) и MB₂Py(Ac) в исследованных дозах и режиме продемонстрировали слабовыраженный противоопухолевый эффект на моделях солидных опухолей у мышей (ТРО <50%). На модели меланомы B16 максимальное торможение роста для MB₂Py(Ac) и DB₂Py(3) составило 15 и 38,5% соответственно. На модели LLC эффект слабый: всего 8% для MB₂Py(Ac) и 23,4% для DB₂Py(3). Эффект контрольного препарата иринотекана более выраженный, хоть и кратковременный: ТРО достигало 52,5% на меланоме B16 и 34,5% на LLC. В целом меланома B16 оказалась более чувствительной к воздействию бисбензимидазолов и иринотекана по сравнению с LLC.

Заключение. Исследование показало, что среди тестируемых препаратов на моделях меланомы и LLC наиболее перспективно димерное соединение DB₂Py(3). Тем не менее его высокая токсичность требует дальнейшей оптимизации для клинического использования. MB₂Py(Ac) оказался наименее эффективным, однако также может быть исследован в изменённых режимах введения.

Ключевые слова: бисбензимидазолы; модели перевиваемых опухолей; противоопухолевый эффект.

Как цитировать:

Каршиева С.Ш., Арутюнян А.Ф., Зайцева Е.А., Смирнов Н.М., Жузе А.Л., Сусова О.Ю. Противоопухолевый эффект производных бисбензимидазола на моделях мышинной меланомы и рака лёгкого *in vivo* // Российский онкологический журнал. 2024. Т. 29, № 3. С. 224–233.

DOI: <https://doi.org/10.17816/onco642137>

DOI: <https://doi.org/10.17816/onco642137>

***In vivo* antitumor effects of bis-benzimidazole derivatives in mouse melanoma and lung cancer models**

Saida Sh. Karshieva¹, Albert F. Arutyunyan², Elizaveta A. Zaytseva¹, Nikolay M. Smirnov², Alexei L. Zhuze², Olga Yu. Susova¹

¹ Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia;

² Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The development of new antitumor agents on the basis of benzimidazoles opens new opportunities for treatment of the malignant tumors, including those refractory to conventional therapies. The benzimidazole derivatives demonstrate wide spectrum of biological activities, specifically antineoplastic effects, and high-level cytotoxicity toward human's tumor cell lines. The exploration of antineoplastic effects of new synthetic benzimidazole derivatives in *in vivo* models of tumor growth will help the development of the effective doses and cancer treatment regimens with the use of such compounds.

AIM: To assess the antineoplastic effects of the benzimidazole derivatives — monomeric compound MB₂Py(Ac) and dimeric compound DB₂Py(3) — in the continuous cellular models of Lewis lung carcinoma (LLC) and melanoma B16 in mice.

MATERIALS AND METHODS: *In vivo* assessment of antineoplastic effects was performed in the continuous mouse models of Lewis lung carcinoma (LLC) and B16 melanoma after a single intravenous injection of MB₂Py(Ac) and DB₂Py(3). Irinotecan was used as a comparator drug. Antitumor effects were measured via standard parameters, such as tumor growth inhibition (TGI%) and tumor growth rate (TGR).

RESULTS: The study compounds DB₂Py(3) and MB₂Py(Ac) used in the study doses and regimen demonstrated mild antitumor effect in the model of murine solid tumors (TGI <50%). In melanoma B16 model, the maximum tumor growth inhibition was 15% and 38.5%, respectively, for MB₂Py(Ac) and DB₂Py(3). In the lung carcinoma model, the mild effect was observed, e.g. 8% for MB₂Py(Ac) and 23.4% for DB₂Py(3). The effect of the comparator drug, irinotecan, was more expressive, although short-term. In particular, TGI achieved 52.5% for melanoma B16 and 34.5% for Lewis lung carcinoma (LLC). In general, melanoma B16 was more sensitive to the effects of both bis-benzimidazoles and irinotecan, compared to the lung carcinoma LLC.

CONCLUSION: This study shows that the dimeric compound DB₂Py(3) was the most promising among three study substances in the models of melanoma and lung carcinoma in mice. Nevertheless, its high toxicity imposes the necessity of further optimization for the clinical use. The substance MB₂Py(Ac) demonstrated lowest efficacy, although it may be also explored in the modified treatment regimens.

Keywords: bis-benzimidazoles; continuous tumor models; antitumor effect.

To cite this article:

Karshieva SSh, Arutyunyan AF, Zaytseva EA, Smirnov NM, Zhuze AL, Susova OYu. *In vivo* antitumor effects of bis-benzimidazole derivatives in mouse melanoma and lung cancer models. *Russian Journal of Oncology*. 2024;29(3):224–233. DOI: <https://doi.org/10.17816/onco642137>

ОБОСНОВАНИЕ

Бензимидазол представляет собой ароматическое соединение, состоящее из имидазольного кольца, конденсированного с бензольным циклом в 4- и 5-м положениях. Впервые синтезирован в XIX веке, а в настоящее время является компонентом 13 лекарственных препаратов, одобренных Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (FDA) [1, 2]. В России производные бензимидазолов применяются в составе антигельминтных препаратов [3], анксиолитических [4] и спазмолитических средств [5]. Плейотропные терапевтические эффекты бензимидазола, помимо противоопухолевого действия, включают антидиабетическую, антимикробную, противогрибковую, противопаразитарную, противовирусную и противовоспалительную активность [6–9]. Широкий спектр биологических активностей бензимидазола обусловлен его химической структурой, а именно существованием 1,3-таутомерного равновесия. Типичный вид таутомерии в бензимидазоле — перенос протона между атомами азота в первом и третьем положении, известный как кольцевая таутомерия. Поскольку сродство каждого таутомера с биологической мишенью зависит от установленной биоактивной конформации, влияние таутомеров на механизм связывания лиганда с мишенью является определяющим [10]. Фармакофор бензимидазола может связываться с биологическими мишенями посредством водородных, гидрофобных, π -связей, вандер-ваальсовых и электростатических взаимодействий [2]. Соединения на основе бензимидазола привлекли внимание онкологов благодаря своей значительной цитотоксической

активности. Механизмы цитотоксического действия бензимидазола и его производных разнообразны. Основные — ингибирование топоизомераз I и II, интеркаляция ДНК и алкилирование, антагонизм андрогенных рецепторов, ингибирование поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP), протеинкиназа и дигидрофолатредуктазы, нарушение микротубулярного аппарата клеток [11]. Несколько соединений на основе бензимидазола получили клиническое одобрение или проходят клинические испытания в качестве препаратов для монотерапии и комбинированной терапии рака. Среди них биниметиниб (метастатическая меланома), бендамустин (лейкозы и неходжкинские лимфомы), селуметиниб (лексиформные нейрофибромы, рак щитовидной железы), велипариб (рак яичников, немелкоклеточный рак лёгкого), довитиниб (метастатический рак молочной железы, кастрационно-резистентный рак предстательной железы), прациностат (миелолейкозы), галетерон (рак предстательной железы), назартиниб (немелкоклеточный рак лёгкого) [2, 12, 13].

Ранее мы получили новые водорастворимые мономерные и димерные гетероциклические узкобороздочные лиганды ДНК на основе флуоресцентного бисбензимидазола Hoechst 33258, способные проникать через клеточную и ядерную мембраны, окрашивать ДНК и ингибировать ДНК-зависимые ферменты [14, 15]. На панели опухолевых клеток человека показана высокая цитотоксическая активность синтезированных веществ и один из возможных механизмов их действия [15]. Для исследования *in vivo* отобраны наиболее активные вещества — мономерный лиганд MB₂Py(Ac) и димер DB₂Py(3), химическая структура которых представлена на рис. 1.

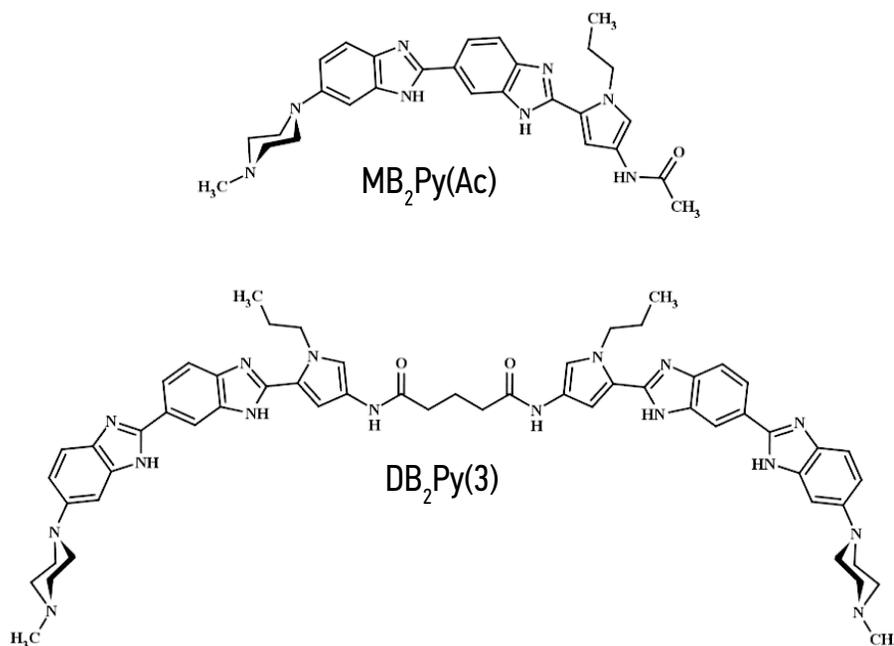


Рис. 1. Химическая структура MB₂Py(Ac) и DB₂Py(3), полученная с помощью ПО MarvinSketch (Chemaxon Ltd., Венгрия); <https://chemaxon.com/marvin>.

Fig. 1. Chemical structure of monomeric ligand MB₂Py(Ac) and dimeric ligand DB₂Py(3) obtained using MarvinSketch software (Chemaxon Ltd., Hungary); <https://chemaxon.com/marvin>.

Цель исследования — изучение противоопухолевого эффекта $MB_2Pu(As)$ и $DB_2Pu(3)$ на моделях мышинной меланомы B16 и карцинома лёгкого Льюиса (LLC).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Препараты

Препараты $MB_2Pu(As)$ (мономер) и $DB_2Pu(3)$ (димер) были получены в виде жёлтых кристаллических порошков. Чистоту полученных соединений определяли с помощью тонкослойной хроматографии на пластинках Kieselgel 60 F254 (Merck). Выход веществ составил 0,37 г (92,4%) для $MB_2Pu(As)$ и 61 мг (47%) для $DB_2Pu(3)$. Растворы для введения животным готовили *ex tempore* путём разведения в физиологическом растворе («ПанЭко, Россия») и перемешивания в ультразвуковой бане при комнатной температуре в течение 10 мин до полного растворения. Концентрации стоковых растворов составили 30 мг/мл для мономера и 18 мг/мл для димера. Иринотекан («Актавис групп», Исландия) растворяли до концентрации 20 мг/мл.

Исследуемые животные

В экспериментах использованы 8-недельные самцы и самки мышей линии C57Bl6 со средним весом 23–24 г, полученные из разведения НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина. Животных содержали в виварии с естественным освещением на брикетированном корме и постоянном доступе к воде. Перед введением препаратов мышей распределили на группы ($n=8$). Одну группу оставили без специфического лечения и считали контрольной.

Опухолевые модели

В исследовании использованы перевиваемая мышинная LLC и меланома B16, полученные из коллекции опухолевых штаммов НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. LLC 3-го пассажа перевивали на мышах-самцах C57Bl6 путём подкожной трансплантации 0,5 мл 10% взвеси измельчённой опухолевой ткани в среде 199 (ПанЭко, Россия). Меланому B16 на 3-м пассаже перевивали мышам-самцам C57Bl6 путём подкожной трансплантации 0,5 мл 10% взвеси опухолевой ткани в среде 199.

Дозы и режимы введения препаратов

Лечение животных начинали через 48 ч после подкожной трансплантации опухолей. Все препараты вводили однократно внутривенно в объёме 0,2 мл. $MB_2Pu(As)$ в дозе 60 мг/кг, $DB_2Pu(3)$ — в дозе 5 мг/кг. В качестве препарата сравнения использован иринотекан в дозе 30 мг/кг. Контрольным мышам вводили физиологический раствор в эквивалентных объёмах. В каждой группе было по 8 мышей. Измерение опухолевого узла проводили после трансплантации

опухоли 2 раза в неделю в течение всего эксперимента. Объём опухолевого узла определяли по формуле: $V=\pi/6 \times L \times W \times H$, где L, W, H — линейные размеры опухоли [16].

Оценка противоопухолевого эффекта

Критериями эффективности исследуемых соединений служили показатель торможения роста опухоли (ТРО, %) и индекс прироста опухоли (ИПО), которые вычисляли по формулам:

$$\text{ТРО (\%)} = \frac{|V_k - V_0|}{V_k} \times 100,$$

где V_k и V_0 — средний объём опухоли (мм^3) в контрольной и опытной группах соответственно;

$$\text{ИПО} = V_t / V_0,$$

где V_t — объём опухолей в день на сутки эксперимента, V_0 — объём опухолей в день первого измерения.

Этическая экспертиза

Все эксперименты проводили в соответствии с этическими требованиями к исследованиям на экспериментальных животных, утверждёнными в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина и одобрены локальным этическим комитетом (документ № 04р-2024 от 21.05.2024).

Статистический анализ

Статистический анализ данных проводили с использованием MS Excel 2016 и GraphPad Prism версии 8.0 (GraphPad Software, Inc., США). В качестве описательных статистик в работе приведены средние арифметические значения объёмов и стандартное отклонение ($\text{Mean} \pm \text{SD}$). Выявление различий между контрольной группой и каждой лечебной группой выполняли с помощью одностороннего дисперсионного анализа ANOVA. Нормальность распределения проверяли по критерию Шапиро–Уилка, для множественных сравнений использовали апостериорный критерий Тьюки. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Лечение животных с солидными опухолями начинали через 48 ч после подкожной трансплантации взвеси измельчённой опухолевой ткани. Для лечения мышам однократно внутривенно вводили препарат иринотекан в дозе 30 мг/кг или $MB_2Pu(As)$ в дозе 60 мг/кг или $DB_2Pu(3)$ в дозе 5 мг/кг. Дозы рассчитывались по нашим предварительным неопубликованным данным острой токсичности. Первое измерение объёмов опухолей проводили на 5-е сутки после перевивки опухолей, что соответствовало 3-м суткам после начала лечения.

Оценка противоопухолевого эффекта $MB_2Py(As)$ и $DB_2Py(3)$ на модели мышинной меланомы B16

В контрольной группе (без лечения) после подкожной трансплантации меланомы B16 кривая роста характеризуется короткой латентной фазой продолжительностью около 8 дней (ИПО=4,7) и длительной экспоненциальной фазой роста — с 12-х по 22-е сутки (ИПО=12,0–90,4) (рис. 2, табл. 1).

Средний объём опухолей на 5-е сутки составляет $23,2 \pm 6,1$ мм³, на 22-е сутки достигает максимального значения $1522,9 \pm 148,3$ мм³. В группе иринотекана на 3 сутки после начала лечения средние объёмы опухолей составляют $46,5 \pm 15,0$ мм³, то есть получен биологически значимый противоопухолевый эффект — ТРО=52,5% ($p \leq 0,05$). В течение последующих сроков измерения

противоопухолевый эффект иринотекана снижается с ТРО=38,4% ($p \leq 0,05$) до 20,6%, а скорость роста опухоли увеличивается (ИПО=136,8). В группе $DB_2Py(3)$ на 3 сутки после начала лечения наблюдается максимальный ингибирующий эффект на уровне ТРО=38,5% ($p \leq 0,05$), который сохраняется в течение 12 суток после начала лечения и снижается до ТРО=11,9% к концу наблюдения. В группе $MB_2Py(As)$ ТРО на всех сроках наблюдения не превышает 15,0%. Таким образом, иринотекан в режиме однократного введения оказывает наиболее выраженный, но кратковременный противоопухолевый эффект в отношении меланомы B16 (ТРО=48–52%, $p \leq 0,05$). $DB_2Py(3)$ слабо влияет на торможение роста опухоли (ТРО=38,4–35,6%, $p \leq 0,05$), однако торможение сохраняется в течение 12 суток после начала лечения. $MB_2Py(As)$ малоэффективен в исследуемой дозе и режиме лечения (см. рис. 2, табл. 1 и 2).

Таблица 1. Показатели скорости роста меланомы B16 в контроле и группах с иринотеканом, $MB_2Py(As)$ и $DB_2Py(3)$

Table 1. Growth rates of B16 melanoma in control and irinotecan, $MB_2Py(As)$ and $DB_2Py(3)$ groups

Группы	Доза, мг/кг	ИПО на сутки после трансплантации опухолей*					
		5	8	12	15	19	22
Контроль	—	1	4,7	12,0	30,1	54,9	90,4
Иринотекан	30	1	4,9	19,9	50,7	88,6	136,8
$MB_2Py(As)$	60	1	3,4	11,0	27,0	43,6	60,3
$DB_2Py(3)$	5	1	5,1	15,1	41,5	79,3	90,9

Примечание. * 5, 8, 12, 15, 19 и 22-е сутки после трансплантации опухоли соответствуют 3, 6, 10, 13, 17, 20-м суткам после начала лечения.
Note. * 5, 8, 12, 15, 19 and 22 days after tumor transplantation correspond to 3, 6, 10, 13, 17, 20 days after the start of treatment.

Таблица 2. Противоопухолевые эффекты иринотекана, $MB_2Py(As)$ и $DB_2Py(3)$ на модели мышинной меланомы B16

Table 2. Antitumor effects of irinotecan, $MB_2Py(As)$ and $DB_2Py(3)$ in a model of B16 murine melanoma

Препараты	Доза, мг/кг	Торможение роста опухолей (ТРО) на сутки после начала лечения*					
		3	6	10	13	17	20
Иринотекан	30	52,5**	48,5**	39,6**	29,3**	20,8	20,6
$MB_2Py(As)$	60	0,3	15,0	10,2	7,7	6,8	8,1
$DB_2Py(3)$	5	38,4**	37,4**	35,6**	26,5**	14,8	11,9

Примечания. * 3, 6, 10, 13, 17, 20-е сутки после начала лечения соответствуют 5, 8, 12, 15, 19 и 22-м суткам после трансплантации опухоли; ** статистически значимые отличия от контроля ($p \leq 0,05$).

Notes. * 3, 6, 10, 13, 17, 20 the days after the start of treatment correspond to 5, 8, 12, 15, 19 and 22 days after tumor transplantation; ** statistically significant differences from the control ($p \leq 0,05$).

Табл. 3. Показатели скорости роста карциномы лёгкого Льюиса в контроле и группах с иринотеканом, $MB_2Py(As)$ и $DB_2Py(3)$

Table 3. Growth rates of LLC carcinoma in control and irinotecan, $MB_2Py(As)$ and $DB_2Py(3)$ groups

Группы	Доза, мг/кг	Индекс прироста опухоли (ИПО) на сутки после трансплантации опухолей*					
		5	8	12	15	19	22
Контроль	—	1	5,7	24,3	66,6	97,6	184,0
Иринотекан	30	1	2,3	11,0	29,6	41,5	49,9
$MB_2Py(As)$	60	1	3,1	14,8	38,4	46,5	47,9
$DB_2Py(3)$	5	1	3,1	16,1	46,3	53,8	47,4

Примечание. * 5, 8, 12, 15, 19 и 22-е сутки после трансплантации опухоли соответствуют 3, 6, 10, 13, 17, 20-м суткам после начала лечения.
Note. * 5, 8, 12, 15, 19 and 22 days after tumor transplantation correspond to 3, 6, 10, 13, 17, 20 days after the start of treatment.

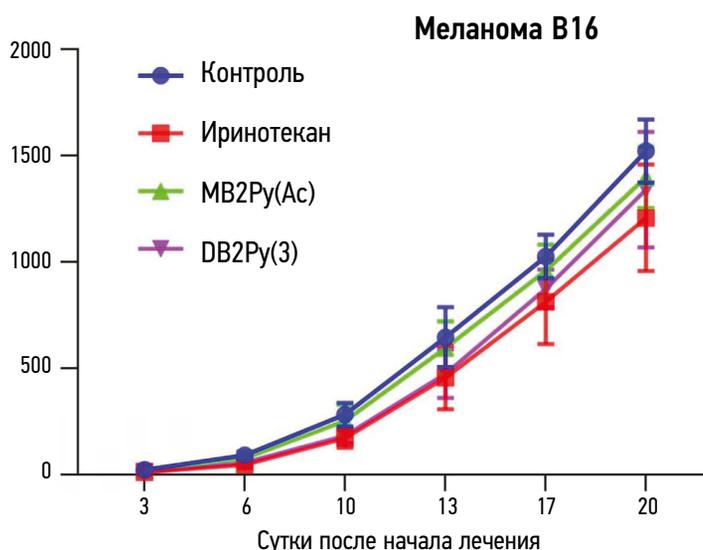


Рис. 2. Динамика роста меланомы B16 у мышей C57Bl6 после однократного внутривенного введения иринотекана в дозе 30 мг/кг, MB2Py(Ac) в дозе 60 мг/кг и DB2Py(3) в дозе 5 мг/кг.

Fig. 2. Growth dynamics of B16 melanoma in C57Bl6 mice after single intravenous administration of irinotecan at a dose of 30 mg/kg, MB₂Py(Ac) at a dose of 60 mg/kg and DB₂Py(3) at a dose of 5 mg/kg.

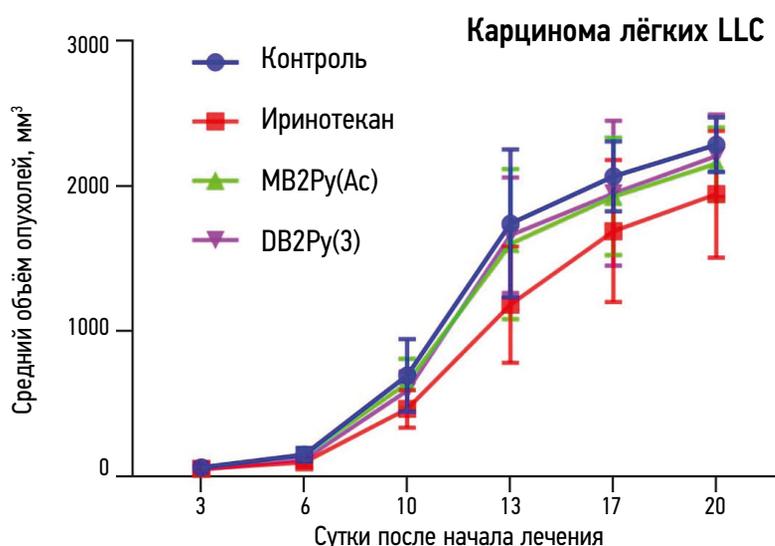


Рис. 3. Динамика роста карциномы лёгкого Льюиса у мышей C57Bl6 после однократного внутривенного введения иринотекана в дозе 30 мг/кг, MB2Py(Ac) в дозе 60 мг/кг и DB2Py(3) в дозе 5 мг/кг.

Fig. 3. Growth dynamics of LLC lung carcinoma in C57Bl6 mice following a single intravenous administration of Irinotecan at a dose of 30 mg/kg, MB₂Py(Ac) at a dose of 60 mg/kg and DB₂Py(3) at a dose of 5 mg/kg.

Таблица 4. Противоопухолевые эффекты иринотекана, MB2Py(Ac) и DB2Py(3) на модели карциномы лёгкого Льюиса

Table 4. Antitumor effects of irinotecan, MB₂Py(Ac) and DB₂Py(3) in a model of LLC lung carcinoma

Препараты	Доза, мг/кг	Торможение роста опухолей (ТРО) на сутки после начала лечения*					
		3	6	10	13	17	20
Иринотекан	30	15,4	34,5**	33,0**	32,1	18,2	14,9
MB ₂ Py(Ac)	60	8,2	4,0	7,6	8,1	6,7	5,7
DB ₂ Py(3)	5	23,4	21,1	15,1	4,6	5,6	3,3

Примечание. *3, 6, 10, 13, 17, 20-е сутки после начала лечения соответствуют 5, 8, 12, 15, 19 и 22-м суткам после трансплантации опухоли; **статистически значимые отличия от контроля ($p \leq 0,05$).

Note. *3, 6, 10, 13, 17, 20 the days after the start of treatment correspond to 5, 8, 12, 15, 19 and 22 days after tumor transplantation; **statistically significant differences from the control ($p \leq 0.05$).

Оценка противоопухолевого эффекта $MB_2Pu(As)$ и $DB_2Pu(3)$ на модели карциномы лёгкого LLC

В группе контроля динамика роста опухоли характеризуется кривой, состоящей из латентной фазы продолжительностью до 8 суток (ИПО=5,7) и экспоненциальной фазы, протекающей с 12-х по 22-е сутки (ИПО=184,0) (табл. 3). Средний объём опухолей в контроле в момент первого измерения (5-е сутки) составляет $64,3 \pm 32,0$ мм³ и в конце наблюдения (22-е сутки) достигает максимального значения $2283,1 \pm 187,5$ мм³ (рис. 3). В группе иринотекана максимальный эффект составляет ТРО=34,5% ($p \leq 0,05$), который сохраняется примерно на одном уровне с 6-х по 13-е сутки после начала лечения (табл. 4). Ингибирующий эффект $DB_2Pu(3)$ ниже, чем у иринотекана, и не превышает 23,4% в течение всего периода наблюдения. $MB_2Pu(As)$ практически не вызывает торможение роста LLC у мышей (ТРО=8–4%). Таким образом, все 3 препарата в исследуемых дозах и режиме введения не оказывали биологически значимого противоопухолевого эффекта (ТРО<50%).

Таким образом, на моделях солидных опухолей у мышей в исследованных дозах и режиме введения препараты $DB_2Pu(3)$ и $MB_2Pu(As)$ показали слабый противоопухолевый эффект (см. табл. 4). $DB_2Pu(3)$ демонстрировал слабо выраженное, но стабильное ингибирование роста опухолей *in vivo*. На модели меланомы В16 максимальное ТРО составляло 38,5%, которое сохранялось до 12-х суток и снижалось до 11,9% к 20-м суткам. На модели LLC максимальное ТРО достигало 23,4% на 3–6-е сутки. Мономер $MB_2Pu(As)$ был малоэффективным: на модели В16 ТРО не превышал 15% в течение эксперимента, а на модели LLC был минимальным (ТРО=4–8%). Контрольный препарат иринотекан продемонстрировал самый значительный, хоть и кратковременный противоопухолевый эффект. На модели меланомы В16 максимальное ТРО достигало 52,5% на 3 сутки, но к 20-м суткам ТРО снизилось до 20,6%. На модели LLC иринотекан достиг пика ТРО (34,5%) на 6-е сутки, сохраняясь выше 30% до 12-х суток. В целом меланома В16 более чувствительна к действию всех тестируемых препаратов, включая иринотекан, по сравнению с LLC.

ОБСУЖДЕНИЕ

Мы впервые исследовали противоопухолевый эффект производных бисбензимидазола на моделях солидных опухолей мышей. Мономерное соединение $MB_2Pu(As)$ является производным Hoechst 33258, в котором фенольный фрагмент красителя заменён на пирролкарбоксамидный фрагмент антибиотика нетропсина. Димерное производное $DB_2Pu(3)$ состоит из двух мономерных субъединиц MB_2Pu , соединённых глутаровой кислотой (см. рис. 1). Благодаря такому линкеру молекула димера

обладает гибкой структурой и является изостеричной по отношению к винтовой геометрии ДНК. Предполагалось, что удвоение молекулы должно привести к повышению биологической активности. В качестве препарата сравнения был использован иринотекан — известный противоопухолевый препарат, ингибитор фермента топоизомеразы I, участвует непосредственно в синтезе ДНК. Выбор иринотекана основан на результатах наших предыдущих исследований, согласно которым мономер $MB_2Pu(As)$ и особенно димерные производные бисбензимидазола обладают схожей с иринотеканом способностью эффективно подавлять каталитическую активность топоизомеразы I и индуцировать арест клеточного цикла в S-фазе после 24-часовой инкубации с опухолевыми клетками [15].

В целом мы показали, что при однократном введении оба исследуемых соединения имели слабо выраженный противоопухолевый эффект по сравнению с иринотеканом. При этом меланома В16 была более чувствительна к воздействию всех препаратов, включая иринотекан, по сравнению с карциномой LLC. Тем не менее оба препарата имеют потенциал для дальнейших исследований их эффективности в режимах многократного введения или с увеличенной дозой. Продемонстрирована способность препаратов данного класса при различных способах введения и многократном применении проявлять выраженный противоопухолевый эффект. Например, производное бензимидазола $Pu-185$ вызывал торможение роста опухоли на 70% и регрессию у 20% мышей с LLC при 10-кратном внутрижелудочном применении в высоких дозах (200–500 мг/кг) [17]. В другом исследовании 12-кратное внутрибрюшинное введение синтетических производных бензимидазолов приводило к подавлению ангиогенеза и остановке роста асцитной опухоли Эрлиха [18].

$DB_2Pu(3)$ представляется более перспективным кандидатом, однако высокая общая токсичность $DB_2Pu(3)$ *in vivo* (неопубликованные данные) значительно сужает терапевтическое окно этого соединения. Возможно, улучшение фармакологического профиля позволит снять ограничения и повысить дозировку соединения. Показано, что комплексообразование плохо растворимых в воде бензимидазолов с поливинилпирролидоном, целлюлозой или циклодекстринами улучшает их биофармацевтические свойства и биодоступность [19]. На модели ксенографтов рака яичника человека эффективность бензимидазолов, инкапсулированных в наночастицы полилактидгликолида, значительно превышала эффект исходного соединения [20].

Ограничения исследования

Ограничением данного исследования является отсутствие данных о режиме многократного введения препаратов, что станет предметом дальнейших экспериментов с этими соединениями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование показало, что среди тестируемых препаратов на моделях меланомы и LLC наиболее перспективно димерное соединение DB₂Py(3), которое имеет тенденцию к длительному ингибированию роста опухоли. Тем не менее его высокая токсичность требует дальнейшей оптимизации для клинического использования. MB₂Py(As) оказался наименее эффективным, однако также может быть исследован в изменённых режимах введения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Научное исследование проведено при поддержке гранта РФФ № 23-25-00373.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию

перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: С.Ш. Каршиева — получение и анализ данных, обзор публикаций по теме статьи, написание текста; О.Ю. Сусова — анализ данных, написание и редактирование статьи; А.Л. Жузе, А.Ф. Арутюнян — разработка дизайна, получение и анализ данных; Е.А. Зайцева, Н.М. Смирнов — анализ данных, редактирование статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This study was supported by RNF grant No. 23-25-00373.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. The greatest contribution is distributed as follows: S.Sh. Karshieva — obtaining and analyzing data, reviewing publications on the topic of the article, writing the text; O.Y. Susova — data analysis, writing and editing of the article; A.L. Zhuze, A.F. Arutyunyan — design development, data acquisition and analysis; E.A. Zaitseva, N.M. Smirnov — data analysis, editing of the article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Vitaku E., Smith D., Njardarson J. Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among US FDA approved pharmaceuticals: miniperspective // *Journal of medicinal chemistry*. 2014. Vol. 57, N 24. P. 10257–10274. doi: 10.1021/jm501100b
- Lee Y., Tan Y., Oon C. Benzimidazole and its derivatives as cancer therapeutics: The potential role from traditional to precision medicine // *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2023. Vol. 13, N 2. P. 478–497. doi: 10.1016/j.apsb.2022.09.010
- Козловский А.А. Глистные и протозойные заболевания у детей: обзор литературы // *Педиатрия. Восточная Европа*. 2024. Т. 12, № 3. С. 496–509. doi: 10.34883/PI.2024.12.3.012
- Мальцев Д.В., Спасов А.А., Мирошников М.В., Скрипка М.О. Современные подходы к поиску анксиолитических средств // *Биоорганическая химия*. 2021. Т. 47, № 4. С. 431–463. doi: 10.31857/S013234232103012X
- Решетникова А.С. Гипертонический криз: определение и классификация, клинические проявления и диагностика, неотложная помощь // *Международный студенческий научный вестник*. 2022. № 5. С. 3–20. EDN: LATKWZ
- Butler M.S., Vollmer W., Goodall E.C.A., et al. A Review of Antibacterial Candidates with New Modes of Action // *ACS Infectious Diseases*. 2024. Vol. 10, N 10. P. 3440–3474. doi: 10.1021/acscinfecdis.4c00218
- Alzhrani Z.M.M., Alam M.M., Nazreen S. Recent advancements on benzimidazole: A versatile scaffold in medicinal chemistry // *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2022. Vol. 22, N 2. P. 365–386. doi: 10.2174/1389557521666210331163810
- Halpern-Cohen V., Blumberg E.A. New Perspectives on Antimicrobial Agents: Maribavir // *Antimicrob Agents Chemother*. 2022. Vol. 66, N 9. P. e0240521. doi: 10.1128/aac.02405-21
- Vasava M.S., Bhoi M.N., Rathwa S.K., et al. Benzimidazole: A Milestone in the Field of Medicinal Chemistry // *Mini Rev Med Chem*. 2020. Vol. 20, N 7. P. 532–565. doi: 10.2174/1389557519666191122125453
- García-Báez E.V., Padilla-Martínez I.I., Cruz A., et al. ¹³C-NMR Chemical Shifts in 1, 3-Benzazoles as a Tautomeric Ratio Criterion // *Molecules*. 2022. Vol. 27, N 19. P. 6268. doi: 10.3390/molecules27196268
- Shrivastava N., Naim M.J., Alam M.J., et al. Benzimidazole scaffold as anticancer agent: synthetic approaches and structure–activity relationship // *Archiv der Pharmazie*. 2017. Vol. 350, N 6. P. e201700040. doi: 10.1002/ardp.201700040
- Haider K., Yar M. *Advances of benzimidazole derivatives as anticancer agents: bench to bedside*. IntechOpen: London, 2022. P. 162. doi: 10.5772/intechopen.101702
- Venugopal S., Kaur B., Verma A., et al. Recent advances of benzimidazole as anticancer agents // *Chemical Biology & Drug Design*. 2023. Vol. 102, N 2. P. 357–376. doi: 10.1111/cbdd.14236
- Arutyunyan A.F., Kostyukov A.A., Korolev S.P., et al. [DNA Sequence-Specific Ligands. 19. Synthesis, Spectral Properties, Virological and Biochemical Studies of DB₃(n) Fluorescent Dimeric Trisbenzimidazoles] // *Mol Biol (Mosk)*. 2023. Vol. 57, N 3. P. 517–527. Russian
- Сусова О.Ю., Каршиева С.Ш., Костюков А.А., и др. Димерные бисбензимидазолпирролы DB₂Py (n)–AT-сайт-специфичные лиганды: синтез, физико-химический анализ и исследования биологической активности // *Acta Naturae (русскоязычная версия)*. 2024. Т. 16, № 1. С. 86–100. doi: 10.32607/actanaturae.27327
- Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. В кн.: *Руководство по проведению доклинических исследований*

лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. — М.: Гриф и К, 2012. С. 640–654. EDN: SDEWMP

17. Комарова Е.Ф., Морковник А.С., Жуковская О.Н., и др. Производное бензимидазола как эффективное противоопухолевое средство в лечении сингенных опухолей легкого и меланомы // Южно-российский онкологический журнал. 2022. Т. 3, № 1. С. 15–21. doi: 10.37748/2686-9039-2022-3-1-2

18. Roopashree R., Mohan C.D., Swaroop T.R., et al. Novel synthetic bisbenzimidazole that targets angiogenesis in Ehrlich ascites

carcinoma bearing mice // *Bioorg Med Chem Lett*. 2015. Vol. 25, N 12. P. 2589–2593. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.04.010

19. Rodrigues L., Tavares A., Ferreira B., et al. Inclusion complexes and self-assembled cyclodextrin aggregates for increasing the solubility of benzimidazoles // *Braz J Pharm Sci*. 2019. Vol. 55. doi: 10.1590/s2175-97902019000117776

20. Chang C., Ryu J., Choi J., et al. Anti-cancer effect of fenbendazole-incorporated PLGA nanoparticles in ovarian cancer // *J Gynecol Oncol*. 2023. Vol. 34, N 5. P. e58. doi: 10.3802/jgo.2023.34.e58

REFERENCES

1. Vitaku E, Smith D, Njardarson J. Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among US FDA approved pharmaceuticals: miniperspective. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2014;57(24):10257–10274. doi: 10.1021/jm501100b

2. Lee Y, Tan Y, Oon C. Benzimidazole and its derivatives as cancer therapeutics: The potential role from traditional to precision medicine. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2023;13(2):478–497. doi: 10.1016/j.apsb.2022.09.010

3. Kozlovsky AA. Helminthic and protozoal diseases in children: a literature review. *Pediatrics Eastern Europe*. 2024;12(3):496–509. doi: 10.34883/Pl.2024.12.3.012

4. Maltsev DV, Spasov AA, Miroshnikov MV. Current approaches to the search of anxiolytic drugs. *Bioorganics Chemistry*. 2021;47(4):431–463. doi: 10.31857/S013234232103012X

5. Reshetnikova AS. Hypertensive crisis: definition and classification, clinical manifestations and diagnosis, emergency care. *International Student Scientific Bulletin*. 2022;(5):3–20.

6. Butler MS, Vollmer W, Goodall ECA, et al. A Review of Antibacterial Candidates with New Modes of Action. *ACS Infectious Diseases*. 2024;10(10):3440–3474. doi: 10.1021/acscinfed.4c00218

7. Alzhrani Z, Alam M, Nazreen S. Recent advancements on benzimidazole: A versatile scaffold in medicinal chemistry. *Mini Rev Med Chem*. 2022;22(2):365–386. doi: 10.2174/1389557521666210331163810

8. Halpern-Cohen V, Blumberg EA. New Perspectives on Antimicrobial Agents: Maribavir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022;66(9): e0240521. doi: 10.1128/aac.02405-21

9. Vasava MS, Bhoi MN, Rathwa SK, et al. Benzimidazole: A milestone in the field of medicinal chemistry. *Mini Rev Med Chem*. 2020;20(7):532–565. doi: 10.2174/1389557519666191122125453

10. García-Báez EV, Padilla-Martínez II, Cruz A, et al. ¹³C-NMR Chemical Shifts in 1, 3-Benzazoles as a Tautomeric Ratio Criterion. *Molecules*. 2022;27(19):6268–6283. doi: 10.3390/molecules27196268

11. Shrivastava N, Naim MJ, Alam MJ, et al. Benzimidazole scaffold as anticancer agent: synthetic approaches and structure–

activity relationship. *Archiv der Pharmazie*. 2017;350(6):e201700040. doi: 10.1002/ardp.201700040

12. Haider K, Yar M. Advances of benzimidazole derivatives as anticancer agents: bench to bedside. IntechOpen: London; 2022. P. 162. doi: 10.5772/intechopen.101702

13. Venugopal S, Kaur B, Verma A, et al. Recent advances of benzimidazole as anticancer agents. *Chemical Biology & Drug Design*. 2023;102(2):357–376. doi: 10.1111/cbdd.14236

14. Arutyunyan AF, Kostyukov AA, Korolev SP, et al. [DNA Sequence-Specific Ligands. 19. Synthesis, Spectral Properties, Virological and Biochemical Studies of DB3(n) Fluorescent Dimeric Trisbenzimidazoles]. *Mol Biol (Mosk)*. 2023;57(3):517–527. Russian

15. Susova OY, Karshieva SS, Kostyukov AA, et al. Dimeric Bis-Benzimidazole-Pyrroles DB2Py(n) — AT-Site-Specific Ligands: Synthesis, Physicochemical Analysis, and Biological Activity. *Acta Naturae*. 2024;16(1):86–100. doi: 10.32607/actanaturae.27327

16. Methodological recommendations for the preclinical study of the antitumor activity of medicines. *Guidelines for conducting preclinical studies of medicines*. Part One; Mironov AN, editor; Moscow : Grif K; 2012. P. 640–654. EDN: SDEWMP

17. Komarova EF, Morkovnik AS, Zhukovskaya ON, et al. A benzimidazole derivative as an effective antitumor agent in terms of syngeneic lung tumors and melanoma treatment. *South Russian Journal of Cancer*. 2022;3(1):15–21. doi: 10.37748/2686-9039-2022-3-1-2

18. Roopashree R, Mohan C, Swaroop T, et al. Novel synthetic bisbenzimidazole that targets angiogenesis in Ehrlich ascites carcinoma bearing mice. *Bioorg Med Chem Lett*. 2015;25(12):2589–2593. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.04.010

19. Rodrigues L, Tavares A, Ferreira B, et al. Inclusion complexes and self-assembled cyclodextrin aggregates for increasing the solubility of benzimidazoles. *Braz J Pharm Sci*. 2019;55. doi: 10.1590/s2175-97902019000117776

20. Chang C, Ryu J, Choi J, et al. Anti-cancer effect of fenbendazole-incorporated PLGA nanoparticles in ovarian cancer. *J Gynecol Oncol*. 2023;34(5):e58. doi: 10.3802/jgo.2023.34.e58

ОБ АВТОРАХ

* **Каршиева Саида Шамильевна**, канд. биол. наук;
адрес: Россия, 115522, Москва, Каширское ш., 23;
ORCID: 0000-0003-2469-2315;
eLibrary SPIN: 9154-7071;
e-mail: skarshieva@gmail.com

Арутюнян Альберт Ферроевич;
ORCID: 0000-0002-5254-9252;
e-mail: abosiy@yandex.ru

Зайцева Елизавета Александровна;
e-mail: liz.zajtzeva2011@gmail.com

Смирнов Николай Михайлович;
e-mail: nick7nov@yandex.ru

Жузе Алексей Львович;
ORCID: 0000-0001-6230-8711;
e-mail: zhuze@eimb.ru

Сусова Ольга Юрьевна, канд. биол. наук;
ORCID: 0000-0001-8192-7913;
eLibrary SPIN: 6502-4232;
e-mail: susovaolga@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

* **Saida Sh. Karshieva**, Cand. Sci. (Biology);
address: 23 Kashirskoe highway, 115522 Moscow, Russia;
ORCID: 0000-0003-2469-2315;
eLibrary SPIN: 9154-7071;
e-mail: skarshieva@gmail.com

Albert F. Arutyunyan;
ORCID: 0000-0002-5254-9252;
e-mail: abosiy@yandex.ru

Elizaveta A. Zajtseva;
e-mail: liz.zajtzeva2011@gmail.com

Nikolay M. Smirnov;
e-mail: nick7nov@yandex.ru

Alexei L. Zhuze;
ORCID: 0000-0001-6230-8711;
e-mail: zhuze@eimb.ru

Olga Yu. Susova, Cand. Sci. (Biology);
ORCID: 0000-0001-8192-7913;
eLibrary SPIN: 6502-4232;
e-mail: susovaolga@gmail.com