

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА 2-(1,1-ДИМЕТИЛ-1Н-БЕНЗО[Е]ИНДОЛИН-2-ИЛ)-5,6,7-ТРИХЛОР-1,3-ТРОПОЛОНА НА ПОДКОЖНЫХ КСЕНОГРАФТАХ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ГЛИБЛАСТОМЫ U87

Кузнецова Н.С.¹, Головинов И.В.¹, Гончарова А.С.¹, Шульга А.А.¹, Росторгуев Э.Е.¹, Гусаков Е.А.², Пржедецкий Ю.В.¹, Димитриади С.Н.¹, Солдаткина Н.В.¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: ivgolovinov@yandex.ru;

²НИИ физической и органической химии ФГАОУ «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону

Глиобластома является наиболее распространенной и агрессивной первичной опухолью головного мозга у взрослых. Из-за плохого прогноза при существующих методах лечения поиск новых терапевтических средств имеет решающее значение для улучшения результатов лечения и качества жизни пациентов. Цель данного исследования – оценить противоопухолевый эффект 2-(1,1-диметил-1Н-бензо[е]индолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона на подкожных ксенографтах клеток глиобластомы U87 у иммунодефицитных мышей Balb/c Nude. Мышам вводили трополон в дозах 10, 20 и 30 мг/кг три раза в неделю в течение трех недель перорально. Динамику роста опухоли оценивали путем измерения объема опухоли три раза в неделю. Рассчитывали показатели торможения роста опухоли (ТРО%), в конце эксперимента проводили оценку массы тела и относительной массы органов. Средние объемы опухолей на 25-е сутки в опытных группах (10, 20 и 30 мг/кг) и контрольной группе составили $1761,65 \pm 326,94$ мм³, $1096,43 \pm 282,38$ мм³, $1241,77 \pm 248,04$ мм³ и $1356,04 \pm 206,54$ мм³ соответственно. Существенных различий в объеме опухоли между опытными и контрольной группами не наблюдалось. Масса тела и относительная масса органов не показали существенных изменений. Исследуемое производное трополона не проявляло значительных противоопухолевых эффектов в отношении ксенографтов глиобластомы U87 в тестируемых дозах. Необходимы дальнейшие исследования для оптимизации дозировки, улучшения биодоступности и методов доставки, а также изучение противоопухолевой эффективности при комбинированной терапии в отношении глиальных опухолей человека.

Ключевые слова: рак, иммунодефицитные мыши, Balb/c nude, трополон, противоопухолевая активность, торможение роста опухоли.

EVALUATION OF ANTITUMOR EFFECT OF 2-(1,1-DIMETHYL-1H-BENZO[E]INDOLIN-2-YL)-5,6,7-TRICHLORO-1,3-TROPOLONE ON SUBCUTANEOUS XENOGRAFTS CULTURE OF HUMAN U87 GLIOBLASTOMA CELLS

Kuznetsova N.S.¹, Golovinov I.V.¹, Goncharova A.S.¹, Shulga A.A.¹, Rostorguev E.E.¹, Gusakov E.A.², Przhedetskiy Yu.V.¹, Dimitriadi S.N.¹, Soldatkina N.V.¹

¹FSBI "National Medical Research Centre of Oncology", Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, e-mail: ivgolovinov@yandex.ru;

²Research Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University, Rostov-on-Don

Glioblastoma is the most common and aggressive primary brain tumor in adults. Due to the poor prognosis of current treatments, the search for new therapeutic agents is critical to improve patient outcomes and quality of life. The purpose of this study is to evaluate the antitumor effect of 2-(1,1-dimethyl-1H-benzo[e]indolin-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone on subcutaneous xenografts culture of human U87 glioblastoma cells in immunodeficient mice Balb/c Nude. Mice were administered tropolone at doses of 10, 20 and 30 mg/kg three times a week for three weeks. Tumor growth dynamics were assessed by measuring tumor volume every two days. Tumor growth inhibition (TGI) rates were calculated. At the end of the experiment assessment of body weight and relative organ weight were performed. The average volumes of tumors on the 25th day in the experimental groups (10, 20 and 30 mg/kg) and the control group were 1761.65 ± 326.94 mm³, 1096.43 ± 282.38 mm³, 1241.77 ± 248.04 mm³ and 1356.04 ± 206.54 mm³, respectively. There were no significant differences in tumor volume between the experimental and control groups. Body weight and relative organ weight showed no significant changes. The studied tropolone derivative did not exhibit significant antitumor effects in the U87 glioblastoma xenograft model at the tested doses. However, it demonstrated a favorable safety profile without significant hematological or biochemical toxicity. Further studies are needed to optimize dose, improve bioavailability and delivery methods, as well as study the antitumor efficacy of combination therapy against human glial tumors.

Keywords: cancer, immunodeficient mice, Balb/c nude, tropolone, antitumor activity, tumor growth inhibition.

Глиобластома – наиболее распространенная (50,1%) форма злокачественной опухоли головного мозга у взрослых, характеризующаяся быстрым ростом и высокоинвазивным характером. Несмотря на значительные успехи в хирургических, лучевых и химиотерапевтических методах лечения, прогноз для пациентов остается мрачным: медиана выживаемости составляет 15 месяцев, снижаясь до 4 месяцев у пожилых пациентов, а 5-летняя выживаемость составляет лишь 5,4% [1].

Стандартное послеоперационное лечение глиобластомы включает лучевую терапию, сопровождаемую алкилирующим химиотерапевтическим препаратом темозоломидом. Одной из основных причин неудачи химиотерапии глиобластомы является резистентность к темозоломиду. O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза играет ключевую роль в формировании устойчивости к темозоломиду, деметилируя основания, алкилированные в результате химиотерапии [2; 3].

Химиотерапия глиобластомы часто сопровождается системной токсичностью, включая гематологические осложнения (миелосупрессия), желудочно-кишечные расстройства (тошнота и мукозит), а также неврологические побочные эффекты (когнитивные нарушения, периферическая невропатия). Кроме того, могут возникнуть кардио-, нефро- и гепатотоксичность, что создает серьезные проблемы для пациентов. Химиотерапия остается неотъемлемой частью лечения глиобластомы, в связи с этим разработка стратегий для снижения токсичности и создание препаратов с улучшенной переносимостью имеют решающее значение для повышения эффективности лечения [4]. Таким образом, существует острая необходимость в разработке новых терапевтических средств, которые могли бы улучшить результаты лечения и качество жизни пациентов с глиобластомой.

Среди перспективных ингибиторов опухолевого роста выделяются алкалоиды трополонового ряда, такие как колхицин, хинокитиол (бета-туяплицин) и колхамин [5]. Эти алкалоиды обладают разнообразной биологической активностью, включая антипролиферативные свойства в отношении различных линий раковых клеток, включая злокачественные клетки рака желудка, эндометрия и остеосаркомы [5; 6].

Химическая структура трополона, характеризующегося семичленным ароматическим кольцом, содержащим гидроксильную группу, допускает различные модификации, способные повысить его биологическую активность и специфичность. Недавние исследования были сосредоточены на синтезе производных трополонового ряда с целью использования его потенциала в качестве терапевтического средства против различных видов рака [7; 8].

Среди этих синтетических производных трополонов некоторые соединения показали в доклинических исследованиях многообещающую способность индуцировать апоптоз, ингибировать пролиферацию клеток и влиять на опухолевый ангиогенез [9]. Однако

противоопухолевые эффекты этих производных на глиобластоме, особенно на моделях *in vivo*, остаются недостаточно изученными. С учетом этого факта исследования эффективности новых соединений трополонового ряда на биологических моделях *in vivo* имеют решающее значение для разработки эффективных методов лечения.

Цель настоящего исследования – оценить противоопухолевый эффект 2-(1,1-диметил-1H-бензо[е]индолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона в отношении подкожных ксенографтов культуры клеток глиобластомы U87 на иммунодефицитных мышах Balb/c Nude.

Материалы и методы исследования

Исследуемое соединение, 2-(1,1-диметил-1H-бензо[е]индолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополон (далее Ю-122(2)), было синтезировано в НИИ физической и органической химии Южного федерального университета методом реакции расширения о-хинонового цикла [10]. Вещество относится к новым соединениям в ряду 2-гетарил-1,3-трополонов и представляет собой порошок оранжевого цвета.

Исследуемый трополон оказался слаборастворимым в воде, поэтому его предварительно растворяли в 50 мкл диметилсульфоксида (ДМСО). В качестве носителя для Ю-122(2), растворенного в ДМСО, использовали 1%-ный крахмальный гель. Полученную суспензию готовили *ex tempore* и вводили каждому животному перорально с помощью зонда в объеме 0,2 мл с кратностью 3 раза в неделю в течение 3 недель. Введение веществ проводилось независимо от приема корма и воды.

Все экспериментальные процедуры были выполнены в соответствии с правилами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETSN 123, Страсбург, 18 марта 1986 г.), и одобрены биотической комиссией ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Для оценки противоопухолевой активности использовали 28 самок иммунодефицитных мышей линии Balb/c Nude со средней массой тела 25–26 г и возрастом 10–12 недель. Лабораторные животные были получены из внутреннего ядра разводки вивария ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Мыши содержались в индивидуально вентилируемых клетках (IVC) системы Tecniplast (Италия) со свободным доступом к воде и корму, при температуре 21–23 °С, относительной влажности воздуха 50–60% и с соблюдением светового режима день/ночь (12/12 часов). Мышей во всех исследуемых группах взвешивали в начале и в конце эксперимента.

Клеточную линию глиобластомы U87 культивировали в питательной среде DMEM с добавлением 10% телячьей сыворотки (Gibco, Thermo Fisher Scientific), а также 1% пенициллина и стрептомицина. Культивирование осуществляли в CO₂-инкубаторе (Thermo Fisher Scientific, 8000W) при влажной атмосфере – 37 °С, 5% CO₂.

Для создания подкожных опухолей животным формировали кожную складку на боку и вводили в нее 5×10^6 опухолевых клеток в 0,2 мл бессывороточной питательной среды DMEM и Matrigel (экстракт базальной мембраны, Corning) в соотношении 1:1.

После достижения опухолевыми узлами объема 100 мм^3 животные были распределены на 4 группы таким образом, чтобы средний объем подкожных ксенографтов не отличался между группами более чем на 10%. Схема распределения животных по группам и соответствующие дозы трополона представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение мышей по группам в эксперименте

Наименование группы	Количество животных	Вводимое вещество	Доза вещества, мг/кг
Опытная 1	7	Трополон	10
Опытная 2	7	Трополон	20
Опытная 3	7	Трополон	30
Контрольная	7	Крахмальный гель	1%

Динамику роста подкожных ксенографтов оценивали путем измерения объема опухолевых узлов 3 раза в неделю, начиная со дня введения вещества. Объем опухолевых узлов рассчитывали по формуле:

$$V = LW^2,$$

где V – объем опухоли, L и W – линейные размеры опухоли (мм).

Для оценки противоопухолевого эффекта трополона использовали показатели торможения роста опухоли (ТРО%) [11]:

$$TPO (\%) = (V_k - V_o) / V_k \times 100,$$

где V_k и V_o – средний объем опухоли (мм^3) в контрольной и опытных группах соответственно.

Эксперимент длился 25 дней, начиная с первого введения вещества. Процедуру эвтаназии проводили путем декапитации, после чего производили забор крови и извлечение опухолевого материала, легких, печени, почек, селезенки и сердца. Органы и опухоли взвешивали для расчета относительной массы каждого органа по формуле:

$$m_{\text{орг}} (\%) = (m_o (г) / m_m (г)) \times 100,$$

где m_o – масса органа (г), m_m – масса тела животного (г).

Полученный опухолевый материал фиксировали в 10%-ном формалине 24 ч, затем заключали в парафин, при помощи роторного микротомы делали срезы, которые в дальнейшем подвергали депарафинизации по стандартному протоколу. Для гистологического

исследования выполняли окрашивание гематоксилином и эозином. ИГХ-окрашивание проводили в автоматическом режиме в иммуногистостейнере BenchMark ULTRA Ventana согласно протоколам фирм-производителей, прилагаемым к используемым антителам. Использовали антитела Ki-67 (клон SP6), CellMarque в разведении 1:200. Для анализа экспрессии Ki-67 опухолевыми клетками вычисляли долю клеток с окрашенными ядрами (процент от общего количества опухолевых клеток) не менее чем в 10 рандомных полях зрения.

Данные выражены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего, которые были рассчитаны с использованием Statistica 10. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро - Уилка. Для оценки различий между экспериментальными группами применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Показатель среднего объема опухоли на 25-е сутки эксперимента в опытных группах 1, 2 и 3 и в группе контроля составил $1761,65 \pm 326,94$; $1096,43 \pm 282,38$; $1241,77 \pm 248,04$; $1356,04 \pm 206,54$ мм³ соответственно. Динамика роста подкожных опухолей самок мышей Balb/c Nude во всех исследуемых группах представлена на рисунке 1.

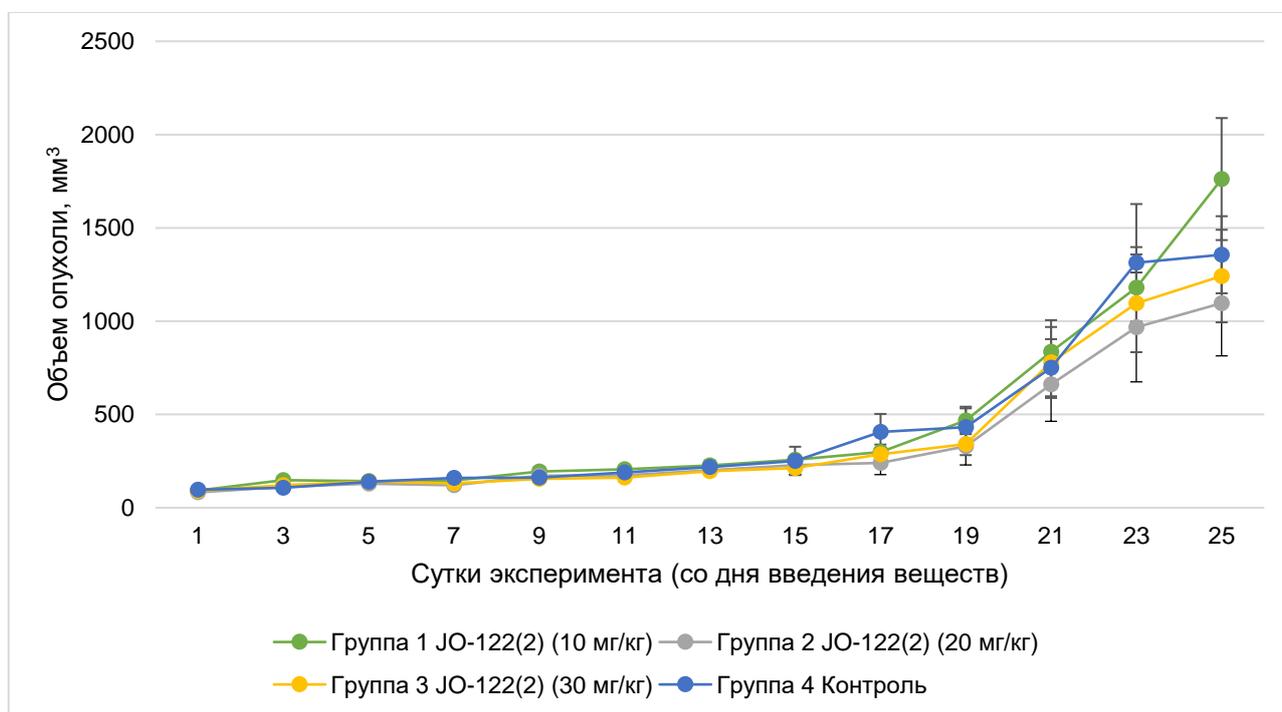


Рис. 1. Средние объемы опухолевых узлов у мышей Balb/c Nude в динамике

Установлено, что, несмотря на введение трополона в дозах 10, 20 и 30 мг/кг, существенных изменений объема опухоли в исследуемых группах по сравнению с контрольной группой не наблюдалось. Максимальные различия наблюдались между группами

2 и 4 на 23-и сутки после начала введения препаратов (объем опухоли группы 2 был меньше, чем объем опухоли группы 4, в 1,36 раза), однако различия не были статистически значимы.

В таблице 2 представлены показатели ТРО и относительной массы опухоли в зависимости от дозы исследуемого соединения.

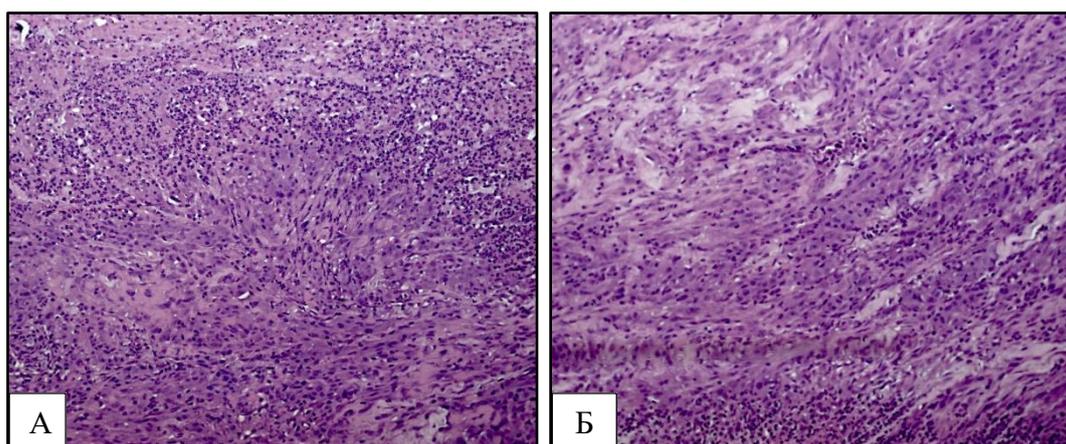
Таблица 2

Влияние различных доз исследуемого трополона на относительную массу опухоли и показатель торможения роста опухоли (ТРО) в исследуемых группах на 25-е сутки эксперимента

Группа	Относительная масса опухоли, %	ТРО, %
Группа 1 JO-122(2) (10 мг/кг)	10,75±2,15	-29,91
Группа 2 JO-122(2) (20 мг/кг)	8,42±1,82	19,14
Группа 3 JO-122(2) (30 мг/кг)	12,83±2,37	8,43
Группа 4 Контроль	11,34±1,21	-

Наибольшее торможение роста опухоли наблюдалось в группе, получавшей 20 мг/кг трополона, при этом значение ТРО составило 19,14%. Также было установлено, что применение исследуемого трополона в дозах 10, 20 и 30 мг/кг не вызывало достоверного снижения массы опухоли.

После выполнения измерений массы опухолевых узлов их подвергли дальнейшему гистологическому исследованию (рис. 2).



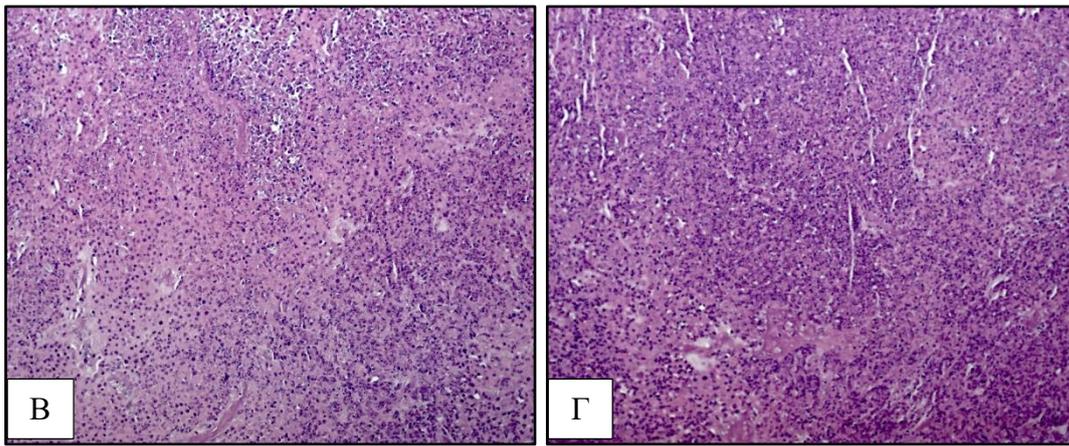


Рис. 2. Гистологический препарат подкожных ксенографтов клеточной линии глиобластомы U87. А – 1-я группа; Б – 2-я группа; В – 3-я группа; Г – 4-я группа.

Окрашивание гематоксилином и эозином. Увеличение ×200

В гистологических препаратах определялась злокачественная опухоль, имеющая строение глиобластомы. В полях зрения наблюдались немногочисленные мелкие очаги некроза.

Также было выполнено иммуногистохимическое исследование ксеногенных опухолей (рис. 3).

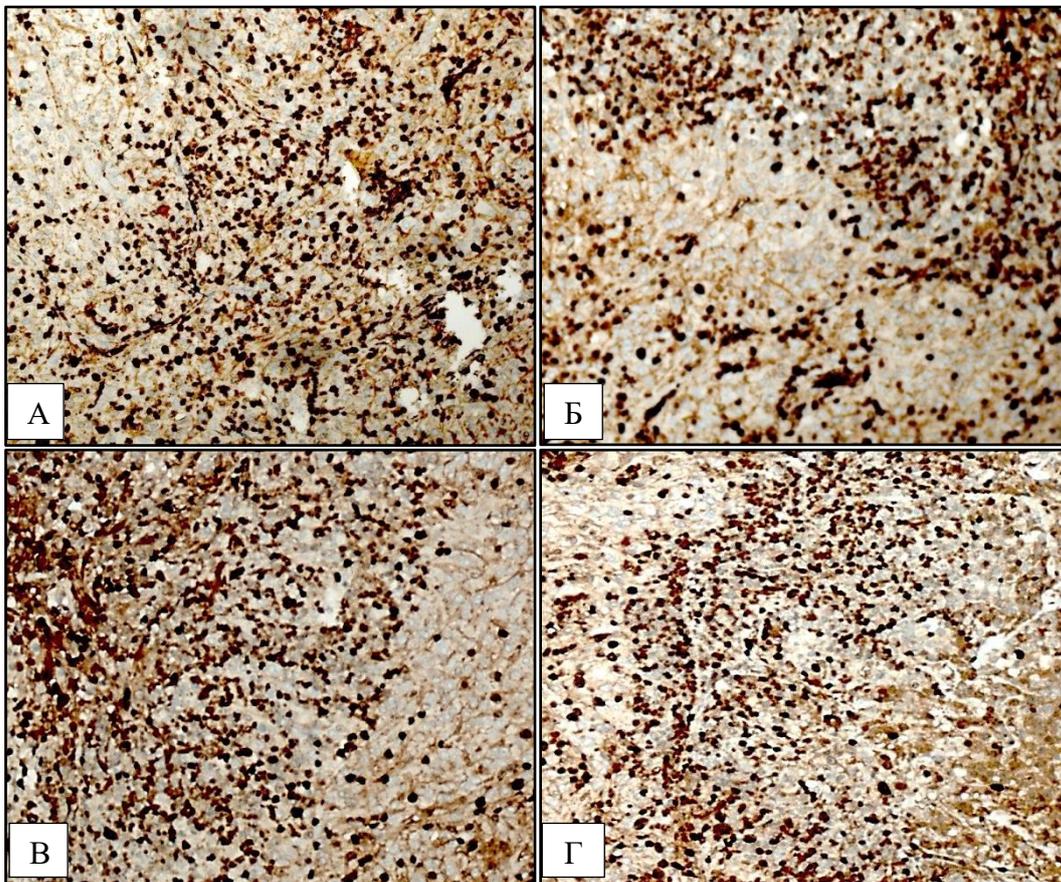


Рис. 3. ИГХ-реакция ткани ксенографтов на антитела к Ki-67. А – 1-я группа; Б – 2-я группа; В – 3-я группа; Г – 4-я группа. Увеличение $\times 200$

ИГХ-исследование экспрессии маркера пролиферации Ki-67 в тканях подкожных ксенографтов глиобластомы U87 показало, что количество иммунопозитивных клеток во всех образцах составляло $70\pm 10\%$. Значимых различий между исследуемыми группами по интенсивности и количеству окрашенных клеток в образцах не наблюдалось.

Массу тела мышей регистрировали в начале и в конце эксперимента, данные представлены в таблице 3.

Таблица 3

Среднее значение начальной и конечной массы тела мышей контрольной группы и мышей, получавших различные дозы исследуемого трополона

Группы	Начальная масса тела (г)	Конечная масса тела (г)	Изменение (г)
Группа 1 JO-122(2) (10 мг/кг)	$26,2\pm 0,9$	$26,0\pm 0,9$	$-0,17\pm 0,56$
Группа 2 JO-122(2) (20 мг/кг)	$26,0\pm 0,8$	$25,3\pm 0,7$	$-0,67\pm 0,31$
Группа 3 JO-122(2) (30 мг/кг)	$25,8\pm 1,1$	$25,3\pm 1,5$	$-0,50\pm 0,90$
Группа 4 Контроль	$24,8\pm 1,4$	$23,9\pm 0,9$	$-0,88\pm 0,55$

Никаких существенных изменений ($p > 0,05$) массы тела между группами лечения и контрольной группой на протяжении всего периода исследования не наблюдалось, что указывает на то, что производное трополона не влияло на общий рост и не вызывало значительной потери веса.

Также оценивали относительный вес органов (печень, почки, селезенка и сердце), данные представлены в таблице 4.

Таблица 4

Относительная масса органов мышей контрольной группы и мышей, получавших различные дозы исследуемого трополона

Относительная масса органа (%)	Группа 1 JO-122(2) (10 мг/кг)	Группа 2 JO-122(2) (20 мг/кг)	Группа 3 JO-122(2) (30 мг/кг)	Группа 4 Контроль
Сердце	$0,71\pm 0,01$	$0,78\pm 0,01$	0,74	$0,84\pm 0,01$
Почки	$1,83\pm 0,02$	$1,85\pm 0,02$	$1,90\pm 0,03$	$1,97\pm 0,03$
Печень	$7,10\pm 0,12$	$7,32\pm 0,09$	$7,07\pm 0,11$	$7,81\pm 0,05$
Легкие	$1,31\pm 0,04$	$1,30\pm 0,03$	$1,41\pm 0,03$	$1,50\pm 0,02$

Селезенка	2,03±0,10	2,25±0,09	2,27±0,06	2,68±0,05
-----------	-----------	-----------	-----------	-----------

Было отмечено, что относительная масса селезенки в группах животных, принимающих 10, 20 и 30 мг/кг была меньше на 0,65, 0,43, и 0,41, чем масса селезенки животных в контрольной группе, однако различия не были статистически значимы. Относительный вес других органов также не показал существенных изменений по сравнению с контрольной группой, что указывает на отсутствие существенной органоспецифической токсичности.

Целью нашего исследования была оценка противоопухолевой активности 2-(1,1-диметил-1Н-бензо[е]индолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополон на подкожных ксенографтных клетках глиобластомы U87 у иммунодефицитных мышей линии Balb/c Nude. Несмотря на введение трополона в различных дозах, результаты не показали значимого противоопухолевого эффекта, о чем свидетельствует отсутствие существенных изменений объема опухоли, индекса роста опухоли и торможения роста опухоли в экспериментальных группах по сравнению с контролем.

В ходе исследования также контролировали массу тела и относительную массу органов мышей, чтобы обнаружить любые признаки системной токсичности или побочных эффектов. Никаких существенных изменений массы тела между экспериментальной и контрольной группами не наблюдалось, что указывает на то, что производное трополона не оказывает негативного влияния на общий рост и не вызывает значительной потери веса. Относительный вес сердца, печени, почек, легких и селезенки не выявил значительных изменений, что также указывает на отсутствие органоспецифической токсичности.

Результаты этого исследования подчеркивают проблемы разработки эффективных методов лечения глиобластомы. Глиобластома, как известно, устойчива к традиционным методам лечения, и разработка новых терапевтических средств остается важной областью исследований. Так, в работе Sengung с соавторами сообщают, что на куриных эмбриональных моделях с ксенотрансплантированными опухолями U87 на хориоаллантоисной мембране (СAM) не наблюдалось существенной разницы в весе опухоли между контролем и лечением акситинибом, транс-халконом и пиперином [12]. А Adilijiang с соавторами сообщает, что ни темозоломид, ни монотерапия бевацизумабом, ни их комбинация не подавляли рост опухоли IDH1-wildtype на модели ксенографта культуры клеток U87 [13].

Хотя производные трополона показали многообещающую эффективность в доклинических исследованиях с участием других типов раковых клеток, их эффективность против глиобластомы *in vivo* остается неопределенной [14]. Отсутствие значительных противоопухолевых эффектов, наблюдаемых в этом исследовании, позволяет предположить,

что необходима дальнейшая оптимизация соединения, включая модификации для повышения его биодоступности и эффективности, а также исследование его активности в комбинации с другими препаратами. Так, в исследовании Wu с соавторами подчеркивается, что лечение ингибитором PI3K бупарлисибом (BKM) или селективным ингибитором киназы WEE1 (MK1775) не оказывает существенного эффекта на ингибирование роста опухоли на подкожных ксенографтах культуры клеток GSC23, однако комбинированное лечение значительно подавляет рост опухоли [15].

При интерпретации результатов этого исследования следует учитывать несколько ограничений. Во-первых, дозы производного трополона могли быть неоптимальными для достижения значительного противоопухолевого эффекта. Во-вторых, вероятно, эффективность может быть более выраженной при использовании других способов введения тестируемого вещества, для чего необходимы работы по улучшению его растворимости в нетоксичных растворителях. Будущие исследования должны изучить более широкий диапазон доз и рассмотреть альтернативные пути введения для улучшения доставки лекарств к месту опухоли. Кроме того, сочетание трополона с другими терапевтическими агентами может повысить его эффективность за счет синергетического эффекта.

Заключение

Таким образом, введение 2-(1,1-диметил-1H-бензо[e]индолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона в изученных дозах не приводило к статистически значимому противоопухолевому эффекту на модели подкожного ксенографта глиобластомы U87. Соединение не вызывало значительных изменений массы тела или органоспецифической токсичности. Полученные данные свидетельствуют о том, что необходимы дальнейшие исследования для оптимизации его противоопухолевой эффективности. Будущие исследования должны быть сосредоточены на оптимизации доз, разработке альтернативных методов доставки и комбинированной терапии для улучшения терапевтического потенциала производных трополона для лечения глиобластомы.

Список литературы

1. Tan A.C., Ashley D.M., López G.Y., Malinzak M., Friedman HS, Khasraw M. Management of glioblastoma: State of the art and future directions // *CA Cancer J. Clin.* 2020. № 70 (4). P. 299-312. DOI: 10.3322/caac.21613.
2. Улитин А.Ю., Мацко М.В., Кобяков Г.Л., Проценко С.А., Желудкова О.Г., Рыжова М.В. и соавт. Практические рекомендации по лекарственному лечению первичных опухолей

центральной нервной системы. Практические рекомендации RUSSCO, часть 1 // Злокачественные опухоли. 2023. Т. 13. № 3s2. С. 120-147.

3. Росторгуев Э.Е., Кит О.И., Гончарова А.С., Непомнящая Е.М., Волкова А.В., Заикина Е.В., Ходакова Д.В. Изучение противоопухолевой эффективности комбинации бортезомиба и темозоломида на подкожных рdx-моделях глиобластомы человека // Современные проблемы науки и образования. 2020. № 5. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30191> (дата обращения: 28.07.2024).

4. Nguyen S.M., Pham A.T., Nguyen L.M., Cai H., Tran T.V., Shu X.O., Tran HTT. Chemotherapy-Induced Toxicities and Their Associations with Clinical and Non-Clinical Factors among Breast Cancer Patients in Vietnam // *Curr Oncol*. 2022. № 29 (11). P. 8269-8284. DOI: 10.3390/currenocol29110653.

5. Zhang T., Chen W., Jiang X., Liu L., Wei K., Du H., Wang H., Li J. Anticancer effects and underlying mechanism of Colchicine on human gastric cancer cell lines in vitro and in vivo // *Biosci Rep*. 2019. № 39 (1). BSR20181802. DOI: 10.1042/BSR20181802.

6. Haney S.L., Feng D., Kollala S.S., Chhonker Y.S., Varney M.L., Williams J.T., Ford J.B., Murry D.J., Holstein S.A. Investigation of the activity of a novel tropolone in osteosarcoma // *Drug Dev Res*. 2024. № 85 (1). P. e22129. DOI: 10.1002/ddr.22129.

7. Gusakov E.A., Topchu I.A., Mazitova A.M., Dorogan I.V., Bulatov E.R., Serebriiskii I.G., Abramova Z.I., Tupaeva I.O., Demidov O.P., Toan D.N., Lam T.D., Bang D.N., Bumber Y.A., Sayapin Y.A., Minkin V.I. Design, synthesis and biological evaluation of 2-quinolyl-1,3-tropolone derivatives as new anti-cancer agents // *RSC advances*. 2021. № 11 (8). P. 4555–4571. DOI: 10.1039/d0ra10610k.

8. Комарова Е.Ф., Лукбанова Е.А., Дженкова Е.А., Гончарова А.С., Заикина Е.В., Гурова С.В., Галина А.В., Курбанова Л.К., Миндарь М.В., Ходакова Д.В., Гусарева М.С., Зинькович М.С. Иммуногистохимическая оценка возможных механизмов противоопухолевого действия 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона на PDX-моделях рака легкого // *Южно-Российский онкологический журнал*. 2023. № 4 (1). С. 6-13. DOI: 10.37748/2686-9039-2023-4-1-1.

9. Haney S.L., Allen C., Varney M.L., et al. Novel tropolones induce the unfolded protein response pathway and apoptosis in multiple myeloma cells // *Oncotarget*. 2017. № 8 (44). P. 76085-76098. DOI: 10.18632/oncotarget.18543.

10. Минкин В.И., Кит О.И., Саяпин Ю.А., Максимов А.Ю., Гончарова А.С., Гусаков Е.А., Тупаева И.О., Красникова Т.А., Кузнецова Н.С., Филиппова С.Ю., Чембарова Т.В. 2-(1,1-Диметил-1Н-бензо[е]индолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополон, обладающий цитотоксической активностью по отношению к культуре клеток рака кожи A431 и рака

- легкого Н1299 // Патент РФ № 2810581. Патентообладатель ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. 2023. Бюл. № 36.
11. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К., Андропова Н.В., Гарин А.М. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд. М.: Медицина, 2005. С. 637–651.
 12. Senrung A., Tripathi T., Yadav J., Janjua D., Chaudhary A., Chhokar A., Aggarwal N., Joshi U., Goswami N., Bharti A.C. In vivo antiangiogenic effect of nimbolide, trans-chalcone and piperine for use against glioblastoma // BMC Cancer. 2023. № 23 (1). P. 1173. DOI: 10.1186/s12885-023-11625-4.
 13. Adilijiang A., Hirano M., Okuno Y., Aoki K., Ohka F., et al. Next Generation Sequencing-Based Transcriptome Predicts Bevacizumab Efficacy in Combination with Temozolomide in Glioblastoma // Molecules. 2019. № 24 (17). P. 3046. DOI: 10.3390/molecules24173046.
 14. Gusakov E.A., Sayapin Y.A., Vetrova E.V., Lukbanova E.A. et al. Synthesis, molecular structure and biological activity of novel bis-1, 3-tropolones based on 4-chloro-2, 7-dimethyl-1, 8-naphthyridine // Mendeleev Communications. 2024. V. 34. № 3. P. 357-361.
 15. Wu S., Wang S., Gao F., Li L., Zheng S., Yung W.K.A., Koul D. Activation of WEE1 confers resistance to PI3K inhibition in glioblastoma // Neuro Oncol. 2018. № 20 (1). P. 78-91. DOI: 10.1093/neuonc/nox128.