

РАЗРАБОТКА КЛАТРАТНОГО КОМПЛЕКСА 3-(2-ФЕНИЛЭТИЛ)-2-ТИОКСО-1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-ОНА С В-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ

Ю.Е. Антипова¹, К.Т. Еримбетов^{2,*}, О.В. Буюклинская³

¹ ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России
163069, Российская Федерация, Архангельск, Троицкий просп., 5

² ООО «Научно-исследовательский технологический центр
«Превентивной информационной медицины»
249030, Российская Федерация, Калужская обл., Обнинск, Киевское ш., 3, стр. 2, оф. 8

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Минздрава России
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

Цель работы: разработать и исследовать противоопухолевое действие клатратного комплекса производного роданина (ПР) соединения 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином. По физико-химическим и биофармацевтическим свойствам клатратный комплекс ПР с β -циклодекстрином с соотношением масс 1:5 и средним размером частиц 40,5 нм является фармакологически активным перспективным препаратом. Показано, что разрабатываемый клатратный комплекс ПР с β -циклодекстрином обладает выраженным антипролиферативным и антиметастатическим действием в отношении опухолей эпидермоидной карциномы лёгкого Льюис. ПР в составе клатратного комплекса с β -циклодекстрином обеспечивает эффективное торможение роста опухоли и метастатического процесса, увеличение средней продолжительности жизни животных, снижение количества метастазов в лёгких, подавление жизнеспособности клеток в МТТ-тесте. Результаты исследований позволяют рекомендовать дальнейшие исследования ПР в виде клатратного комплекса с β -циклодекстрином в качестве средства для лечения онкологических заболеваний, вызванных гиперэкспрессией GSK-3 β , и возможностей его применения как самостоятельного средства, так и в комбинированной терапии с другими противоопухолевыми средствами. Обоснованием для практического применения клатратного комплекса ПР с β -циклодекстрином в качестве противоопухолевого средства является его физиологическая безопасность.

Ключевые слова: 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он, клатратный комплекс, противоопухолевая активность, метастазы, торможение роста опухоли, киназа гликогенсинтаза 3 β

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Антипова Ю.Е., Еримбетов К.Т., Буюклинская О.В. Разработка клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином и изучение его противоопухолевой активности. *Биомедицина*. 2024;20(3E):14–19. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-14-19>

Поступила 15.04.2024

Принята после доработки 28.05.2024

Опубликована 01.11.2024

DEVELOPMENT OF A CLATHRATE COMPLEX OF 3-(2-PHENYLETHYL)-2-THIOXO-1,3-THIAZOLIDIN-4-ONE WITH β -CYCLODEXTRIN AND STUDYING ITS ANTITUMOR ACTIVITY

Yulia E. Antipova¹, Kenes T. Erimbetov^{2,*}, Olga V. Buyuklinskaya³

¹ Northern State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
163069, Russian Federation, Arkhangelsk, Troitskiy Ave., 5

² Research Technological Center "Preventive Information Medicine"
249030, Russian Federation, Kaluga Region, Obninsk, Kievskoe Highway, 3, Building 2, Office 8

³ Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia
197376, Russian Federation, Saint Petersburg, Professora Popova Str., 14, lit. A

This work is aimed at developing and studying the antitumor action of a clathrate complex of a rhodanine derivative (RD) of the 3-(2-phenylethyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one compound with β -cyclodextrin. In terms of physicochemical and biopharmaceutical properties, the RD clathrate complex with β -cyclodextrin with a mass ratio of 1:5 and an average particle size of 40.5 nm is a promising pharmacologically active drug. The developed RD clathrate complex with β -cyclodextrin exhibits a pronounced antiproliferative and antimetastatic effect against epidermoid Lewis lung carcinoma tumors. RD as part of a clathrate complex with β -cyclodextrin enables effective inhibition of tumor growth and metastatic processes, increasing the average life expectancy of animals, reducing the number of metastases in the lungs, and suppressing cell viability in an MTT assay. The results obtained confirm the feasibility of further research into the RD clathrate complex with β -cyclodextrin as a means for treating oncological diseases caused by hyperexpression of GSK-3 β both as an independent agent and in a combination therapy with other antitumor agents. Due to its physiological safety, the RD clathrate complex with β -cyclodextrin is a promising antitumor agent for practical application.

Keywords: 3-(2-phenylethyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one, clathrate complex, antitumor activity, metastases, tumor growth inhibition, glycogen synthase kinase 3 β

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Antipova Yu.E., Erimbetov K.T., Buyuklinskaya O.V. Development of a Clathrate Complex of 3-(2-Phenylethyl)-2-Thioxo-1,3-Thiazolidin-4-one with β -Cyclodextrin and Studying its Antitumor Activity. *Journal Biomed.* 2024;20(3E):14–19. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-14-19>

Submitted 15.04.2024

Revised 28.05.2024

Published 01.11.2024

За последние два десятилетия многочисленные исследования предоставили доказательства ключевой роли киназы гликогенсинтазы-3 β (GSK-3 β) в прогрессировании более 25 различных типов рака, включая рак поджелудочной железы [11].

GSK-3 β представляет собой консервативную серин/треониновую киназу, которая регулирует ключевые клеточные процессы, включая пролиферацию клеток, репарацию

ДНК, развитие клеточного цикла, сигнальные и метаболические пути. GSK-3 β участвует во множестве биологических процессов и путей в сложных молекулярных сетях клеток, где она взаимодействует почти со 100 или более структурными и функциональными белками посредством фосфорилирования [9]. Ферментативная активность GSK-3 β регулируется дифференциальным фосфорилированием её остатков S9 (неак-

тивная форма) и тирозина (Y)216 (активная форма). Несмотря на то, что GSK-3 β обычно активна в клетках, ингибирующая регуляция её активности в первую очередь полезна нормальным клеткам для поддержания их жизнедеятельности и гомеостаза в ответ на различные внеклеточные и внутриклеточные стимулы [8, 9]. Из-за избыточности клеточной экспрессии и функций между GSK-3 β и её изоформой GSK-3 α патологическая роль GSK-3 β привлекла к себе повышенное внимание. Аберрантная активность и экспрессия GSK-3 β , а также дефекты её ингибирующей регуляции способствуют патогенезу и прогрессированию распространённых заболеваний, включая сахарный диабет 2-го типа, нейродегенеративные заболевания (например, болезнь Альцгеймера), воспалительные и иммунологические заболевания и рак [3, 5]. Учитывая её противодействующие функции в нормальных клетках и заболеваниях, GSK-3 β считается потенциальной терапевтической мишенью при серьёзных нарушениях здоровья, что стимулирует идентификацию и разработку фармакологических ингибиторов GSK-3 β [12].

Биохимия, биология и функции киназ семейства GSK-3 (GSK-3 α и GSK-3 β) в нормальных клетках, а также их участие в широком спектре распространённых заболеваний всё больше привлекают внимание учёных в области биомедицины и фармакологии [5].

GSK-3 β играет роль в формировании и доброкачественных, и злокачественных новообразований. Недавно она была названа одним из ключевых факторов, участвующим в возникновении и прогрессировании рака поджелудочной железы, а также в приобретении химиорезистентности [10]. Накопленные данные позволяют предположить, что степень экспрессии GSK-3 β коррелирует с процессом онкогенеза и прогрессированием опухолеобразования. Однако по поводу влияния

GSK-3 β на процесс роста опухоли ещё ведутся споры — оказывает ли она подавляющее или стимулирующее действие. Кроме того, сверхэкспрессия GSK-3 β влияет на рост опухоли и способствует чувствительности клеток к химиотерапии. Однако основные механизмы влияния GSK-3 β на онкогенез остаются неясными и требуют дальнейшего углублённого изучения [4].

GSK-3 β участвует в биологических процессах онкогенеза, поэтому целесообразно использовать ингибиторы GSK-3 β для воздействия на злокачественные опухоли. Об эффектах ингибиторов GSK-3 β в сочетании с радиацией и химиотерапевтическими препаратами сообщалось при различных типах рака, что позволяет предположить, что GSK-3 β будет играть важную роль в лечении онкологических заболеваний. GSK-3 β является участником нескольких сигнальных путей, включая Wnt/ β -катенин, PI3K/PEN/АКТ и Notch. GSK-3 β также участвует в репарации ДНК посредством фосфорилирования факторов репарации ДНК и влияния на их связывание с хроматином. Основное внимание уделяется молекулярному механизму GSK-3 β в репарации ДНК, особенностям репарации вырезания оснований и репарации двухцепочечных разрывов, роли GSK-3 β в ингибировании апоптоза посредством активации NF- κ B, а также влиянию ингибиторов GSK-3 β на радиационно-индуцированную химиосенсибилизацию различных типов рака [6].

В настоящее время активно обсуждается, что некоторые ингибиторы GSK-3 β оказывают влияние на процесс онкогенеза в тканях и органах при гиперэкспрессии этого фермента. Одним из ингибиторов GSK-3 β , ответственным за фосфорилирование и инактивацию гликогенсинтазы, является производное роданина (РР) соединение 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиа-золидин-4-он — его ингибирующая активность, выраженная в виде концентрации

полумаксимального ингибирования (IC₅₀), составляет 35 мкМ [1, 7].

При этом актуальным вопросом является улучшение биофармацевтических свойств данного соединения, а именно его растворимости и биологической доступности, в связи с его неудовлетворительными физико-химическими характеристиками — в частности, оно практически нерастворимо в водной среде. В целом, это может обусловить снижение фармакологического и физиологического действия данного соединения. В связи с этим одним из решений изменения физико-химических свойств является создание на основе ПР решётчатого клатрата с β-циклодекстрином. Образование клатратного комплекса ПР с β-циклодекстрином происходит за счёт атомно-молекулярного связывания в надмолекулярные структуры посредством химических или физических взаимодействий, в результате чего происходит повышение растворимости соединений и их биологической доступности, что позволяет уменьшить дозы действующего вещества [2].

Клатратный комплекс ПР с β-циклодекстрином был получен на основе фармакологически активного соединения 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она. Данное ПР имеет следующие характеристики: эмпирическая формула — C₁₁H₁₁NOS₂; молекулярная масса — 237,30; температура плавления — в пределах 110–112°C; внешний вид — порошок жёлтого цвета, без запаха; по тесту растворимости относится к легкорастворимому в хлороформе и ацетоне, малорастворимому в этаноле и метаноле, 2-пропаноле, гексане, практически нерастворимому в воде.

Клатратный комплекс ПР с β-циклодекстрином при массовом соотношении 1:5 был получен в виде порошка белого цвета с жёлтым оттенком и имел средний размер частиц равный 40,5 нм, при этом размер частиц был в пределах от 15 до 90 нм. Равновесная концентрация

при растворении клатратного комплекса ПР с β-циклодекстрином в соотношениях ПР:β-циклодекстрин=1:5 составила около 0,03 мг/мл, их смеси 1:5 (без клатрирования) — 0,014 мг/мл. Полученные данные по исследованиям биологической доступности свидетельствуют о том, что по её уровню клатратный комплекс ПР с β-циклодекстрином превышает 6,08 раза аналогичное значение исходного соединения (ПР).

Таким образом, по физико-химическим и биофармацевтическим свойствам клатратный комплекс ПР с β-циклодекстрином с соотношением масс 1:5 и средним размером частиц 40,5 нм является фармакологически активным, перспективным к исследованию препаратом, который может быть применён в качестве противоопухолевого средства.

Нами было продемонстрировано, что разрабатываемый клатратный комплекс ПР с β-циклодекстрином обладает выраженным антипролиферативным и антиметастатическим действием в отношении опухоли эпидермоидной карциномы лёгкого Льюис. Внутривенное введение в течение 21 дня исследуемого комплекса мышам-опухоленосителям обеспечивает эффективное торможение роста опухоли (45–70%) и метастатического процесса, увеличение средней продолжительности жизни животных (на 38–75%), снижение количества метастазов в лёгких (до 2,7 раза по сравнению с контролем). Жизнеспособность клеток, по данным МТТ-теста, была существенно ниже после инкубации с препаратом в обеих использованных концентрациях (10 и 20 мкМ) по сравнению с животными в группе контроля.

Полученные результаты позволяют рекомендовать дальнейшие исследования клатратного комплекса ПР с β-циклодекстрином в качестве средства для лечения онкологических заболеваний, вызванных гиперэкспрессией GSK-3β, и возможности его применения как самостоятельного

препарата, так и в составе комбинированной терапии с другими противоопухолевыми средствами.

Обоснованием для практического применения клатратного комплекса ПР с β -циклодекстрином в качестве противоопухолевого средства является его физиологическая безопасность, что подтверждается отсутствием мутагенных свойств в тесте

хромосомных нарушений в клетках костного мозга самцов и самок мышей, влияния на внешний вид и поведение животных, повреждающего действия в отношении внутренних органов и систем организма и принадлежности к VI классу относительно безвредных веществ по Hodge и к 5-му классу токсичности в соответствии с ГОСТ 32644-2014.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Еримбетов К.Т., Земляной Р.А., Обвинцева О.В., Пьянкова Е.В., Михайлов В.В. Сигнальные механизмы как факторы физиологической регуляции: роданины и мишени киназы гликогенсинтазы β . *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2021;1:41–54. [Erimbetov K.T., Zemlyanoy R.A., Obvintseva O.V., Pyankova E.V., Mikhailov V.V. Signal'nye mekhanizmy kak faktory fiziologicheskoy regulyatsii: rodaniny i misheni kinazy glikogensintazy β] [Signaling mechanisms as factors of physiological regulation: Rhodanines and targets of glycogen synthase kinase β]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh* [Problems of Productive Animal Biology]. 2021;1:41–54. (In Russian)]. DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2021.1.41-54
2. Земляной Р.А., Еримбетов К.Т., Федорова А.В., Гончарова А.Я., Бондаренко Е.В. Разработка активного клатрата 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином и изучение его биодоступности. *Международный вестник ветеринарии*. 2020;3:58–64. [Zemlyanoy R.A., Erimbetov K.T., Fedorova A.V., Goncharova A.Ya., Bondarenko E.V. Razrabotka aktivnogo klatrata 3-(2-feniletil)-2-tiokso-1,3-thiazolidin-4-ona s β -tsiklodekstrinom i izuchenie ego biodostupnosti] [Development of an active clathrate of 3-(2-phenylethyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one with β -cyclodextrin and study of its bioavailability]. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii* [International Bulletin of Veterinary Medicine]. 2020;3:58–64. (In Russian)]. DOI: 10.17238/issn2072-2419.2020.3.58
3. Beurel E., Grieco S.F., Jope R.S. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): Regulation, actions, and diseases. *Pharmacol. Ther.* 2015;148:114–131. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.016
4. He R., Du S., Lei T., Xie X., Wang Y. Glycogen synthase kinase β in tumorigenesis and oncoterapy (Review). *Oncol. Rep.* 2020;44(6):2373–2385. DOI: 10.3892/or.2020.7817
5. Hoffmeister L., Diekmann M., Brand K., Huber R. GSK3: A kinase balancing promotion and resolution of inflammation. *Cells*. 2020;9(4):820. DOI: 10.3390/cells9040820
6. Lin J., Song T., Li C., Mao W. GSK- β in DNA repair, apoptosis, and resistance of chemotherapy, radiotherapy of cancer. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* 2020;1867(5):118659. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2020.118659
7. Martinez A., Alonso M., Castro A., Dorronsoro I., Gelpi J.L., Luque F.J., Pérez C., Moreno F.J. SAR and 3D-QSAR Studies on thiadiazolidinone derivatives: Exploration of structural requirements for glycogen synthase kinase 3 inhibitors. *J. Med. Chem.* 2005;48(23):7103–7112. DOI: 10.1021/jm040895g
8. McCubrey J.A., Cocco L. GSK-3 signaling in health. *Adv. Biol. Regul.* 2017;65:1–4. DOI: 10.1016/j.jbior.2017.06.004
9. Patel P., Woodgett J.R. Glycogen synthase kinase 3: A kinase for all pathways? *Curr. Top. Dev. Biol.* 2017;123:277–302. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2016.11.011
10. Pecoraro C., Faggion B., Balboni B., Carbone D., Peters G.J., Diana P., Assaraf Y.G., Giovannetti E. GSK3 β as a novel promising target to overcome chemoresistance in pancreatic cancer. *Drug Resist. Updat.* 2021;58:100779. DOI: 10.1016/j.drug.2021.100779
11. Uehara M., Domoto T., Takenaka S., Takeuchi O., Shimasaki T., Miyashita T., Minamoto T. Glycogen synthase kinase β : The nexus of chemoresistance, invasive capacity, and cancer stemness in pancreatic cancer. *Cancer Drug Resist.* 2024;7:4. DOI: 10.20517/cdr.2023.84
12. Wei J., Wang J., Zhang J., Yang J., Wang G., Wang Y. Development of inhibitors targeting glycogen synthase kinase- β for human diseases: Strategies to improve selectivity. *Eur. J. Med. Chem.* 2022;236:114301. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114301

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Антипова Юлия Евгеньевна, ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: jul.antipova@icloud.com

Yulia E. Antipova, Northern State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: jul.antipova@icloud.com

Еримбетов Кенес Тагаевич*, д.б.н., ООО «Научно-исследовательский технологический центр «Превентивной информационной медицины»;
e-mail: erimbetovkt@mail.ru

Kenes T. Erimbetov*, Dr. Sci. (Biol.), Research Technological Center “Preventive Information Medicine”;
e-mail: erimbetovkt@mail.ru

Буюклинская Ольга Владимировна, д.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: olga.buyklinskaya@pharminnotech.com

Olga V. Buyuklinskaya, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: olga.buyklinskaya@pharminnotech.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author