

DOI: <https://doi.org/10.17816/onco492271>

Антипролиферативная активность нового ингибитора CYP17A1 алсевирона

И.И. Хан^{1,2}, А.С. Латышева³, В.А. Золотцев^{2,3}, Е.А. Демидова¹, Т.С. Спирина¹, С.Ш. Каршиева¹, Д.В. Соколова^{1,2}, М.Н. Якунина¹, М.В. Комарова^{2,4}, А.Ю. Мишарин³, В.С. Покровский^{1,2}

¹ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, Российская Федерация;

² Российский университет дружбы народов им. П. Лумумбы, Москва, Российская Федерация;

³ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Российская Федерация;

⁴ Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева, Самара, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Рак предстательной железы в большинстве случаев чувствителен к андрогенам, и эффективной стратегией терапии у таких пациентов можно считать андрогенную депривацию. Снижение синтеза андрогенов может быть достигнуто путём ингибирования фермента 17 α -гидроксилазы/17,20-лиазы (CYP17A1), который катализирует две последовательные реакции синтеза андрогенов. Производные стероидов, модифицированные азотсодержащими гетероциклами, привлекают внимание в качестве противоопухолевых средств для лечения рака предстательной железы благодаря способности ингибировать CYP17A1.

Цель — оценить цитотоксическую активность и противоопухолевый эффект синтезированного алсевирона в сравнении с абиратероном.

Методы. Цитотоксичность оценивали с помощью МТТ-теста. Противоопухолевый эффект был исследован *in vivo* на моделях ксенографтов рака предстательной железы 22Rv1 и DU145 у мышей-самцов Balb/c nude. Концентрацию тестостерона определяли методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки крови мышей-самцов BDF1.

Результаты. Алсевирон продемонстрировал цитотоксическую активность на культурах клеток DU145 (23,8 \pm 1,2 мкМ против 151,4 \pm 23,7 мкМ для абиратерона), 22Rv1 (35,9 \pm 5,6 мкМ против 109,9 \pm 35,2 мкМ для абиратерона) и LNCaP (22,9 \pm 0,5 мкМ против 28,8 \pm 1,6 мкМ для абиратерона). Концентрация тестостерона в сыворотке крови мышей BDF1 после 10-дневного лечения снизилась на 80%. Алсевирон статистически значимо подавлял рост ксенографтов 22Rv1 у иммунодефицитных мышей по сравнению с контролем: средний объём опухоли — 171,6 \pm 50,1 мм³ ($p=0,022$) против 424,2 \pm 70,3 мм³ в контроле, при показателе темпа роста опухоли 59%.

Заключение. Алсевирон обладает более высоким цитотоксическим потенциалом в отношении клеток рака предстательной железы (DU145, LNCaP и 22Rv1) по сравнению с абиратероном. Алсевирон продемонстрировал способность снижать концентрацию тестостерона в сыворотке крови мышей BDF1 и показал статистически значимую противоопухолевую активность на моделях ксенографтов 22Rv1.

Ключевые слова: рак предстательной железы; ингибитор CYP17A1; абиратерон; модели ксенографтов для оценки противоопухолевого эффекта.

Как цитировать:

Хан И.И., Латышева А.С., Золотцев В.А., Демидова Е.А., Спирина Т.С., Каршиева С.Ш., Соколова Д.В., Якунина М.Н., Комарова М.В., Мишарин А.Ю., Покровский В.С. Антипролиферативная активность нового ингибитора CYP17A1 алсевирона // Российский онкологический журнал. 2023. Т. 28, № 1. С. 53–63. DOI: <https://doi.org/10.17816/onco492271>

DOI: <https://doi.org/10.17816/onco492271>

Antiproliferative activity of the novel CYP17A1 inhibitor elsevirone

Irina I. Khan^{1,2}, Alexandra S. Latysheva³, Vladimir A. Zolottsev^{2,3}, Elena A. Demidova¹, Tatyana S. Spirina¹, Saida S. Karshieva¹, Darina V. Sokolova^{1,2}, Marina N. Yakunina¹, Marina V. Komarova^{2,4}, Alexander Y. Misharin³, Vadim S. Pokrovsky^{1,2}

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation;

² Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation;

³ Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russian Federation;

⁴ Samara National Research University, Samara, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: Prostate cancer is the most frequently diagnosed type of cancer in men in developed countries. It is dependent upon androgens and could be effectively combated by androgen deprivation therapy. Reduction of androgen synthesis can be accomplished through the inhibition of the enzyme 17 α -hydroxylase/17.20-lyase (CYP17A1), which catalyzes two sequential reactions in the production of androgens. Steroid derivatives modified with nitrogen-containing heterocycles attract attention as antineoplastic agents for prostate cancer treatment due to their inhibitory potential against CYP17A1.

AIM: Evaluate cytotoxic activity and antitumor effects of the synthesized elsevirone in comparison with abiraterone.

METHODS: Cytotoxicity was evaluated using MTT test. Anticancer effect was researched *in vivo* in prostate cancer xenograft models 22Rv1 and DU145 in Balb/c nude mice. Testosterone concentration was determined using an enzyme-linked immunosorbent assay in blood serum of BDF1 mice.

RESULTS: Elsevirone demonstrated cytotoxic activity in prostate cancer cells: DU145 (23.8 \pm 1.2 μ M vs 151.4 \pm 23.7 μ M for abiraterone), 22Rv1 (35.9 \pm 5.6 μ M vs 109.9 \pm 35.2 μ M for abiraterone) and LNCaP (22.9 \pm 0.5 μ M vs 28.8 \pm 1.6 μ M for abiraterone). Testosterone concentration in blood serum of BDF1 mice reduced by 80% after 10-day treatment. Inhibition of the tumors' growth in 22Rv1 xenograft model was statistically significant when using elsevirone in comparison with the control group: average tumor volume was 171.6 \pm 50.1 mm³ ($p=0.022$) vs 424.2 \pm 70.3 mm³ in control, with tumor growth inhibition index of 59%.

CONCLUSIONS: Elsevirone has a higher cytotoxic potential against prostate cancer cells (DU145, LNCaP and 22Rv1) compared to abiraterone. Elsevirone demonstrated the ability to reduce the concentration of testosterone in the blood serum of BDF1 mice, and statistically significant antitumor activity in 22Rv1 xenograft models.

Keywords: prostate cancer; CYP17A1 inhibitor; abiraterone; anticancer activity; xenograft model antitumor assays.

To cite this article:

Khan II, Latysheva AS, Zolottsev VA, Demidova EA, Spirina TS, Karshieva SS, Sokolova DV, Yakunina MN, Komarova MV, Misharin AY, Pokrovsky VS. Antiproliferative activity of the novel CYP17A1 inhibitor elsevirone. *Russian Journal of Oncology*. 2023;28(1):53–63. DOI: <https://doi.org/10.17816/onco492271>

ВВЕДЕНИЕ

Рак предстательной железы (РПЖ) — одна из лидирующих причин смертности от онкологических заболеваний у мужчин в развитых странах [1]. В большинстве случаев заболевание является гормончувствительным, и поэтому предпочтительный способ лечения таких пациентов — андрогенная депривационная терапия, сочетающаяся часто с химической кастрацией. Однако, несмотря на применение депривационной терапии и низкие уровни тестостерона, возможно прогрессирование заболевания. Такие формы называют кастрационно-резистентным РПЖ [2]. Для терапии как гормончувствительного РПЖ, так и его кастрационно-резистентной формы, на сегодняшний день активно исследуются препараты нового поколения, которые проявляют противоопухолевую активность, ингибируя пути биосинтеза андрогенов или блокируя андрогеновые рецепторы (АР).

В мировой практике официально зарегистрирован и успешно применяется в терапии РПЖ только один стероидный ингибитор ключевого фермента биосинтеза андрогенов 17 α -гидроксилазы/17,20-лиазы (СУР17А1) — абиратерон [3]. Помимо ингибирования СУР17А1, абиратерон снижает активность других важных ферментов стероидогенеза, полностью ингибирует экспрессию гена 21-гидроксилазы, снижает экспрессию и активность АР, ингибирует экспрессию нескольких антиапоптотических факторов и стимулирует экспрессию некоторых проапоптотических молекул, а также останавливает пролиферацию клеток РПЖ [4–8].

Некоторые азотсодержащие стероидные производные, структурно близкие к абиратерону, активно разрабатывались в качестве потенциальных противоопухолевых средств [9–11] (например, галетерон* [12, 13]). Среди этих соединений следует отметить

алсевирон* — 2'-{[(E)-3 β -гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]метил}-4',5'-дигидро-1',3'-оксазол.

Ранее нами была показана способность абиратерона ингибировать СУР17А1 [14, 15].

Цель — изучение цитотоксической и противоопухолевой активности алсевирона* по сравнению с абиратероном.

МЕТОДЫ

Противоопухолевые агенты

Алсевирон* (рис. 1, а) был произведён в лаборатории синтеза физиологически активных соединений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ) по ранее разработанной методике [16]. Субстанция абиратерона (рис. 1, б), также синтезированная в лаборатории ИБМХ, была использована в качестве положительного контроля.

Для постановки опытов *in vitro* на культурах клеток РПЖ каждое соединение растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) для получения раствора со стоковой концентрацией 400 мкг/мл, затем полученный раствор разбавляли для достижения необходимых концентраций.

Для изучения противоопухолевого эффекта и влияния соединений на концентрацию тестостерона в сыворотке крови мышей и *in vivo* алсевирон* и абиратерон вводили мышам *per os*. Предварительно препараты растворяли в оливковом масле, при этом конечная концентрация препарата составляла 15–90 мг/мл в зависимости от опыта и массы тела животного.

Культуры клеток

В работе были использованы гормончувствительные (22Rv1, LNCaP) и гормоннечувствительные (PC3, DU145) культуры клеток линий РПЖ человека, полученные из ресурсов биобанка Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский

* ЛС не зарегистрировано в РФ

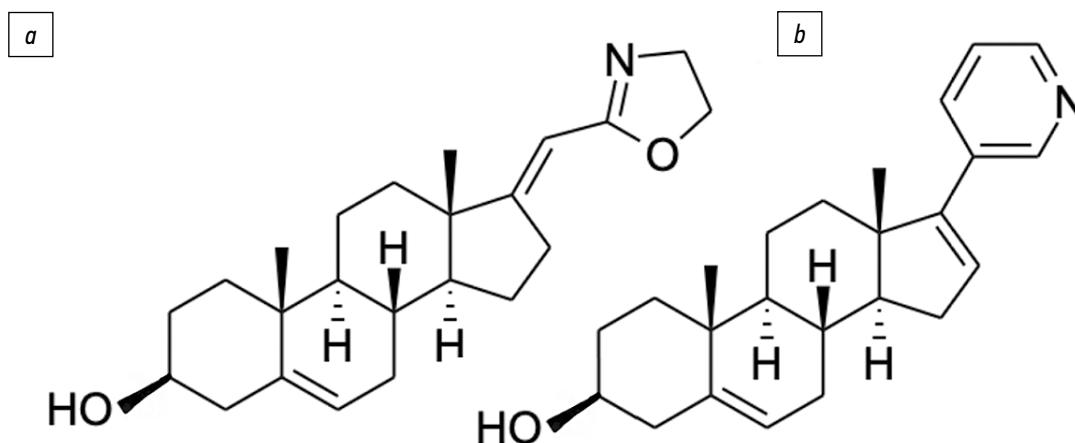


Рис. 1. Химические формулы используемых в исследовании противоопухолевых агентов: а — алсевирон*; б — абиратерон.

Fig. 1. Structures of the title compounds: а — alsevirone, 2'-{[(E)-3 β -hydroxyandrost-5-en-17-ylidene]methyl}-4',5'-dihydro-1',3'-oxazole; б — abiraterone, 3-(3 β -hydroxyandrost-5,16-dien-17-yl)-pyridine.

исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Клетки культивировали в питательной среде RPMI-1640 с добавлением 10% телячьей эмбриональной сыворотки (Gibco, Thermo Fisher Scientific, США) и 1% раствора пенициллина/стрептомицина (ПанЭко, Россия) в среде 5% CO₂ при температуре 37 °С.

Животные

Мыши Balb/c nude 6–10-недельного возраста с массой тела 20–25 г были получены из разведения лаборатории биохимических основ фармакологии и опухолевых моделей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, мыши BDF1 были получены из разведения вивария ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Мышей-самцов линий Balb/c nude и BDF1 содержали в конвенциональных условиях при регулируемой влажности и освещении. Животные получали корм и воду в свободном доступе.

Этический комитет

Опыты, проводимые на животных, были выполнены в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей. Протоколы опытов были утверждены на заседании локального этического комитета ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Определение концентрации тестостерона в сыворотке крови

В сыворотке крови иммунокомпетентных мышей-самцов BDF1 были определены концентрации тестостерона. Мыши получали алсевирон* или абиратерон 10-кратно в разовой дозе 300 мг/кг (суммарно 3 г/кг). Концентрация тестостерона была измерена иммуноферментным анализом (ИФА) с использованием набора Тестостерон-ИФА (ООО «Хема», Россия):

- до начала введения препаратов;
- после 1-й, 4-й, 7-й, 10-й дозы;
- на 6-е и 11-е сутки после завершения введения агентов.

Оценка цитотоксической активности

Цитотоксичность оценивали с помощью МТТ-теста на культурах клеток, инкубированных с исследуемыми соединениями в указанных концентрациях до 100 мг/мл в течение 72 ч.

Оценивали жизнеспособность клеток (% от контроля) в зависимости от концентрации соединений. Рассчитывали IC50 (концентрацию лекарственного средства, которая ингибировала рост клеток на 50%). Все эксперименты проводились в трёх повторах.

* ЛС не зарегистрировано в РФ

Оценка противоопухолевого эффекта

Для оценки противоопухолевой активности проводили терапевтический опыт с использованием моделей подкожных ксенографтов РПЖ 22Rv1 и DU145 у иммунодефицитных мышей-самцов Balb/c nude. Лечение начинали при достижении среднего объёма опухолей ~29 мм³ (ксенографты 22Rv1) или ~80 мм³ (ксенографты DU145). Препараты вводили в течение 10 дней в разовых дозах 150 мг/кг или 300 мг/кг (суммарная доза составила 1,5 или 3,0 г/кг соответственно) в виде суспензии в оливковом масле *per os*. Пероральная форма введения была выбрана исходя из применения в клинической практике абиратерона в виде таблетированной лекарственной формы. Мышам контрольной группы вводили оливковое масло в аналогичном режиме.

Измерения опухолей проводили 2–3 раза в неделю, а объём опухолей считали по формуле: $V = \pi/6 \times (L \times W \times H)$, где L, W и H — три взаимно перпендикулярных измерения опухолевого узла. Эффективность терапии оценивали по двум показателям: торможение роста опухоли (ТРО) и переносимость терапии (изменение массы тела или поведения животного).

Статистическая обработка

Значения, полученные в результате ИФА, были обработаны по пяти точкам для каждой группы с использованием t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Значения представлены в виде «среднее ± стандартное отклонение» (M±SD).

Обработку результатов МТТ-тестов проводили по трём повторам методом нелинейной регрессии. Модель регрессии представляла собой зависимость ингибирования роста клеток РПЖ от концентрации используемых агентов. Полученные значения представлены в виде M±SD. Для анализа было использовано программное обеспечение Graphpad Prism version 4.0 for Windows (GraphPad Software, США).

Данные опытов по оценке противоопухолевого эффекта были проанализированы методами описательной статистики. Сравнение с контрольной группой проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Значения представлены в виде «среднее ± стандартная ошибка» (M±SE). Для анализа использована программная среда SPSS Statistics V. 22.0 (IBM, США).

Уровень значимости для всех видов анализа был установлен равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Концентрация тестостерона в сыворотке крови

После 7-го введения алсевирона* было замечено снижение концентрации тестостерона, которое достигало статистической значимости при уровне $p < 0,05$. При этом концентрация тестостерона в опытной группе составила 20,4% первоначального уровня — $0,31 \pm 0,03$ нг/мл ($p < 0,001$), тогда

как концентрация тестостерона в контроле — $1,52 \pm 0,49$ нг/мл. Абиратерон также способствовал снижению концентрации тестостерона, однако минимальное значение было зафиксировано после 4-го введения — $0,98 \pm 0,22$ нг/мл ($p=0,192$), что составило 64,5% начального значения.

Через 10 дней после последнего введения концентрация тестостерона возвращалась к значениям, сопоставимым с исходными: $1,65 \pm 1,45$ нг/мл ($p=0,103$) для алсевирона* и $1,53 \pm 0,7$ нг/мл ($p=0,424$) для абиратерона.

Таким образом, концентрация тестостерона в сыворотке крови после применения алсевирона* снижалась статистически значимо и достигала примерно 20,4% исходного уровня (рис. 2).

Цитотоксическая активность

Результаты изучения влияния алсевирона* на выживаемость культур клеток РПЖ человека (в сравнении с абиратероном) представлены на рис. 3.

Значения IC50 для абиратерона, представленные в табл. 1, соответствуют опубликованным ранее данным [6–8]. Достоверные отличия от контроля были зафиксированы для всех культур клеток. Кроме того, алсевирон* продемонстрировал высокую цитотоксическую

активность, превосходящую абиратерон, в AP-зависимых клетках РПЖ (LNCaP и 22Rv1), а также в клетках DU145, которые характеризуются низкой экспрессией AP [17]:

- DU145
 - Алсевирон*: IC50 — $23,8 \pm 1,2$ мкМ;
 - Абиратерон: IC50 — $151,4 \pm 23,7$ мкМ;
- 22Rv1
 - Алсевирон*: IC50 — $35,9 \pm 5,6$ мкМ;
 - Абиратерон: IC50 — $109,9 \pm 35,2$ мкМ;
- LNCaP
 - Алсевирон*: IC50 — $22,9 \pm 0,5$ мкМ;
 - Абиратерон: IC50 — $28,8 \pm 1,6$ мкМ;

Клеточная линия PC3 оказалась более чувствительной к абиратерону (при значениях IC50 $59,6 \pm 5,4$ мкМ для абиратерона и $82,0 \pm 4,2$ мкМ для алсевирона*).

Достоверных отличий между группами алсевирона* и абиратерона не было выявлено.

Эффект на модели ксенографтов DU145 у бестимусных мышей Balb/c nude

В изучаемом режиме лечения ингибирующий эффект алсевирона* и абиратерона на модели ксенографтов DU145 был ниже биологически значимого уровня (TPO >50%).

* ЛС не зарегистрировано в РФ

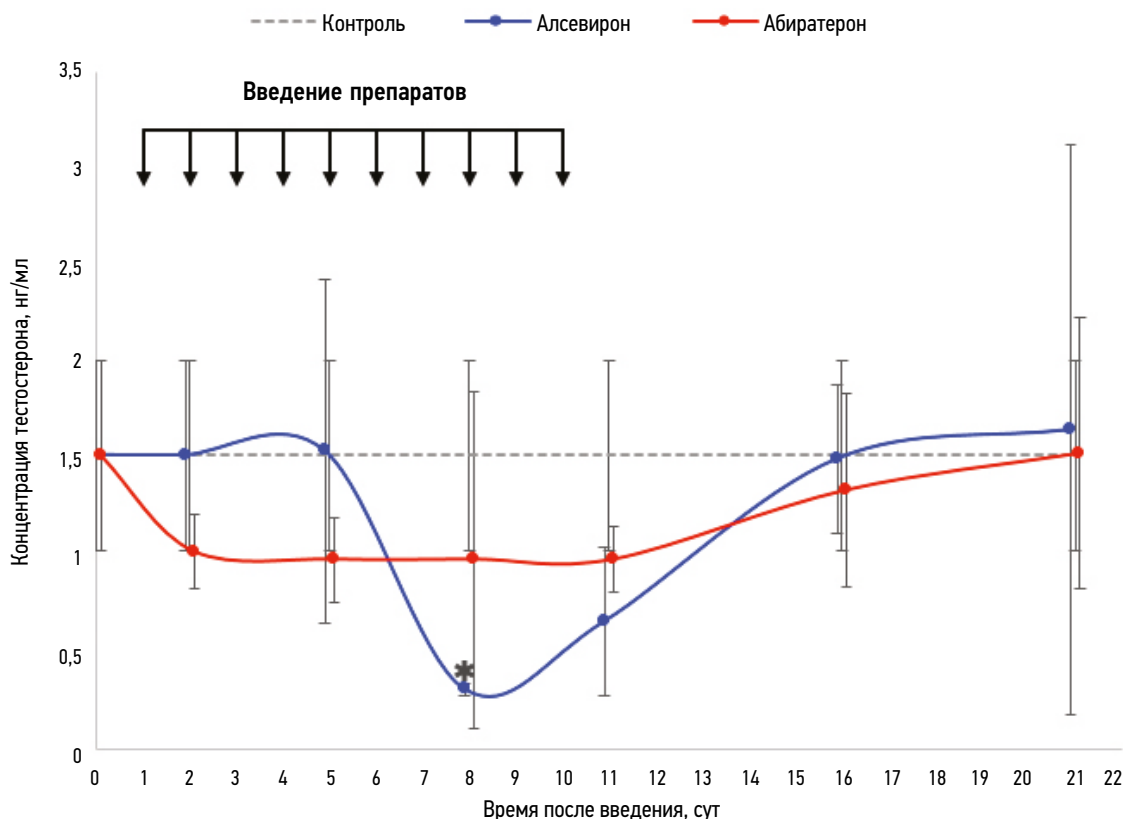


Рис. 2. Влияние алсевирона* и абиратерона на выработку тестостерона у мышей BDF1. Алсевирон* и абиратерон вводили в разовой дозе 300 мг/кг в течение 10 дней. * — значения статистически значимы при уровне критерия Стьюдента $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем.

Fig. 2. Effects of alsevirone and abiraterone on testosterone production in BDF1 mice. Alsevirone and abiraterone were administered in a single dose of 300 mg/kg for 10 days. Data are expressed as mean \pm standard error. * — $p \leq 0,05$ was considered as significant.

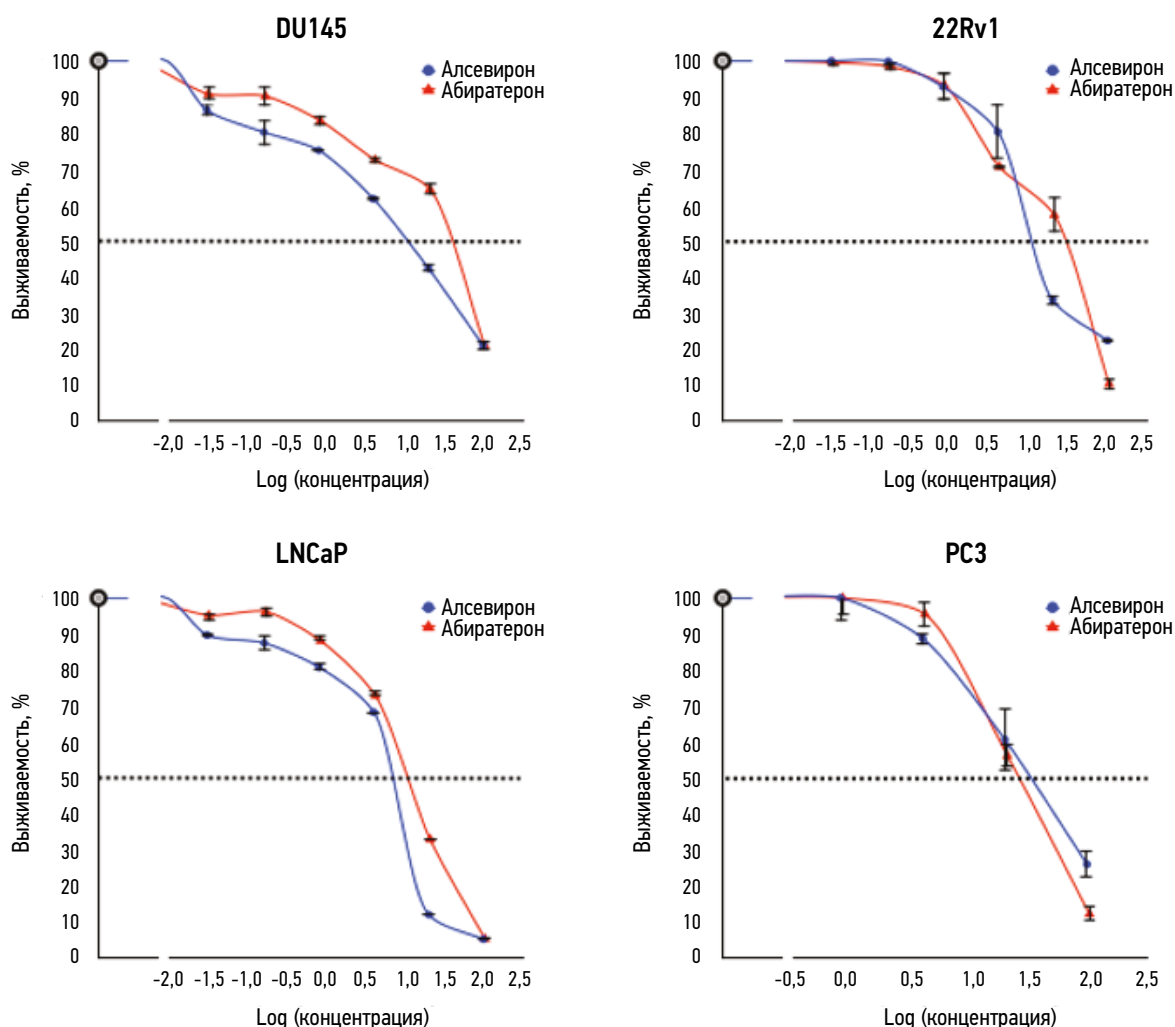


Рис. 3. Цитотоксический эффект алсевирона* по сравнению с абиратероном в культурах клеток рака предстательной железы.

Fig. 3. Effects of alsevirone and abiraterone on the viability of prostate cancer cell lines. LNCaP, DU145, 22Rv1, and PC3 cells were treated with 0.4–100 mg/ml alsevirone and abiraterone for 72 h. Error bars indicate mean \pm standard deviation at $n=3$. All values are significant at $p \leq 0.05$.

Таблица 1. Значения IC50 для алсевирона* и абиратерона при определении цитотоксической активности в культурах клеток рака предстательной железы

Table 1. IC50 values of alsevirone and abiraterone in cytotoxicity assay in prostate cancer cells

Культура клеток	IC50, мкМ	
	Алсевирон*	Абиратерон
LNCaP	22,9 \pm 0,5	28,8 \pm 1,6
DU145	23,8 \pm 1,2	151,4 \pm 23,7
22Rv1	35,9 \pm 5,6	109,9 \pm 35,2
PC3	82,0 \pm 4,2	59,6 \pm 5,4

При этом алсевирон* был более активен в дозе 300 мг/кг при максимальном ТРО=45,4% (см. рис. 3), которое было зафиксировано на 5-е сутки после окончания лечения. Абиратерон в аналогичных дозах был неактивным: средний объем опухоли (V_{cp})=408,9 \pm 168,3 мм³ ($p=0,662$)

и V_{cp} =332,5 \pm 167,5 мм³ ($p=0,852$) при введении доз 150 мг/кг и 300 мг/кг соответственно.

Переносимость терапии можно считать удовлетворительной (рис. 4): гибели мышей в процессе лечения не отмечали, существенной потери массы тела (>10%) не наблюдали.

Эффект на модели ксенографтов 22Rv1 у бестимусных мышей Balb/c nude

При проведении опыта наблюдали высокую скорость роста 22Rv1 (рис. 5). Лечение начинали на 4-е сутки после подкожной трансплантации опухоли при достижении V_{cp} =29,0 \pm 8,9 мм³.

Показано, что алсевирон* в разовой дозе 300 мг/кг оказывает ингибирующий эффект на модели 22Rv1. На 10-е сутки лечения максимальный показатель ТРО составил 59%, что было статистически значимым по сравнению с контролем: V_{cp} =171,6 \pm 50,1 мм³ ($p=0,022$) относительно 424,2 \pm 70,3 мм³ в контрольной группе. При этом

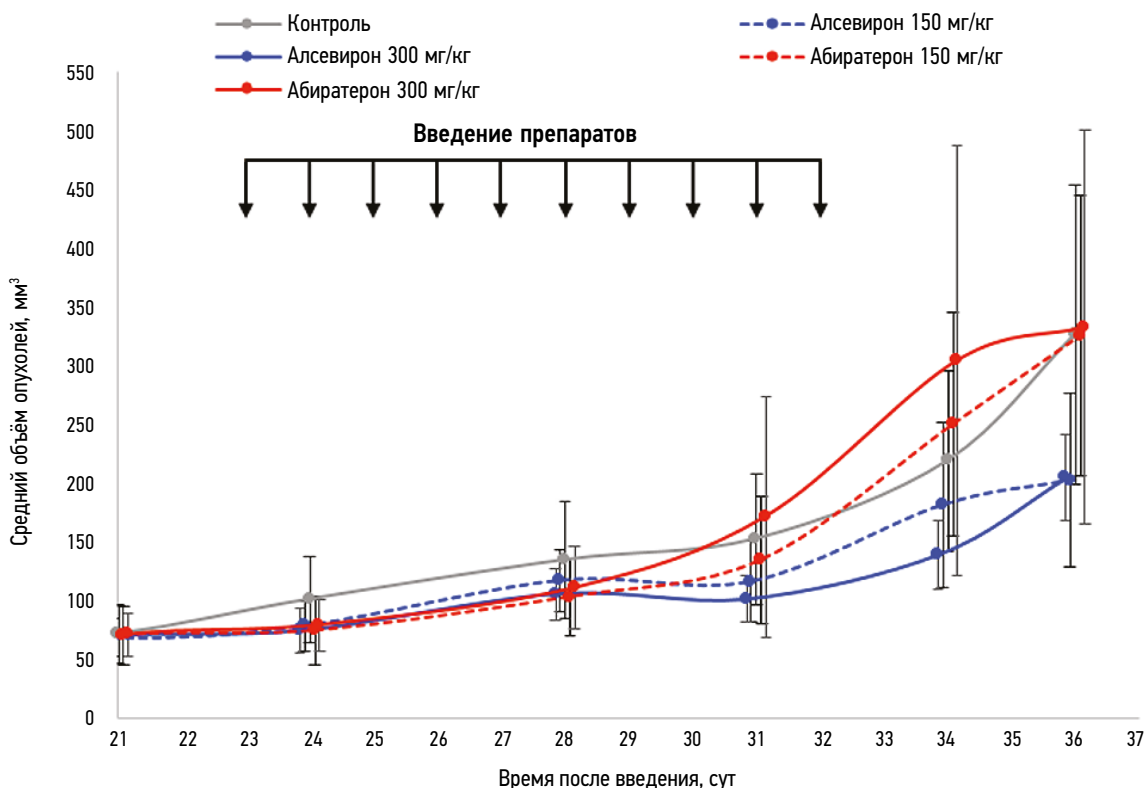


Рис. 4. Динамика роста опухоли на модели ксенографтов DU145 после 10-дневного лечения алсевироном[†] и абиратероном[‡] в дозах 150 мг/кг и 300 мг/кг по сравнению с контрольной группой.

Fig. 4. Dynamics of tumor growth on the DU145 xenograft model after 10-day treatment with alsevirone and abiraterone at doses of 150 mg/kg and 300 mg/kg, compared with the control group.

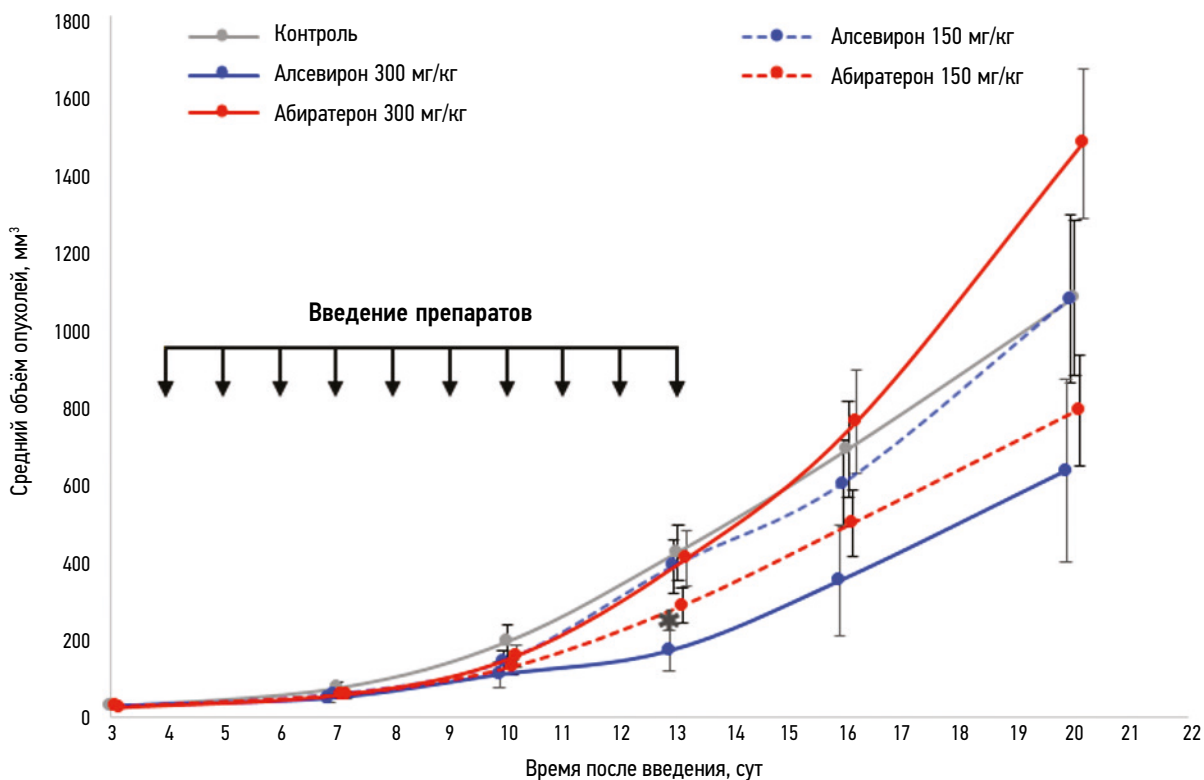


Рис. 5. Динамика роста опухоли на модели ксенографтов 22Rv1 после 10-дневного лечения алсевироном[†] и абиратероном[‡] в дозах 150 мг/кг и 300 мг/кг по сравнению с контрольной группой.

Fig. 5. Dynamics of tumor growth on the 22Rv1 xenograft model after 10-day treatment with alsevirone and abiraterone at doses of 150 mg/kg and 300 mg/kg, compared with the control group.

абиратерон не показал такого же противоопухолевого эффекта; он был более активен при разовой дозе 150 мг/кг, чем при 300 мг/кг: ТРО=32% с $V_{cp}=286,6\pm 44,9$ мм³ ($p=0,203$) и ТРО=4% с $V_{cp}=407,1\pm 71,3$ мм³ ($p=0,971$) соответственно.

Переносимость терапии можно считать удовлетворительной: гибели мышей в процессе лечения не отмечали, существенной потери массы тела (>10%) не наблюдали.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время стероидные ингибиторы СYP17A1 рассматриваются в качестве потенциальных противоопухолевых средств в терапии РПЖ. В этом исследовании мы провели оценку цитотоксического и противоопухолевого эффектов нового стероидного ингибитора СYP17A1 алсевирона* в сравнении с абиратероном. Абиратерон является наиболее близким к алсевирону* и наиболее исследованным агентом группы ингибиторов СYP17A1, который также подавляет некоторые ферменты стероидогенеза и обладает высокой антипролиферативной, цитотоксической и противоопухолевой активностью [7, 8, 18].

Ингибиторы СYP17A1 напрямую влияют на снижение уровня стероидных гормонов, преимущественно тестостерона, с чувствительностью к которому связывают развитие и прогрессию РПЖ [19]. Как и другие стероидные ингибиторы СYP17A1 (абиратерон [4], галетерон* [20], а также нестероидный ODM-204* [21]), алсевирон* значительно снижал уровень тестостерона у мышей BDF1. Концентрация тестостерона в сыворотке крови после введения алсевирона* снизилась ниже кастрационного уровня в 0,5 нг/мл [22] и достигла примерно 20,6% исходного уровня. При этом интересно отметить, что алсевирон* вызывал снижение тестостерона на 5 дней позже, чем абиратерон, но кратковременный эффект был выражен ярче. Это может быть обусловлено различиями фармакокинетических параметров, требующих дополнительного исследования.

Алсевирон* *in vivo* был активен на моделях ксенографтов 22Rv1 (ТРО=59,5%) и DU145 (ТРО=45,4%). Более выраженный противоопухолевый эффект на модели ксенографтов 22Rv1 объясняется высокой гормональной чувствительностью, характерной для этой клеточной линии [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Алсевирон* обладает более высоким цитотоксическим потенциалом в отношении клеток РПЖ (DU145, LNCaP и 22Rv1) по сравнению с абиратероном. Алсевирон* продемонстрировал способность снижать концентрацию тестостерона в сыворотке крови мышей BDF1 и статистически значимую противоопухолевую активность на модели ксенографтов 22Rv1.

* ЛС не зарегистрировано в РФ

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-01551-23-00 (FSSF-2023-0006) «Поиск эффективных и безопасных фармакологических пар на основе низкомолекулярных соединений и ферментов с противоопухолевой активностью» (рег. номер 1022040600928-8-1.6.4;1.6.5;3.1.5;3.1.6 от 2022 г.). Синтез изучаемых агентов осуществлён в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы) (№ 122030100170-5).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с проведённым исследованием и 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: Хан И.И. — разработка дизайна исследования, выполнение экспериментальной части работы, анализ полученных данных, написание текста статьи; Латышева А.С. — разработка дизайна исследования, выполнение синтеза соединений; Золотцев В.А. — разработка дизайна исследования, выполнение синтеза соединений, написание текста статьи; Демидова Е.А., Спирина Т.С. — выполнение экспериментальной части работы; Каршиева С.Ш. — разработка дизайна исследования, выполнение экспериментальной части работы, анализ полученных данных; Соколова Д.В. — выполнение экспериментальной части работы, анализ полученных данных; Якунина М.Н. — выполнение экспериментальной части работы; Комарова М.В. — статистический анализ; Мишарин А.Ю. — разработка дизайна исследования, выполнение синтеза соединений, научное редактирование статьи; Покровский В.С. — разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, научное редактирование статьи, руководство проектом.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation No. 075-01551-23-00 (FSSF-2023-0006) «Search for effective and safe pharmacological pairs based on low molecular weight compounds and enzymes with antitumor activity» (reg. number 1022040600928-8-1.6.4;1.6.5;3.1.5;3.1.6 from 2022). Synthesis of the studied agents was carried out within the framework of the Program of Fundamental scientific research in the Russian Federation for the long-term period (2021–2030) (No. 122030100170-5).

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.

Khan II — designed and performed experiments, systematized materials, wrote and formatted the manuscript; Latysheva AS — designed and performed synthesis of studied compounds; Zolottsev VA — designed and performed synthesis of studied compounds, wrote the manuscript; Demidova EA, Spirina TS — performed experiments; Karshieva SS — designed and performed experiments, systematized materials; Sokolova DV — designed and

performed experiments, systematized materials; Yakunina MN — performed experiments; Komarova MV — statistical analysis; Misharin AYU — designed and performed experiments, performed synthesis of studied compounds, edited the manuscript; Pokrovsky VS — designed experiments, systematized materials, edited the manuscript, approved final draft of the manuscript, supervised the project.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой, Москва : МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии», 2021.
2. Vasaitis T.S., Bruno R.D., Njar V.C.O. CYP17 inhibitors for prostate cancer therapy // *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2011. Vol. 125, N 1-2. P. 23–31. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.11.005
3. de Bono J.S., North S., Saad F., et al. Abiraterone and Increased Survival in Metastatic Prostate Cancer // *The New England journal of medicine*. 2011. Vol. 364, N 21. P. 1995–2005. doi: 10.1056/NEJMoa1014618
4. Auchus M.L., Auchus R.J. Human steroid biosynthesis for the oncologist // *Journal of investigative medicine*. 2012. Vol. 60, N 2. P. 495–503. doi: 10.2310/JIM.0b013e3182408567
5. Udhane S.S., Dick B., Hu Q., Hartmann R.W., Pandey A.V. Specificity of anti-prostate cancer CYP17A1 inhibitors on androgen biosynthesis // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2016. Vol. 477, N 4. P. 1005–1010. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.07.019
6. Grossebrummel H., Tilmann P., Mandelkow R., et al. Cytochrome P450 17A1 inhibitor abiraterone attenuates cellular growth of prostate cancer cells independently from androgen receptor signaling by modulation of oncogenic and apoptotic pathways // *International Journal of Oncology*. 2016. Vol. 48, N 2. P. 793–800. doi: 10.3892/ijo.2015.3274
7. Bruno R.D., Gover T.D., Burger A.M., et al. 17 α -Hydroxylase/17,20 lyase inhibitor VN/124-1 inhibits growth of androgen-independent prostate cancer cells via induction of the endoplasmic reticulum stress response // *Molecular cancer therapeutics*. 2008. Vol. 7, N 9. P. 2828–2836. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0336
8. Bruno R.D., Vasaitis T.S., Gediya L.K., et al. Synthesis and biological evaluations of putative metabolically stable analogs of VN/124-1 (ТОК-001): head to head anti-tumor efficacy evaluation of VN/124-1 (ТОК-001) and abiraterone in LAPC-4 human prostate cancer xenograft model // *Steroids*. 2011. Vol. 76, N 12. P. 1268–1279. doi: 10.1016/j.steroids.2011.06.002
9. Stulov S.V., Tkachev Ya.V., Novikov R.A., et al. Synthesis of 21-nitrogen substituted pregna-5,17(20)-dienes from pregnenolone // *Steroids*. 2012. Vol. 77, N 1-2. P. 77–84. doi: 10.1016/j.steroids.2011.10.007
10. Стулов С.В., Дугин Н.О., Жаркова М.С., и др. Взаимодействие новых оксазолиновых производных 17(20)е-прегна-5,17(20)-диена с цитохромом P450 17A1 // *Биомедицинская химия*. 2016. Т. 62, № 1. С. 38–44. doi: 10.18097/PBMC20166201038
11. Kuzikov A.V., Dugin N.O., Stulov S.V., et al. Novel oxazolonyl derivatives of pregna-5,17(20)-diene as 17 α -hydroxylase/17,20-lyase (CYP17A1) inhibitors // *Steroids*. 2014. Vol. 88. P. 66–71. doi: 10.1016/j.steroids.2014.06.014

12. Kramer W.G., Vince B., McGarry C. Comparison of the pharmacokinetics (PK) of galeterone novel oral formulations // *Journal of Clinical Oncology*. 2013. Vol. 31, N 15 (Suppl.). P. e16075–e16075. doi: 10.1200/jco.2013.31.15_suppl.e16075
13. Yu Z., Cai C., Gao S., et al. Galeterone prevents androgen receptor binding to chromatin and enhances degradation of mutant androgen receptor // *Clinical cancer research*. 2014. Vol. 20, N 15. P. 4075–4085. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-14-0292
14. Костин В.А., Золотцев В.А., Веселовский А.В., и др. Алсевирон (2»-(((E)-3P-гидроксиандрост-5-ен-17-илиден] метил)-4»,5»-дигидро-1»,3»-оксазол) - перспективный кандидат для разработки новых противораковых препаратов // *Российский биотерапевтический журнал*. 2017. Т. 16, № S1. С. 45–46.
15. Золотцев В.А., Латышева А.С., Покровский В.С., и др. Стероидные конъюгаты как потенциальные противоопухолевые агенты // *Российский биотерапевтический журнал*. 2020. Т. 19, № 1. С. 22–52.
16. Kostin V.A., Zolottsev V.A., Kuzikov A.V., et al. Oxazolonyl derivatives of [17(20)E]-21-norpregnene differing in the structure of A and B rings. Facile synthesis and inhibition of CYP17A1 catalytic activity // *Steroids*. 2016. Vol. 115. P. 114–122. doi: 10.1016/j.steroids.2016.06.002
17. Koumakpayi I.H., Diallo J.-S., Le Page C., et al. Expression and nuclear localization of ErbB3 in prostate cancer // *Clinical Cancer Research*. 2006. Vol. 12, N 9. P. 2730–2737. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-05-2242
18. Seitz A.K., Thoene S., Bietenbeck A., et al. AR-V7 in Peripheral Whole Blood of Patients with Castration-resistant Prostate Cancer: Association with Treatment-specific Outcome Under Abiraterone and Enzalutamide // *European Urology*. 2017. Vol. 72, N 5. P. 828–834. doi: 10.1016/j.eururo.2017.07.024
19. Buhmeida A., Pyrhönen S., Laato M., et al. Prognostic factors in prostate cancer // *Diagnostic Pathology*. 2006. Vol. 1, N 1. doi: 10.1186/1746-1596-1-4
20. Alyamani M., Li Z., Berk M., et al. Steroidogenic Metabolism of Galeterone Reveals a Diversity of Biochemical Activities // *Cell Chemical Biology*. 2017. Vol. 24, N 7. P. 825–832.e6. doi: 10.1016/j.chembiol.2017.05.020
21. Oksala R., Moilanen A., Riikonen R., et al. Discovery and development of ODM-204: A Novel nonsteroidal compound for the treatment of castration-resistant prostate cancer by blocking the androgen receptor and inhibiting CYP17A1 // *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2019. Vol. 192. P. 105115. doi: 10.1016/j.jsbmb.2018.02.004
22. Gomella L.G. Effective testosterone suppression for prostate cancer: is there a best castration therapy? // *Reviews in urology*. 2009. Vol. 11, N 2. P. 52–60.

REFERENCES

1. Kaprin AD, Starinskii VV, Shakhzadova AO, editors. *Sostoyanie onkologicheskoi pomoshchi naseleniyu Rossii v 2020 godu*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena — NMRRC of the Ministry of Health of Russia branch; 2022. (In Russ).

2. Vasaitis TS, Bruno RD, Njar VCO. CYP17 inhibitors for prostate cancer therapy. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2011;125(1-2):23–31. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.11.005

3. de Bono JS, North S, Saad F, et al. Abiraterone and Increased Survival in Metastatic Prostate Cancer. *The New England journal of medicine*. 2011;364(21):1995–2005. doi: 10.1056/NEJMoa1014618
4. Auchus ML, Auchus RJ. Human steroid biosynthesis for the oncologist. *Journal of investigative medicine*. 2012;60(2):495–503. doi: 10.2310/JIM.0b013e3182408567
5. Udhane SS, Dick B, Hu Q, Hartmann RW, Pandey AV. Specificity of anti-prostate cancer CYP17A1 inhibitors on androgen biosynthesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2016;477(4):1005–1010. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.07.019
6. Grossebrummel H, Tilmann P, Mandelkow R, et al. Cytochrome P450 17A1 inhibitor abiraterone attenuates cellular growth of prostate cancer cells independently from androgen receptor signaling by modulation of oncogenic and apoptotic pathways. *International Journal of Oncology*. 2016;48(2):793–800. doi: 10.3892/ijo.2015.3274
7. Bruno RD, Gover TD, Burger AM, et al. 17 α -Hydroxylase/17,20 lyase inhibitor VN/124-1 inhibits growth of androgen-independent prostate cancer cells via induction of the endoplasmic reticulum stress response. *Molecular cancer therapeutics*. 2008;7(9):2828–2836. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0336
8. Bruno RD, Vasaitis TS, Gediya LK, et al. Synthesis and biological evaluations of putative metabolically stable analogs of VN/124-1 (TOK-001): head to head anti-tumor efficacy evaluation of VN/124-1 (TOK-001) and abiraterone in LAPC-4 human prostate cancer xenograft model. *Steroids*. 2011;76(12):1268–1279. doi: 10.1016/j.steroids.2011.06.002
9. Stulov SV, Tkachev YaV, Novikov RA, et al. Synthesis of 21-nitrogen substituted pregna-5,17(20)-dienes from pregnenolone. *Steroids*. 2012;77(1-2):77–84. doi: 10.1016/j.steroids.2011.10.007
10. Stulov SV, Dugin NO, Zharkova MS, et al. Interaction of novel oxazoline derivatives of 17(20)e-pregna-5,17(20)-diene with cytochrome P450 17A1. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2016;62(1):38–44. (In Russ). doi: 10.18097/PBMC20166201038
11. Kuzikov AV, Dugin NO, Stulov SV, et al. Novel oxazolonyl derivatives of pregna-5,17(20)-diene as 17 α -hydroxylase/17,20-lyase (CYP17A1) inhibitors. *Steroids*. 2014;88:66–71. doi: 10.1016/j.steroids.2014.06.014
12. Kramer WG, Vince B, McGarry C. Comparison of the pharmacokinetics (PK) of galeterone novel oral formulations. *Journal of Clinical Oncology*. 2013;31(15 Suppl.):e16075–e16075. doi: 10.1200/jco.2013.31.15_suppl.e16075
13. Yu Z, Cai C, Gao S, et al. Galeterone prevents androgen receptor binding to chromatin and enhances degradation of mutant androgen receptor. *Clinical cancer research*. 2014;20(15):4075–4085. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-14-0292
14. Kostin VA, Zolottsev VA, Veselovskii AV, et al. Alsevirone, 2'-[[[(E)-3 β -hydroxyandrost-5-en-17-ylidene)methyl]-4',5'-dihydro-1',3'-oxazole - perspektivnyi kandidat dlya razrabotki novykh protivorakovykh preparatov. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*. 2017;16(S1):45–46. (In Russ).
15. Zolottsev VA, Latysheva AS, Pokrovskii VS, et al. Steroidnye kon'yugaty kak potentsial'nye protivopukhlevye agenty. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*. 2020;19(1):22–52. (In Russ).
16. Kostin VA, Zolottsev VA, Kuzikov AV, et al. Oxazolonyl derivatives of [17(20)E]-21-norpregnene differing in the structure of A and B rings. Facile synthesis and inhibition of CYP17A1 catalytic activity. *Steroids*. 2016;115:114–122. doi: 10.1016/j.steroids.2016.06.002
17. Koumakpayi IH, Diallo J-S, Le Page C, et al. Expression and nuclear localization of ErbB3 in prostate cancer. *Clinical Cancer Research*. 2006;12(9):2730–2737. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-05-2242
18. Seitz AK, Thoene S, Bietenbeck A, et al. AR-V7 in Peripheral Whole Blood of Patients with Castration-resistant Prostate Cancer: Association with Treatment-specific Outcome Under Abiraterone and Enzalutamide. *European Urology*. 2017;72(5):828–834. doi: 10.1016/j.eururo.2017.07.024
19. Buhmeida A, Pyrhönen S, Laato M, et al. Prognostic factors in prostate cancer. *Diagnostic Pathology*. 2006;1(1). doi: 10.1186/1746-1596-1-4
20. Alyamani M, Li Z, Berk M, et al. Steroidogenic Metabolism of Galeterone Reveals a Diversity of Biochemical Activities. *Cell Chemical Biology*. 2017;24(7):825–832.e6. doi: 10.1016/j.chembiol.2017.05.020
21. Oksala R, Moilanen A, Riikonen R, et al. Discovery and development of ODM-204: A Novel nonsteroidal compound for the treatment of castration-resistant prostate cancer by blocking the androgen receptor and inhibiting CYP17A1. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2019;192:105115. doi: 10.1016/j.jsbmb.2018.02.004
22. Gomella LG Effective testosterone suppression for prostate cancer: is there a best castration therapy? *Reviews in Urology*. 2009;11(2):52–60.

ОБ АВТОРАХ

* **Покровский Вадим Сергеевич**, д-р мед. наук, доцент;
адрес: Российская Федерация, 115478, Москва, Каширское ш., д. 24;
ORCID: 0000-0003-4006-9320;
eLibrary SPIN: 4552-1226;
e-mail: v.pokrovsky@ronc.ru

Хан Ирина Игоревна, канд. биол. наук;
ORCID: 0000-0003-2948-0872;
eLibrary SPIN: 6826-7694;
e-mail: irincheck05@gmail.com

Латышева Александра Степановна;
ORCID: 0000-0001-6669-5739;
eLibrary SPIN: 6572-2192;
e-mail: aidanlinch@gmail.com

AUTHORS' INFO

* **Vadim S. Pokrovsky**, MD, Dr. Sci. (Med.), Assistant Professor;
address: 24 Kashirskoe shosse, Moscow 115478, Russian Federation;
ORCID: 0000-0003-4006-9320;
eLibrary SPIN: 4552-1226;
e-mail: v.pokrovsky@ronc.ru

Irina I. Khan, Cand. Sci. (Bio.);
ORCID: 0000-0003-2948-0872;
eLibrary SPIN: 6826-7694;
e-mail: irincheck05@gmail.com

Alexandra S. Latysheva;
ORCID: 0000-0001-6669-5739;
eLibrary SPIN: 6572-2192;
e-mail: aidanlinch@gmail.com

Золотцев Владимир Александрович, канд. хим. наук;

ORCID: 0000-0002-2067-5887;

eLibrary SPIN: 7787-5961;

e-mail: vazolottsev@mail.ru

Демидова Елена Александровна;

ORCID: 0000-0002-6511-3423;

e-mail: badjito@mail.ru

Спирина Татьяна Сергеевна;

ORCID: 0000-0001-7631-3116;

e-mail: spirtatjana@yandex.ru

Каршиева Саида Шамильевна, канд. биол. наук;

ORCID: 0000-0003-2469-2315;

eLibrary SPIN: 9154-7071;

e-mail: skarshieva@gmail.com

Соколова Дарина Вадимовна, канд. биол. наук;

ORCID: 0000-0003-3972-2425;

eLibrary SPIN: 2960-4800;

e-mail: d.v.sokolova@gmail.com

Якунина Марина Николаевна, д-р ветеринар. наук;

ORCID: 0000-0002-5278-1641;

e-mail: irsovet@yandex.ru

Комарова Марина Валериевна, канд. биол. наук;

ORCID: 0000-0002-0065-4990;

eLibrary SPIN: 4359-2715;

e-mail: marinakom@yandex.ru

Мишарин Александр Юрьевич, д-р биол. наук;

ORCID: 0000-0002-5328-716X;

e-mail: amisharin48@gmail.com

Vladimir A. Zolottsev, Cand. Sci. (Chem.);

ORCID: 0000-0002-2067-5887;

eLibrary SPIN: 7787-5961;

e-mail: vazolottsev@mail.ru

Elena A. Demidova;

ORCID: 0000-0002-6511-3423;

e-mail: badjito@mail.ru

Tatyana S. Spirina;

ORCID: 0000-0001-7631-3116;

e-mail: spirtatjana@yandex.ru

Saida S. Karshieva, Cand. Sci. (Bio.);

ORCID: 0000-0003-2469-2315;

eLibrary SPIN: 9154-7071;

e-mail: skarshieva@gmail.com

Darina V. Sokolova, Cand. Sci. (Bio.);

ORCID: 0000-0003-3972-2425;

eLibrary SPIN: 2960-4800;

e-mail: d.v.sokolova@gmail.com

Marina N. Yakunina, Dr. Sci. (Vet.);

ORCID: 0000-0002-5278-1641;

e-mail: irsovet@yandex.ru

Marina V. Komarova, Cand. Sci. (Bio.);

ORCID: 0000-0002-0065-4990;

eLibrary SPIN: 4359-2715;

e-mail: marinakom@yandex.ru

Alexander Yu. Misharin, Dr. Sci. (Bio.);

ORCID: 0000-0002-5328-716X;

e-mail: amisharin48@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author