



© Коллектив авторов, 2023
УДК 616-006-08 : 577.112.3 : 661.847
DOI: 10.24884/1607-4181-2023-30-3-22-35

С. А. Калинин¹, Т. В. Шаронова^{1,3}, А. М. Малкова^{1,2}, С. В. Агеев^{1,2}, К. Н. Семёнов^{1,2},
В. В. Шаройко^{1,2,4*}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт онкологии имени Н. Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тольяттинский государственный университет», г. Тольятти, Россия

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ IX И XII ИЗОФОРМ КАРБОАНГИДРАЗЫ В ОНКОЛОГИИ

Поступила в редакцию 28.10.2023 г.; принята к печати 06.12.2023 г.

Резюме

Изоформы IX и XII карбоангидразы человека играют ключевую роль в поддержании кислотно-основного равновесия в солидных опухолях, формируя благоприятное микроокружение для роста, инвазии и метастазирования опухолевых клеток. В последние несколько лет рядом научных групп опубликованы результаты о том, что ингибирование изоформ IX и XII значительно повышает эффективность классической химиотерапии, позволяет подавлять резистентность опухолевых клеток к химиотерапии и повысить их чувствительность к применяемым препаратам (в том числе снижение дозы цитостатиков). В обзоре нами проведен анализ научной литературы о роли изоформ IX и XII карбоангидразы в канцерогенезе и по комбинированному действию ингибиторов карбоангидраз с противоопухолевыми препаратами.

Ключевые слова: ингибиторы карбоангидраз, сульфонамиды, онкологические заболевания

Для цитирования: Калинин С. А., Шаронова Т. В., Малкова А. М., Агеев С. В., Семёнов К. Н., Шаройко В. В. Перспективы применения ингибиторов IX и XII изоформ карбоангидразы в онкологии. *Ученые записки ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2023; 30(3):22–35. DOI: 10.24884/1607-4181-2023-30-3-22-35.

* Автор для связи: Владимир Владимирович Шаройко, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8. E-mail: sharoyko@gmail.com.

Stanislav A. Kalinin¹, Tatiana V. Sharonova^{1,3}, Anna M. Malkova^{1,2}, Sergei V. Ageev^{1,2},
Konstantin N. Semenov^{1,2}, Vladimir V. Sharoyko^{1,2,4*}

¹ St Petersburg University, Saint Petersburg, Russia

² Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

³ Petrov National Medical Research Center for Oncology, Saint Petersburg, Russia

⁴ Tolyatti State University, Center for Medicinal Chemistry, Tolyatti, Russia

PROSPECTS FOR THE APPLICATION OF INHIBITORS OF CARBONIC ANHYDRASE ISOFORMS IX AND XII IN ONCOLOGY

Received 28.10.2023; accepted 06.12.2023

Summary

Human carbonic anhydrase isoforms IX and XII play a key role in maintaining acid-base balance in solid tumors, creating a favorable microenvironment for the growth, invasion and metastasis of tumor cells. In the last few years, a number of scientific groups have published results that inhibition of isoforms IX and XII significantly increases the effectiveness of classical chemotherapy, makes it possible to suppress the resistance of tumor cells to chemotherapy and increase their sensitivity to the used drugs (including reducing the dose of cytostatics). In the review, we analyzed the scientific literature on the role of carbonic anhydrase isoforms IX and XII in carcinogenesis and on the combined effect of carbonic anhydrase inhibitors with antitumor drugs.

Keywords: carbonic anhydrase inhibitors, sulfonamides, oncological diseases

For citation: Kalinin S. A., Sharonova T. V., Malkova A. M., Ageev S. V., Semenov K. N., Sharoyko V. V. Prospects for the application of inhibitors of carbonic anhydrase isoforms IX and XII in oncology. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2023;30(3):22–35. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2023-30-3-22-35.

* **Corresponding author:** Vladimir V. Sharoyko, Pavlov University, 6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia. E-mail: sharoyko@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Карбоангидразы человека (КАЧ) представляют собой семейство цинксодержащих металлоферментов, катализирующих обратимую реакцию гидратации диоксида углерода до бикарбонат-иона и иона водорода в живых организмах [1]. Данная реакция контролирует кислотно-основное равновесие как во внутриклеточном, так и внеклеточном пространстве и важна для протекания многих физиологических процессов. Известно 15 изоформ КАЧ, которые обладают высокой гомологией в строении активного центра, однако демонстрируют тканеспецифичность экспрессии, различаются по каталитической активности и субклеточной локализации [2]. Существуют цитоплазматические (I, II, III, VII, VIII, X, XI, XIII), митохондриальные (VA, VB), секретируемые (VI) и поверхностные трансмембранные (IV, IX, XII, XIV) изоформы КАЧ [3]. КАЧ играют важную роль в фундаментальных физиологических процессах, таких как регуляция гомеостаза и pH, электролитный баланс, глюконеогенез, липогенез, резорбция костной ткани и др. [4]. Известно, что аномальная активность или профили экспрессии КАЧ связаны с рядом заболеваний, таких как глаукома, отек, ожирение, невропатическая боль и онкологические заболевания. Таким образом, ряд изоформ КАЧ признаны как ключевые терапевтические мишени; также появляются новые

сообщения о роли КАЧ в различных патологических процессах [5].

Изоформы IX и XII КАЧ являются мембраносвязанными; их строение характеризуется наличием внеклеточного каталитического домена, короткого трансмембранного домена и короткого внутриклеточного домена. Однако существенным отличием в строении активного центра распространенных цитоплазматических изоформ КАЧ (например, КАЧ II) от трансмембранных КАЧ IX и XII является наличие у последних 4 разных неконсервативных аминокислот в положении 67, 91, 131 и 135 [6]. Кроме того, дополнительный протеогликаноподобный домен (PG-подобный домен), присутствующий только у изоформы IX КАЧ на N-конце, выполняет важные функции, связанные с инвазией и прогрессией опухоли (рис. 1) [7, 8].

Следует отметить, что мембранные изоформы IX и XII КАЧ экспрессируются в опухолевых клетках и практически не экспрессируются в нормальных (исключение составляют клетки эпителия желудка и желчного пузыря), поэтому они могут относиться к опухоли-ассоциированным ферментам. Повышенная экспрессия изоформ IX и XII КАЧ в опухолях объясняется тем, что эти ферменты функционально активны в областях, характеризующихся гипоксией и ацидозом, где они оказывают значительное влияние на регуляцию внутриклеточного pH (pH_i) и внеклеточного pH (pH_e) [10].

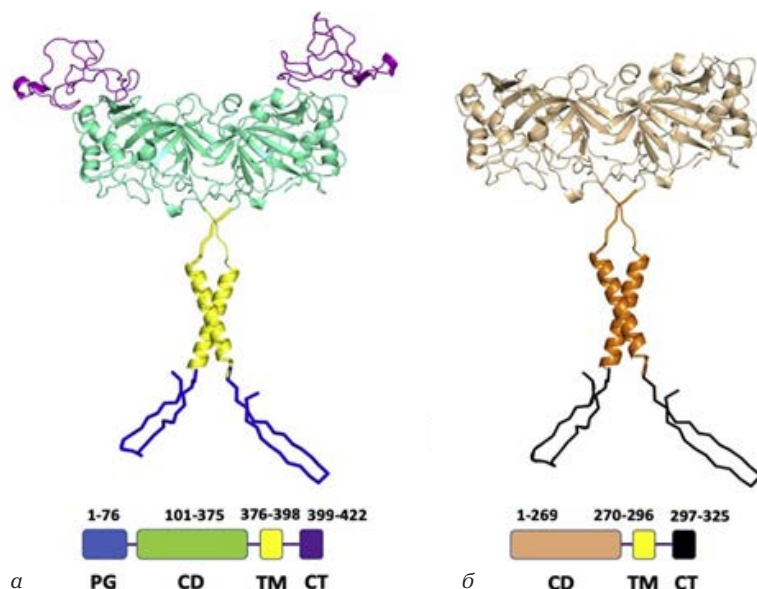


Рис. 1. Структура изоформ IX КАЧ (а) и XII КАЧ (б): CD – каталитический домен; CT – С-концевой домен; PG – протеогликаноподобный домен; TM – трансмембранный домен [9]

Fig. 1. Structure of HCA isoforms IX (a) and XII (б): CD – catalytic domain; CT – C-terminal domain; PG – proteoglycan-like domain; TM – transmembrane domain [9]

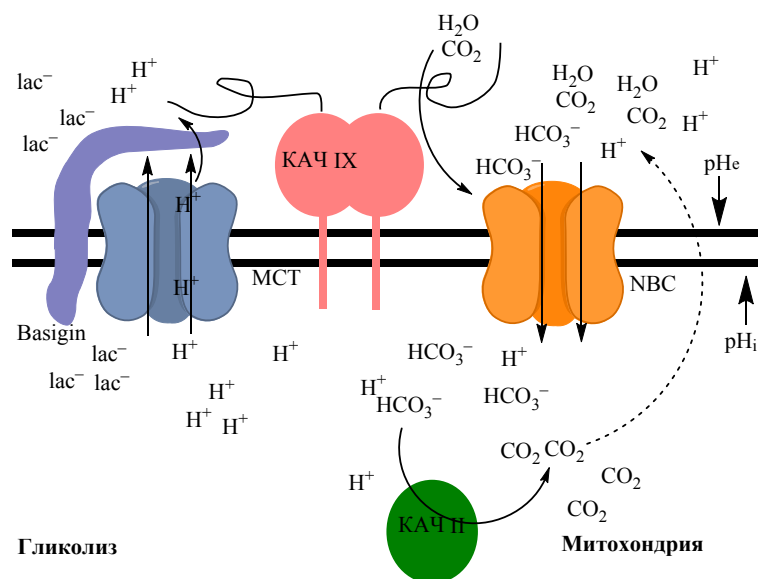


Рис. 2. Роль изоформы IX КАЧ в регуляции pH в условиях гипоксии [13]: МСТ — монокарбоксилатный транспортер; NBC — котранспортер бикарбонат ионов; lac⁻ — лактат-ион; basigin — внеклеточная матриксная металлопротеиназа

Fig. 2. The role of HCA isoform IX in pH regulation under hypoxia [13]: MCT — monocarboxylate transporter; NBC — bicarbonate ion cotransporter; lac⁻ — lactate ion; basigin — extracellular matrix metalloproteinase

МЕТОДИКА ПОИСКА ЛИТЕРАТУРЫ

Поиск оригинальных статей осуществлялся по ключевым словам: синтез, ингибиторы карбоангидраз, сульфонамиды, онкологические заболевания, комбинированная терапия. Таким образом были отобраны и изучены оригинальные исследования, опубликованные на электронных ресурсах PubMed, Elsevier с 2001 по 2023 г., с применением химических баз данных ZINC, SciFinder, Reaxys и PubChem.

СВЯЗЬ ИЗОФОРМ IX И XII КАЧ С ГИПОКСИЕЙ И АЦИДОЗОМ

Основной особенностью солидных опухолей является их гетерогенность, благодаря которой онкологические заболевания трудно поддаются лечению. Условия микроокружения опухоли являются ключевыми факторами гетерогенности. Наличие гипоксических зон и/или областей ацидоза, а также недостаточная васкуляризация опухоли приводят к изменению метаболизма в пользу гликолиза [11]. Измененный метаболизм опухолевых клеток, формируемый гликолизом, генерирует избыток кислых конечных продуктов метаболизма. Поэтому в условиях гипоксии и ацидоза опухолевые клетки адаптируются для выживания, активируя фактор, индуцируемый гипоксией (HIF) [12].

В условиях гипоксии HIF (1α и 2α) действуют через α-субъединицы, которые стабилизируются и активируются. После димеризации с β-субъединицей факторы транскрипции HIF связываются с другими коактиваторами транскрипции и активируют или индуцируют их транс-

крипцию, что приводит к экспрессии различных белков, участвующих в ангиогенезе, анаэробном гликолизе, миграции клеток и регуляции pH. Такой сигнальный путь усиливает экспрессию изоформы IX КАЧ. Далее изоформа IX КАЧ принимает участие в нейтрализации избытка кислых конечных продуктов гликолитического метаболизма в цитозольном пространстве для предотвращения формирования внутриклеточного ацидоза. Изоформа IX КАЧ согласованно действует с котранспортерами бикарбоната натрия (NBC), а также монокарбоксилатными транспортерами (МСТ) для выведения кислых продуктов из внутриклеточного пространства с целью обеспечения выживания опухолевых клеток. Изоформа IX КАЧ и бикарбонатный котранспортер функционируют в виде комплекса и осуществляют преобразование внеклеточного CO₂ в протоны и HCO₃⁻ (рис. 2).

HCO₃⁻ захватываются соседними NBC и транспортируются через плазматическую мембрану в цитоплазму. Внутри клетки ионы HCO₃⁻ вступают в реакцию с внутриклеточными протонами, образующимися в результате различных метаболических процессов. Эта реакция (возможно, катализируемая цитоплазматической изоформой II КАЧ) приводит к генерации CO₂, который покидает клетку путем диффузии. Нейтрализация внутриклеточных протонов импортируемыми ионами HCO₃⁻ способствует повышению pH_i до значений, благоприятных для метаболических процессов, реализации сигнальных путей и пролиферации клеток (pH_i 7,2). С другой стороны, внеклеточные протоны, образующиеся в результате той же реакции, катализируемой изоформой IX КАЧ,

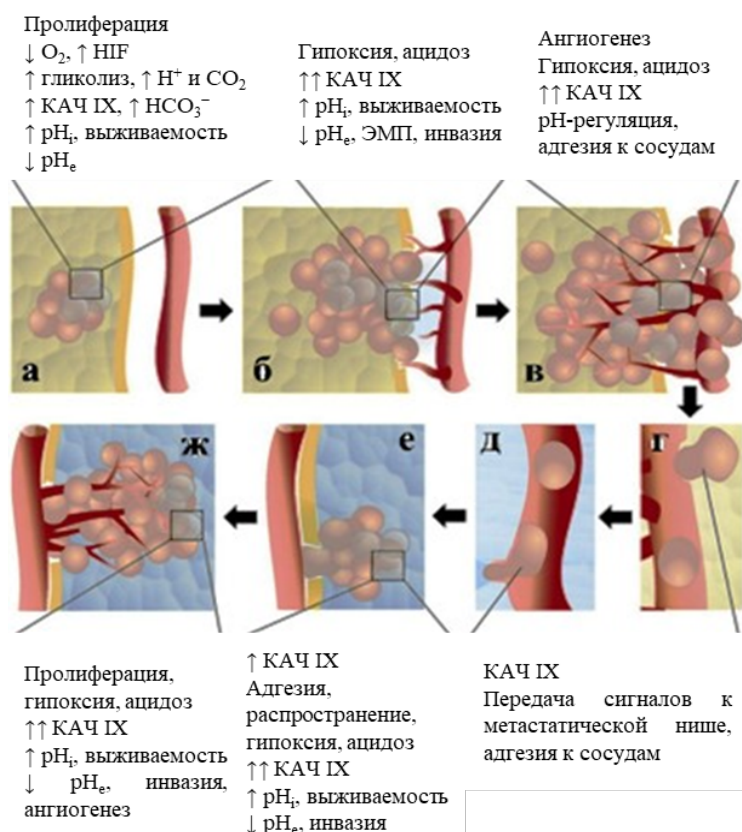


Рис. 3. Участие изоформа IX КАЧ в канцерогенезе [13]

Fig. 3. Participation of HCA isoform IX in carcinogenesis [13]

остаются вне клетки и способствуют закислению внеклеточной среды (рН_e 6,8) [14]. Хотя каталитическая активность КАЧ IX является ключевой для этих процессов, PG-подобный домен также может действовать посредством некаталитического механизма, в котором он служит некой антенной, усиливающей экспорт протонов, связанных с облегченным экспортом лактат-ионов через монокарбоксилатные транспортеры, которые работают по градиенту концентрации (рис. 2) [13]. Соответственно, каталитическая активность изоформы IX КАЧ вызывает ацидоз, который возникает в микроокружении опухоли, поскольку кислые продукты метаболизма не могут эффективно выводиться слаборазвитой сосудистой сетью опухоли [15]. Опухолевые клетки с активированным механизмом регулирования рН могут противостоять токсическому воздействию внеклеточного ацидоза, вызванного онкогенным метаболизмом, а также формировать более агрессивные фенотипы. Следовательно, опухолевые клетки обладают преимуществом против окружающих нормальных клеток, которые не могут адаптироваться к ацидозу [16]. Также низкий рН микроокружения опухоли подавляет экспрессию Е-кадгерина и/или вызывает его деградацию, способствуя пролиферации опухолевых клеток [17]. Более того, в результате ацидоза, вызванного каталитической активностью изоформой IX КАЧ, межклеточные контакты становятся слабее, что способствует

высвобождению кластеров опухолевых клеток в кровотоки из первичной опухолевой массы. В кровеносной системе кластеры клеток выживают в неадгезивных условиях, а затем метастазируют в другие ткани и органы [17]. Поэтому возникающий ацидоз является важнейшей характеристикой микроокружения опухоли, который вносит значительный вклад в формирование различных негативных эффектов: (а) уменьшение действия лекарственных препаратов на опухолевые клетки из-за протонирования препаратов; (б) формирование агрессивных фенотипов и устойчивости опухолевых клеток к химио- и радиотерапии; (в) усиление инвазии и метастатических процессов за счет нарушения клеточной адгезии посредством Е-кадгерина; (г) активация ангиогенеза посредством синтеза фактора роста эндотелия сосудов VEGF в результате экспрессии генов, опосредованной фактором транскрипции HIF.

В этом контексте были определены многочисленные роли изоформы IX КАЧ на различных этапах развития неоплазий (рис. 3) [13]. Экспрессия изоформы IX КАЧ индуцируется локальной гипоксией и через регуляцию рН участвует в адаптации к метаболизму, генерирующему избыток кислых продуктов метаболизма. Это обеспечивает выживание и пролиферацию опухолевых клеток (рис. 3, а). В растущей опухоли изоформа IX КАЧ дополнительно защищает опухолевые клетки от гипоксии и внутриклеточного закисления. Более

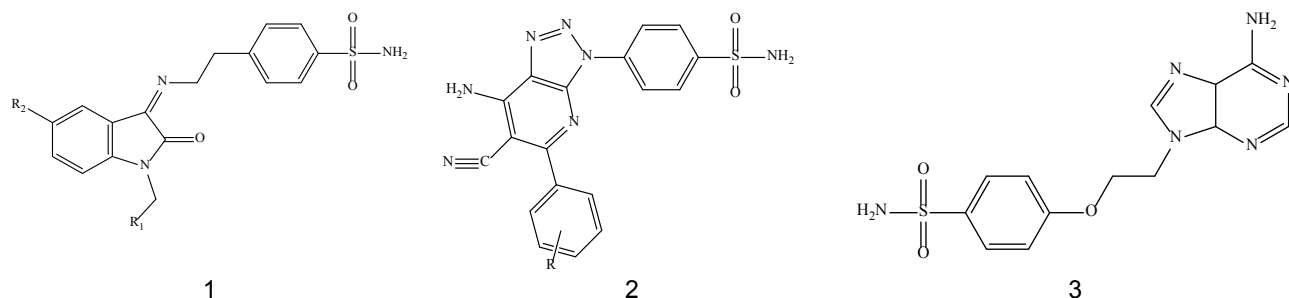


Рис. 4. Структуры бензолсульфонамид-содержащих ингибиторов 1, 2, 3
Fig. 4. Structures of benzenesulfonamide-containing inhibitors 1, 2, 3

того, усиливая внеклеточный ацидоз, изоформа IX КАЧ активирует протеазы, способные расщеплять белки внеклеточного матрикса, а также способствует ангиогенезу, эпителиально-мезенхимальному переходу и инвазии (рис. 3, б, в). Изоформа IX КАЧ опосредует адгезию опухолевых клеток к сосудам и с помощью внеклеточного ацидоза обеспечивает миграцию в просвет между нормальными клетками. Далее изоформа IX КАЧ способствует метастазированию кластеров опухолевых клеток (рис. 3, г, г). Также изоформа IX КАЧ способствует нарушению клеточной адгезии и распространению опухолевых клеток, а начальное метастазирование происходит за счет регуляции pH, которую опосредует КАЧ IX (рис. 3, е). Прогрессирование метастазов протекает в условиях, схожих с теми, что характерны для первичной опухоли, где изоформа IX КАЧ защищает клетки от гипоксии и ацидоза (рис. 3, ж) [13].

Роль изоформы XII КАЧ в онкогенезе менее изучена, однако этот фермент так же, как и изоформа IX КАЧ, рассматривается как мишень для агентов противоопухолевой терапии. Повышенная экспрессия изоформы XII КАЧ при различных типах рака объясняется тем же механизмом, что и экспрессия изоформы IX КАЧ: вследствие плохой васкуляризации происходит смена метаболического пути на гликолитический. Дальнейший каскад реакций также приводит к изменению pH микроокружения, вызывая ацидоз, тем самым способствуя инвазии и миграции опухолевых клеток [18]. Ввиду того, что изоформы IX КАЧ принимают участие практически на всех стадиях онкогенеза, эти изоформы считаются достаточно валидированными мишенями для терапии некоторых видов опухолей, а разработка новых ингибиторов изоформ IX и XII КАЧ представляется актуальной задачей.

ИНГИБИТОРЫ ИЗОФОРМ IX И XII КАЧ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТИВО-ОПУХОЛЕВЫЕ АГЕНТЫ

По причине специфической повышенной экспрессии изоформ IX и XII КАЧ в солидных опухолях эти ферменты уже на протяжении 40 лет рассматриваются как мишени действия терапевтических агентов при лечении неоплазий. За по-

следнее десятилетие был достигнут значительный прогресс в разработке противоопухолевых средств на основе направленных ингибиторов изоформ IX и/или XII КАЧ [19]. К настоящему времени проведено большое количество исследований и открыто много новых ингибиторов изоформ IX и XII КАЧ. Самым распространенным хемотипом среди ингибиторов КАЧ являются первичные сульфонамиды. Получен широкий спектр ингибиторов изоформ IX и XII КАЧ с бензолсульфонамидным фрагментом. Например, в 2018 г. N. M. Eldehna et al. описали серию бензолсульфонамидов, связанных с привилегированным изатинным скаффолдом 1 (рис. 4) [20].

Так, соединение 1 ($R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{Br}$) обладало высокой селективностью к целевым изоформам IX и XII КАЧ ($K_i = 9,9$ и $7,1$ нМ соответственно), а антипролиферативная активность в отношении клеточной линии MCF-7 (эпителиоподобная клеточная линия, полученная из инвазивной аденокарциномы протоков молочной железы человека) оказалась достаточно выраженной ($IC_{50} = 56,1$ мкМ) [20].

Другое семейство ингибиторов изоформ IX и XII КАЧ на основе бензолсульфонамида содержит [1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридиновый фрагмент (структура 2, рис. 4). Значения K_i (КАЧ IX) для соединений с общей структурой 2 находятся в наномолярном диапазоне. Выбранные на основе ингибиторного профиля [1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридиновые бензолсульфонамиды 2 показали антипролиферативную активность *in vitro* на панели из 57 линий опухолевых клеток человека [21].

В серии бензолсульфонамидов, включающих азотистые основания, также были обнаружены эффективные ингибиторы изоформ IX и XII КАЧ. Например, опубликованы соединения с пуриновыми/пиримидиновыми остатками (такие как 3), некоторые из которых демонстрируют преимущественное ингибирование изоформы IX КАЧ ($K_i = 29,9$ нМ). Исследование цитотоксической активности *in vitro* в отношении клеточной линии HT-29 (колоректальная карцинома человека) подтвердило наличие антипролиферативных свойств для нескольких производных, в том числе и для соединения 3 [22].

Другими интересными хемотипами ингибиторов КАЧ, отличными от сульфаниламидов и их

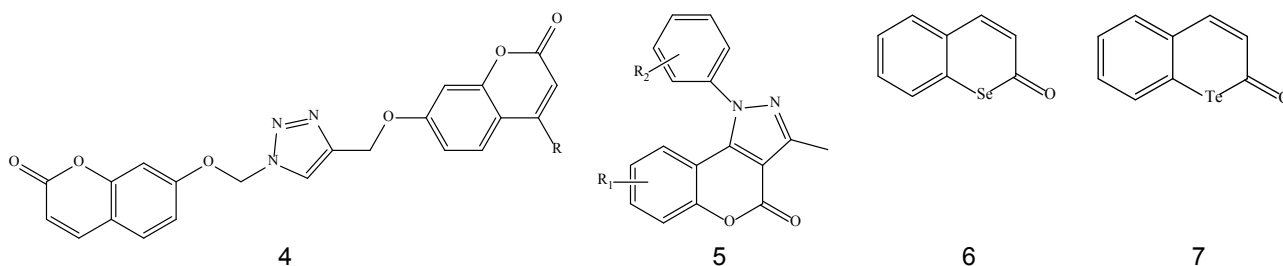


Рис. 5. Структуры кумариновых и гетерокумариновых ингибиторов КАЧ 4, 5, 6 и 7

Fig. 5. Structures of coumarin and heterocoumarin inhibitors of the HCA 4, 5, 6 and 7

биоизостеров, являются кумарины, тиокумарины, сульфокумарины, а также соединения, содержащие отличные от первичной сульфонамидной, цинк-связывающие группы, такие как карбоновые кислоты, селеназол и др. [23]. Помимо того, что кумарины обладают перспективными профилями ингибирования КАЧ, некоторые их производные также оказывают сильное воздействие на подавление роста первичной опухоли, образование метастазов и снижение числа опухолевых стволовых клеток. Так, например, В. Z. Kurt et al. (2019) представили серию наномолярных ингибиторов изоформ IX и XII КАЧ 4, содержащих 2 кумариновых фрагмента (рис. 5). Антипролиферативные свойства этих соединений в отношении клеточной линии MDA-MB-231 (аденокарцинома молочной железы человека) оцениваются как высокие (IC_{50} составляло от 1 до 13 мкМ) [24].

А. Bonardi et al. (2018) опубликовали новые структуры ингибиторов на основе хромено[4,3-с]пиразол-4-онов 5 (рис. 5). Большая часть соединений типа 5 оказалась потенциальными ингибиторами изоформ IX и XII КАЧ, но лишь некоторые производные продемонстрировали избирательное действие в отношении изоформы IX КАЧ. Исследования антипролиферативных свойства ингибиторов 5 (7 или 8 замещенных) (рис. 5) на клеточной линии HT-29 в гипоксических условиях показали, что только одно производное типа 5 ($R_1 = 8\text{-NHCOAg}$, $R_2 = H$) подавляет клеточный рост на 60 % при концентрации 100 мкМ [25].

В 2018 г. А. Angeli et al. описали новую серию различных халькогенкумаринов с K_i в наномолярном диапазоне в отношении опухолеспецифических изоформ IX и XII КАЧ. Молекулы 6 и 7 (рис. 5) были исследованы *in vitro* на антипролиферативную активность. Соединение 6 ($K_i = 26,3$ и $22,9$ нМ для изоформ IX и XII КАЧ соответственно) после 48 часов инкубации с клеточной линией MDA-MB-231 показало выраженный антипролиферативный эффект в гипоксических условиях (клеточная выживаемость составляла 45 % при концентрации ингибитора 30 мкМ). Интересно, что теллурукумарин 7 (рис. 5) обладал выраженным антипролиферативным профилем в гипоксических условиях по отношению к обоим опухолевым клеточным линиям, используемым в эксперименте: выживаемость

составила 40 % и 25 % при концентрации 100 мкМ для PC-3 (аденокарцинома простаты) и MDA-MB-231 соответственно [26].

Другим перспективным подходом к разработке потенциальных ингибиторов изоформ IX/XII КАЧ является использование вместо сульфаниламидов других структурных фрагментов, способных координировать ион цинка в каталитическом центре фермента, например, карбоновых кислот и их сложных эфиров. В 2017 г. R. Cadoni et al. (2017) [27] сообщили о синтезе ингибиторов на основе 3-(1*H*-индол-3-ил)-1*H*-пиразол-5- карбоновых кислот и их сложных эфиров.

Среди ряда соединений 8 (рис. 6) лишь один ингибитор ($R_1 = i\text{-Pr}$, $R_2 = H$, $R_3 = Me$) с $K_i = 7,36$ мкМ и 0,21 мкМ (для изоформ IX и XII КАЧ соответственно) был исследован на противоопухолевую активность. При обработке этим сложным эфиром в концентрации 100 мкМ клеточной линии SH-SY5Y (нейробластома человека) в гипоксических условиях выживаемость клеток составила 20 % [27]. 2 годами позже А. Nocentini et al. [28] изучили ингибиторный профиль и антипролиферативные свойства β -кетокислот и их этиловых эфиров 9 (рис. 6). Почти все соединения группы 9 оказались низконаномолярными ингибиторами изоформ IX и XII КАЧ ($K_i = 11,3\text{--}37,9$ и $7,5\text{--}34,6$ нМ соответственно). Исследования на цитотоксичность в отношении 2 клеточных линий остеосаркомы MG63 и HOS показали, что лишь одно производное 9 ($R_1 = \alpha\text{-нафтил}$, $R_2 = C_2H_5$) подавляет клеточный рост обеих линий более чем на 80 % при концентрации 25 мкМ [28].

К новым хемотипам ингибиторов КАЧ также относятся и производные сахараина [29]. Производные сахараина 10, включающие амидные заместители (рис. 6), проявили ингибирующие свойства в отношении КАЧ. Так, производные типа 10 эффективно ингибировали трансмембранные изоформы IX и XII КАЧ со значениями K_i в диапазоне 27,2–231,0 нМ и 35,9–670,0 нМ соответственно. Однако выраженные антипролиферативные свойства в отношении клеточной линии HT-29 были зафиксированы только для 2 соединений ряда 10 ($R = m\text{-ClC}_6\text{H}_4$ и $R = Me$) со значениями $IC_{50'}$ равными 44,10 мкМ и 50,97 мкМ соответственно [30].

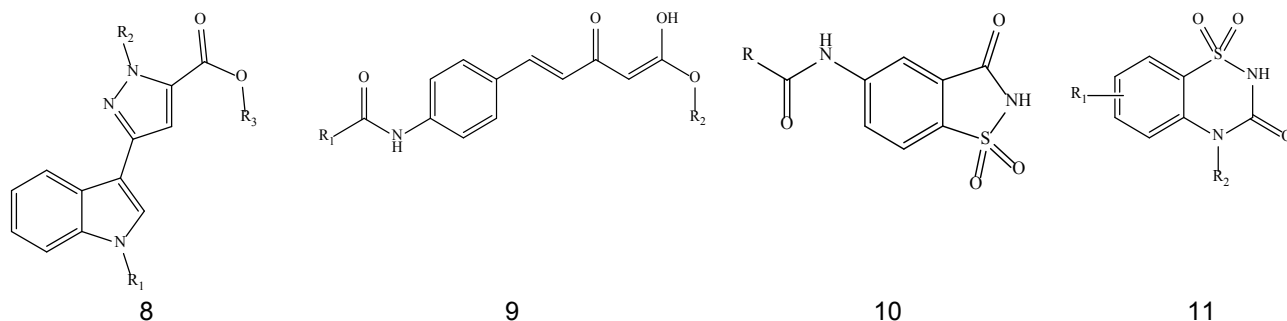


Рис. 6. Примеры новых хемотипов ингибиторов КАЧ на основе карбоновых кислот и их сложных эфиров 8, 9, а также производных сахараина и ацесульфаме 10, 11

Fig. 6. Examples of new chemotypes of HCA inhibitors based on carboxylic acids and their esters 8, 9, as well as derivatives of saccharin and acesulfame 10, 11

В другом исследовании S. Bua et al. (2020) [31] было представлено большое количество новых сульфаниламидов на основе ацесульфаме 11 (рис. 6), которые оказались достаточно активными в отношении изоформ IX и XII КАЧ. Более активные ингибиторы изоформ IX и XII КАЧ были исследованы на противоопухолевую активность в отношении трех линий клеток: A549 (аденокарцинома легкого), PC-3 и HT-116 (колоректальная карцинома). Так, например, соединение 11 (R₁ = 5-Cl, R₂ = H) обладает выраженным антипролиферативным действием и имеет значения IC_{50} равные 7,35 мкМ для A549, 3,52 мкМ для PC-3 и 7,57 мкМ для HT-116 соответственно [31].

ИНГИБИТОРЫ ИЗОФОРМ IX И XII КАЧ, НАХОДЯЩИЕСЯ НА СТАДИИ КЛИНИЧЕСКИХ И ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ В ОБЛАСТИ ОНКОЛОГИИ

Несмотря на огромное число высокоактивных ингибиторов изоформ IX и XII КАЧ, описанных в литературе, лишь немногие соединения были подробно исследованы на животных моделях опухолей, и только одно соединение SLC-0111 (рис. 7) дошло до стадии клинических испытаний [23].

A. Riemann et al. (2018) [32] показали, что SLC-0111 эффективен в подавлении новообразований простаты. A. R. L. Bernardino et al. (2019) [33] использовали SLC-0111 для демонстрации участия митохондриальной изоформы КАЧ VB в биосинтетических процессах, приводящих к образованию лактата в клетках Сертоли. Эти и другие исследования подтвердили эффективность и отсутствие токсичности SLC-0111 как противоопухолевого/антиметастатического препарата. Кроме того, в 2020 г. были опубликованы результаты I фазы клинических испытаний, целью которых было определение безопасности и переносимости SLC-0111 у пациентов с распространенными типами солидных опухолей. В исследование были включены 3 когорты пациентов, для каждой когорты были установлены для ежедневного перорального приема дозы в 500 мг, 1000 мг и 2000 мг, соответственно. При применении более низких доз (500 или

1000 мг/день) токсичности не наблюдалось [34]. В целом, препарат оказался безопасным, и рекомендуемая доза для последующих клинических исследований составила 1000 мг/день.

Низконаномолярный ингибитор изоформ IX и XII КАЧ S4 (рис. 7), включающий сульфаматный фрагмент в качестве цинк-связывающей группы вместо сульфаниламидного, присутствующего во многих других ингибиторах КАЧ, был разработан при сотрудничестве 2 исследовательских групп из Флоренции и Манчестера [35, 36]. S4 показал значительное снижение роста первичной опухоли и метастазов в опухоли карциномы молочной железы MDA-MB-231 у мышей при дозе 10 мг/кг [35]. Кроме того, S4 был активен на модели мелкоклеточного рака легких у мышей [36].

Таким образом, в литературе представлено колоссальное количество сообщений о разработках новых ингибиторов изоформ IX и XII КАЧ на основе различных хемотипов, часть из которых приведена выше. Однако лишь малая группа потенциальных ингибиторов изоформ IX/XII КАЧ обладает выраженными антипролиферативными свойствами. Более того, из всего массива разработанных в настоящее время ингибиторов только один противоопухолевый агент (SLC-011) дошел до стадии клинических испытаний. Такие наблюдения позволили предположить, что ингибиторы изоформ IX и XII КАЧ в качестве индивидуальных противоопухолевых агентов способны лишь несколько тормозить развитие неоплазий, однако не подавлять их полностью. Со временем стали появляться сообщения о противоопухолевом потенциале ингибиторов изоформ IX и XII КАЧ в составе комбинированной терапии.

ИНГИБИТОРЫ ИЗОФОРМ IX КАЧ КАК КАНДИДАТЫ ДЛЯ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ПРИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЯХ

В последнее время в литературе стремительно растет число публикаций, где сообщается, что ингибирование изоформы IX КАЧ в опухолевых клетках не только увеличивает эффективность стандартной химиотерапии при солидных опухолях, но

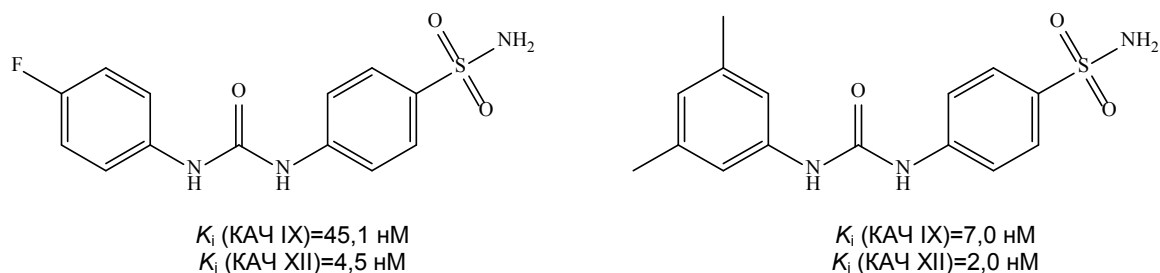


Рис. 7. Ингибиторы изоформ IX и XII КАЧ на стадии клинических исследований SLC-0111 (а) и доклинических исследований S4 (б)

Fig. 7. Inhibitors of HCA isoforms IX and XII at the stage of clinical studies SLC-0111 (a) and preclinical studies S4 (б)

также помогает преодолеть вызванную ацидозом резистентность уже известных противоопухолевых препаратов. Кроме того, препятствование гликолитическому метаболизму, обусловленному гипоксией, путем предотвращения сдвига pH_{iv} щелочную область в высокоагрессивных фенотипах, считается эффективным инструментом для преодоления инвазии и метастазирования опухолевых клеток [37]. В связи с этими фактами возрастает интерес исследователей к использованию ингибиторов изоформы IX КАЧ уже в качестве комбинированных, а не индивидуальных противоопухолевых агентов.

Ярким примером служит селективный ингибитор изоформы IX КАЧ SLC-0111, который сначала прошел клинические испытания как индивидуальный противоопухолевый агент, а недавно вступил в фазу Ib/II клинических испытаний как комбинированный агент [38]. E. Andreucci et al. (2019) [39] провели детальное исследование *in vitro* по потенцированию эффективности цитотоксических агентов в присутствии SLC-0111. Для этого были использованы клеточные линии A375-M6 (меланома человека), MCF-7 и HCT-116 [39]. Авторы продемонстрировали, что SLC-0111 заметно увеличивал процент гибели клеток, поздний апоптоз и некроз в клетках меланомы A375-M6 при совместном использовании с гуанинметилирующими агентами (дакарбазином или темозоломидом). Аналогичное действие оказывала комбинация SLC-0111 и доксорубина на клетки MCF-7. Кроме того, все комбинации эффективно блокировали образование колоний опухолевых клеток. Однако это не относится к комбинации SLC-0111 и 5-фторурацила, которая не влияла на жизнеспособность клеточной линии HCT-116. Таким образом, SLC-0111 продемонстрировал потенциал сенситизации опухолевых клеток к обычным цитостатическим агентам, что было свойственно для слабоосновных препаратов, но не для слабой кислоты 5-фторурацила [39].

N. M. Boyd et al. (2017) [40] изучили способность SLC-0111 усиливать эффективность темозоломида в отношении глиобластомы *in vitro* и *in vivo*. Исследование показало, что применение SLC-0111 или темозоломида в качестве индивидуальных

противоопухолевых средств значительно снизило рост клеток глиобластомы в условиях нормоксии и гипоксии, тогда как комбинация этих препаратов вызвала дальнейшее снижение роста клеток, но не увеличила токсичность темозоломида в отношении здоровых астроцитов. Было показано, что комбинация SLC-0111 + темозоломид индуцирует остановку клеточного цикла через повреждение ДНК и снижает внутриклеточный pH в опухолевых клетках. Кроме того, данная комбинация препаратов была высокоэффективной *in vivo* при введении голым мышам, имеющим ксенотрансплантат опухоли. Фактически, комбинация SLC-0111 + темозоломид вызывала заметную регрессию опухоли в ксенотрансплантатах, и этот эффект был явно выше, чем у индивидуальных препаратов. Таким образом, результаты, полученные N. M. Boyd, свидетельствуют о значительном преимуществе добавления SLC-0111 к традиционному лечению глиобластомы с помощью темозоломида [40].

S. J. Van Kuijk et al. (2016) [41] провели исследование с использованием ингибитора изоформы IX КАЧ S4 в комбинации с доксорубицином. Ранее было установлено, что этот сульфаматный аналог SLC-0111 обладает значительной антипролиферативной активностью *in vitro* в отношении различных моделей опухолей рака молочной железы [42]. Однако следует отметить, что, несмотря на обнадеживающие результаты *in vitro*, эффективность S4 *in vivo* оставалась неоднозначной. Так, S4 оказался неэффективным в подавлении роста первичной опухоли *in vivo*, хотя и вызывал снижение спонтанного формирования метастазов в легких при раке молочной железы MDA-MB-231 [35]. В дальнейшем мышам с опухолью MDA-MB-231 вводили комбинацию S4 + доксорубин, чтобы оценить ее эффективность *in vivo*. К сожалению, совместное применение S4 отменяло эффект доксорубина в данной модели, и причины этого явления остались неясными [41].

Вскоре после этого появилось исследование противоопухолевой активности комбинации S4 с цисплатином в отношении мелкоклеточного рака легких. J. L. Bryant et al. (2018) [36] сообщили, что S4 + цисплатин снижает жизнеспособность клеток для 2 клеточных линий мелкоклеточного рака лег-

ких человека DMS-79 и COR-L24. Более того, у голых мышей с ксенотрансплантом опухоли DMS-79 комбинация S4 + цисплатин значительно замедляла рост опухоли. Следует отметить значительное уменьшение очага некроза (почти 50 % площади опухоли составляли некрозы) в группе комбинированной терапии. Таким образом, резистентность к терапии не была приобретена во время этого эксперимента. В свою очередь, ксенотрансплантаты опухолей COR-L24 продемонстрировали исключительную чувствительность к S4, сохраняя размеры опухолей на уровне около 250 мм³ в течение 4-недельного курса S4. Ксенотрансплантаты опухолей COR-L24 также оказались более чувствительными к цисплатину, чем к DMS 79, но лечение плохо переносилось. Для этой модели комбинация препаратов дала несколько лучший ответ на лечение, чем агенты по отдельности, при этом регрессия опухоли COR-L24 наблюдалась у 3 из 4 мышей с выраженным ответом. Гистологический анализ показал значительное снижение экспрессии изоформы IX КАЧ и уменьшение областей гипоксии в опухолевых ксенотрансплантатах COR-L24 в ответ на введение S4 [36].

В 2019 г. Р. С. McDonald et al. [43] оценили потенциал SLC-0111 в составе комбинированной терапии в отношении аденокарциномы поджелудочной железы, экспрессирующей мутированную форму онкогена Ki-ras2 Kirsten саркомы крысы (KRAS) [44]. Проведенные авторами исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что в аденокарциноме поджелудочной железы преобладает гликолитический метаболизм и опухоль нуждается в определенном содержании бикарбонат-анионов во внутриклеточном пространстве, регуляцию содержания которых осуществляет изоформа IX КАЧ. В свете этих фактов стало крайне важным оценить потенциал ингибиторов изоформы IX КАЧ для сенсibilизации мутантных клеток KRAS к химиотерапевтическим агентам, в частности к гемцитабину, который обычно используется при лечении данного типа рака. J. Kleeff et al. (2016) [44] сообщили о значительном снижении внутриклеточного pH и уменьшении выживаемости клеток аденокарциномы поджелудочной железы, которые подверглись обработке комбинацией SLC-0111 + гемцитабин. В ксенотрансплантатах аденокарциномы поджелудочной железы с мутантным KRAS, экспрессирующих изоформу IX КАЧ, применение комбинации препаратов в течение 16 недель привело к заметному увеличению выживаемости мышей: 100 % мышей, получивших комбинацию, остались живы, а у одного животного после лечения опухоль не была обнаружена вовсе [45]. Также в процессе лечения не наблюдалось значительного влияния на количество T-клеток. Таким образом, подавляя рост опухоли, гликолитическую метаболическую адаптацию и увеличивая выживаемость *in vivo*, комбинация

препаратов не оказывала негативного влияния на иммунное микроокружение [43].

М. Petrenko et al. [46] в 2021 г. представили результаты исследования комбинации ингибитора изоформы IX КАЧ октилдисульфамата с пентациклическим тритерпеном 3-О-ацетилбетулином, пролекарством бетулиновой кислоты, которые демонстрируют селективную цитостатическую активность в отношении линии опухолевых клеток человека *in vitro* и *in vivo*. При совместном использовании октилдисульфамата и 3-О-ацетилбетулина проявлялась значительная антипролиферативная активность и подавление миграции клеток MDA-MB-231 и MCF-7. Оба эффекта были значительно выше в случае их комбинации, чем при применении индивидуального препарата. Впоследствии SLC-0111 был также протестирован с 3-О-ацетилбетулином в отношении MDA-MB-231 и MCF-7. Эта комбинация препаратов вызвала значительное снижение уровня выживаемости клеток. Кроме того, в культурах клеток MDA-MB-231, но не MCF-7, под воздействием лечения SLC-0111 с 3-О-ацетилбетулином наблюдалось повышение чувствительности клеток к воздействию радиации [46].

Е. М. Е. Hedlund et al. (2019) [47] недавно сообщили об исследовании комбинации антиангиогенного ингибитора тирозинкиназы сунитиниба и SLC-0111. Для тестирования комбинации препаратов авторы использовали ксенотрансплантаты высокометастатической трижды отрицательной опухоли молочной железы человека MDA-MB-231. Интересно, что, хотя монотерапия сунитинибом значительно подавляла рост первичной опухоли, она усугубляла ее гипоксию и увеличивала метастазирование. Важно отметить, что экспрессия изоформы IX КАЧ была повышена как в первичной опухоли, так и в метастазах в ответ на воздействие сунитиниба. С другой стороны, использование индивидуального SLC-0111 привело лишь к незначительному подавлению роста опухоли, хотя и значительно уменьшило количество метастазов в других органах. Однако при совместном применении эти 2 агента вызвали большое уменьшение объема опухоли и метастатических процессов у мышей. Впоследствии авторы продемонстрировали, что основным результатом блокирования функции изоформы IX КАЧ является уменьшение количества кровеносных сосудов в первичной опухоли, которое сопровождается снижением проницаемости оставшейся сосудистой сети. Это имеет большое значение, поскольку сунитиниб как моноагент в значительной степени увеличивал проницаемость кровеносных сосудов, тем самым способствуя повышению частоты метастазирования. Более того, обнаружилась экспрессия изоформы IX КАЧ в клетках аденокарциномы молочной железы, которые метастазировали в печень и легкие, что позволяет сделать предположение о наличии дополнительных механизмов наблю-

даемого эффекта SLC-0111. В итоге авторы продемонстрировали глубокое ингибирование роста высокометастатической трижды отрицательной опухоли молочной железы человека MDA-MB-231 *in vivo*, а также значительное снижение частоты метастазирования в ответ на комбинацию сунитиниб + SLC-0111, что было недостижимо в рамках монотерапии [47].

Помимо изучения комбинаций препаратов, интерес представляет исследование действия ингибиторов изоформы IX КАЧ в комбинации с агентами, влияющими на различные HIF-индуцированные клеточные процессы, в том числе аутофагию, ангиогенез и гликолиз [48, 49]. Также выбор комбинаций лекарственных средств, включающих ингибиторы изоформы IX КАЧ, может осуществляться с помощью экспериментов по нокауту генов, которые выявляют синтетические летальные пары генов в опухолевых клетках [50]. Совсем недавно S. C. Chafe et al. (2021) [50] выявили группу генных сетей, на которые значительно влияет потеря изоформы IX КАЧ, связанных с: а) цитоскелетом; б) клеточным циклом и митозом, биогенезом рибосом, процессингом РНК, репарацией ДНК и метаболизмом нуклеиновых кислот; в) окислительно-восстановительным гомеостазом: тиоредоксином (TXN), глутатион S-трансферазой (GSTM2 и GSTM5), глутатион редуктазой (GSR) и кофактором молибдена (MOCS3), биогенезом железо-серных кластеров: цистеиновой десульфуразой (NFS1); г) белком железо-серного кластера (ISCA2) и глутаредоксином 5 (GLRX5). Одним из наиболее значимых синтетических летальных генов оказался NFS1, кодирующий цистеиновую десульфуразу. Этот митохондриальный фермент катализирует образование кофакторов, содержащих железо в белках, участвующих в ряде клеточных функций. Кроме того, цистеиновая десульфурaza играет важную роль в защите клеток от ферроптоза (рис. 8).

S. C. Chafe et al. показали, что совместное использование ингибитора изоформ КАЧ SLC-0111 и гена-супрессора NFS1 эрастина привело к увеличению гибели опухолевых клеток. Наблюдаемый синергический эффект при совместном использовании агентов авторы объясняют тем, что эрастин стимулировал ферроптоз через ингибирование гена-супрессора NFS1, а SLC-0111 способствовал внутриклеточному ацидозу, который повышает чувствительность клеток к ферроптозу, синтезу жирных кислот, глутаминолизу и аутофагии (рис. 8) [50].

Таким образом, в ряде публикаций последних лет подчеркивалось, что ингибиторы изоформ IX и XII КАЧ могут значительно влиять на патогенетические механизмы, связанные с жизнеспособностью опухолевых клеток, а также использоваться в комбинированной терапии с новыми мишенями, которые можно идентифицировать с использова-

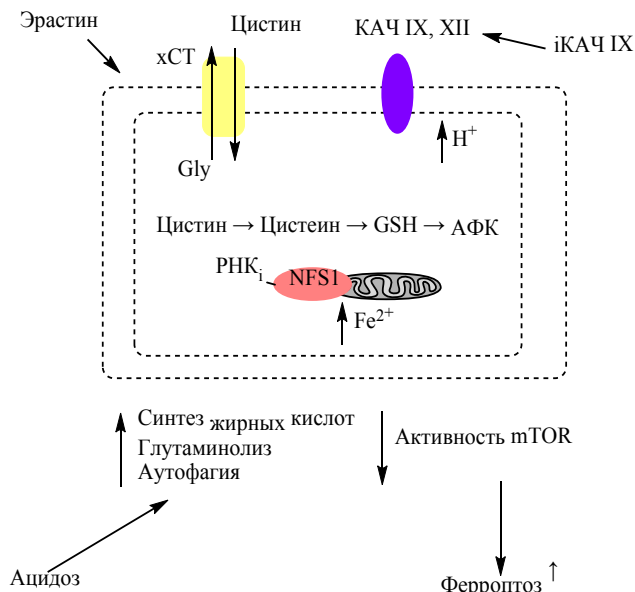


Рис. 8. Схема исследования синтетических летальных взаимодействий генов [50]: АФК — активные формы кислорода; GSH — глутатион; mTOR — серин-треониновая протеинкиназа, мишень рапамицина; NFS — цистеиновая десульфурaza

Fig. 8. Scheme for the study of synthetic lethal gene interactions [50]: АФК — reactive oxygen species; GSH — glutathione; mTOR — serine threonine protein kinase, target of rapamycin; NFS — cysteine desulfurase

нием геномного скрининга синтетической летальности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многочисленные научные исследования демонстрируют, что роль изоформ IX и XII КАЧ в развитии, пролиферации, инвазии и метастазировании солидных опухолей чрезвычайно велика. В связи с этим синтезирован и исследован широкий спектр высокоактивных ингибиторов изоформ IX и XII КАЧ различных хемотипов в качестве индивидуальных противоопухолевых агентов. Однако лишь малая часть этих ингибиторов проявляет выраженные противоопухолевые свойства и зачастую при высоких концентрациях (около 100 мкМ). Так, из всего разнообразия структур только бензолсульфонамид SLC-0111 перешел на стадию клинических испытаний в качестве индивидуального терапевтического агента. Однако новые открытия в области комбинированной терапии при лечении неоплазий показали, что SLC-0111 в комбинации с гемцитабином значительно потенцирует действие последнего, приводя к существенно лучшему результату, чем тот, который достигается при применении индивидуальных агентов. Кроме того, не менее перспективным направлением в противоопухолевой терапии является разработка мультитаргетных препаратов, направленных на несколько мишеней, участвующих в онкогенезе, включая изоформы IX и XII КАЧ. Поэтому поиск новых комбинаций ингибиторов изоформ IX и XII КАЧ с другими цитостатическими агентами

или создание гибридных молекул и изучение их противоопухолевого потенциала является актуальной задачей современной медицинской химии. В частности, совместно с Институтом химии Санкт-Петербургского государственного университета и Центром медицинской химии Тольяттинского государственного университета на кафедре общей и биоорганической химии ПСПбГМУ им. И. П. Павлова проводятся исследования по синтезу, изучению молекулярно-клеточных механизмов действия и биологической активности ингибиторов карбоангидраз. Был проведен скрининг 90 терапевтически релевантных изоформ КАЧ. Показано, что полученные соединения на основе сульфонамидов с пиазолом, 1,2,3-триазолом и тетразолом обладают селективной ингибирующей активностью в отношении опухоли-ассоциированных изоформ КАЧ. Скрининг цитотоксичности *in vitro* новых ингибиторов изоформы IX КАЧ выявил ряд соединений-лидеров, обладающих цитостатической активностью в комбинации с гефитинибом. На данном этапе нами проводятся эксперименты *in vivo* на модели мелко-клеточного рака легких у мышей.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 21-73-20264 «Комплексный подход к разработке адъювантных агентов на основе ингибиторов IX изоформы карбоангидразы человека для комбинированной терапии онкологических заболеваний»).

Financing

The work was supported by the Russian Science Foundation (project № 21-73-20264 "The integrated approach to the development of adjuvant agents based on inhibitors IX of human carbonic anhydrase isoform for combination therapy of oncological diseases").

ЛИТЕРАТУРА

1. Neri D., Supuran C. T. Interfering with pH regulation in tumours as a therapeutic strategy // *Nature Reviews Drug Discovery*. Nature Publishing Group. – 2011. – Vol. 10. – № 10. – P. 767–777.

2. Benej M., Pastorekova S., Pastorek J. Carbonic Anhydrase IX: regulation and role in cancer // *Subcell. Biochem.* – 2014. – Vol. 75. – P. 199–219.

3. Gilmour K. M. Perspectives on carbonic anhydrase // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* – 2010. – Vol. 157, № 3. – P. 193–197.

4. McKenna R., Frost S. C. Overview of the carbonic anhydrase family // *Sub-cellular biochemistry*. United States. – 2014. – Vol. 75. – P. 3–5.

5. Zamanova S., Shabana A. M., Mondal U. K., Ilies M. A. Carbonic anhydrases as disease markers // *Expert Opin. Ther. Pat.* – 2019. – Vol. 29, № 7. – P. 509–533.

6. Lomelino C. L., Andring J. T., McKenna R. Crystallography and Its Impact on Carbonic Anhydrase Research // *Int. J. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 2018. – P. 1–21.

7. Alterio V., Hilvo M., Di Fiore A. et al. Crystal structure of the catalytic domain of the tumor-associated human carbonic anhydrase IX // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2009. – Vol. 106, № 38. – P. 16233–16238.

8. Whittington D. A., Waheed A., Ulmasov B. et al. Crystal structure of the dimeric extracellular domain of human carbonic anhydrase XII, a bitopic membrane protein overexpressed in certain cancer tumor cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2001. – Vol. 98, № 17. – P. 9545–9550.

9. Ilies M. A., Winum J. Y. Carbonic anhydrase inhibitors for the treatment of tumors: Therapeutic, immunologic, and diagnostic tools targeting isoforms IX and XII // *Carbonic Anhydrases: Biochemistry and Pharmacology of an Evergreen Pharmaceutical Target*. Elsevier Inc. – 2019. – Vol. 2. – P. 331–365.

10. Chiche J., Ilc K., Laferrère J. et al. Hypoxia-inducible carbonic anhydrase IX and XII promote tumor cell growth by counteracting acidosis through the regulation of the intracellular pH // *Cancer Res.* – 2009. – Vol. 69, № 1. – P. 358–368.

11. Terry S., Faouzi Zaarour R., Hassan Venkatesh G. et al. Role of hypoxic stress in regulating tumor immunogenicity, resistance and plasticity // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 10. – P. 3044–3063.

12. Parks S. K., Chiche J., Pouyssegur J. pH control mechanisms of tumor survival and growth // *J. Cell. Physiol.* United States. – 2011. – Vol. 226, № 2. – P. 299–308.

13. Pastorekova S., Gillies R. J. The role of carbonic anhydrase IX in cancer development: links to hypoxia, acidosis, and beyond // *Cancer Metastasis Rev. Cancer and Metastasis Reviews.* – 2019. – Vol. 38, № 1–2. – P. 65–77.

14. Ames S., Pastorekova S., Becker H. M. The proteoglycan-like domain of carbonic anhydrase IX mediates non-catalytic facilitation of lactate transport in cancer cells // *Oncotarget.* – 2018. – Vol. 9, № 46. – P. 27940–27957.

15. Raghunand N., Gatenby R. A., Gillies R. J. Microenvironmental and cellular consequences of altered blood flow in tumours // *Br. J. Radiol. England.* – 2003. – Vol. 76. – P. 11–22.

16. Gatenby R. A., Gillies R. J. A microenvironmental model of carcinogenesis // *Nat. Rev. Cancer. England.* – 2008. – Vol. 8, № 1. – P. 56–61.

17. Riemann A., Rauschner M., Gießelmann M. et al. Extracellular acidosis modulates the expression of Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) markers and adhesion of epithelial and tumor cells // *Neoplasia.* – 2019. – Vol. 21, № 5. – P. 450–458.

18. Tonissen K. F., Poulsen S. A. Carbonic anhydrase XII inhibition overcomes P- glycoprotein-mediated drug resistance: A potential new combination therapy in cancer // *Cancer Drug Resist.* – 2021. – Vol. 4, № 2. – P. 343–355.

19. Supuran C. T. Advances in structure-based drug discovery of carbonic anhydrase inhibitors // *Expert Opin. Drug Discov.* Taylor & Francis. – 2017. – Vol. 12, № 1. – P. 61–88.

20. Eldehna W. M., Nocentini A., Al-Rashood S. T. et al. Tumor-associated carbonic anhydrase isoform IX and XII inhibitory properties of certain isatin-bearing sulfonamides endowed with in vitro antitumor activity towards colon cancer // *Bioorg. Chem. Elsevier.* – 2018. – Vol. 81. – P. 425–432.
21. El-Gazzar M. G., Nafie N. H., Nocentini A. et al. Carbonic anhydrase inhibition with a series of novel benzenesulfonamide-triazole conjugates // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* Taylor & Francis. – 2018. – Vol. 33, № 1. – P. 1565–1574.
22. Nocentini A., Bua S., Lomelino C. L. et al. Discovery of new sulfonamide carbonic anhydrase IX inhibitors incorporating nitrogenous bases // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2017. – Vol. 8, № 12. – P. 1314–1319.
23. Supuran C. T. Carbonic anhydrase inhibitors as emerging agents for the treatment and imaging of hypoxic tumors // *Expert Opin. Investig. Drugs. England.* – 2018. – Vol. 27, № 12. – P. 963–970.
24. Kurt B. Z., Dag A., Doğan B. et al. Synthesis, biological activity and multiscale molecular modeling studies of bis-coumarins as selective carbonic anhydrase IX and XII inhibitors with effective cytotoxicity against hepatocellular carcinoma // *Bioorg. Chem. Elsevier.* – 2019. – Vol. 87. – P. 838–850.
25. Bonardi A., Falsini M., Catarzi D. et al. Structural investigations on coumarins leading to chromeno[4,3-c]pyrazol-4-ones and pyrano[4,3-c]pyrazol-4-ones: New scaffolds for the design of the tumor-associated carbonic anhydrase isoforms IX and XII // *Eur. J. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 146. – P. 47–59.
26. Angeli A., Trallori E., Carta F. et al. Heterocoumarins Are Selective Carbonic Anhydrase IX and XII Inhibitors with Cytotoxic Effects against Cancer Cells Lines // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2018. – Vol. 9, № 9. – P. 947–951.
27. Cadoni R., Pala N., Lomelino C. et al. Exploring Heteroaryl-pyrazole Carboxylic Acids as Human Carbonic Anhydrase XII Inhibitors // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2017. – Vol. 8, № 9. – P. 941–946.
28. Nocentini A., Lucidi A., Perut F. et al. α -diketocarboxylic acids and their esters act as carbonic anhydrase IX and XII selective inhibitors: rapid-communication // *ACS Med. Chem. Lett. American Chemical Society.* – 2019. – Vol. 10, № 4. – P. 661–665.
29. Ivanova J., Leitans J., Tanc M. et al. X-ray crystallography-promoted drug design of carbonic anhydrase inhibitors // *Chem. Commun. Royal Society of Chemistry.* – 2015. – Vol. 51, № 33. – P. 7108–7111.
30. Coviello V., Marchi B., Sartini S. et al. 1,2-benzisothiazole derivatives bearing 4-, 5-, or 6- alkyl/arylcarboxamide moieties inhibit Carbonic Anhydrase Isoform IX (CAIX) and cell proliferation under hypoxic conditions // *J. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 59, № 13. – P. 6547–6552.
31. Bua S., Lomelino C. L., Murray A. B. et al. “a Sweet Combination”: developing saccharin and acesulfame K structures for selectively targeting the tumor-associated carbonic anhydrases IX and XII // *J. Med. Chem.* – 2020. – Vol. 63, № 1. – P. 321–333.
32. Riemann A., Güttler A., Haupt V. et al. Inhibition of Carbonic Anhydrase IX by Ureidosulfonamide Inhibitor U104 Reduces prostate cancer cell growth, but does not modulate daunorubicin or cisplatin cytotoxicity // *Oncol. Res.* – 2018. – Vol. 26. – № 2. – P. 191–200.
33. Bernardino R. L., Dias T. R., Moreira B. P. et al. Carbonic anhydrases are involved in mitochondrial biogenesis and control the production of lactate by human Sertoli cells // *FEBS J. England.* – 2019. – Vol. 286, № 7. – P. 1393–1406.
34. McDonald P. C., Chia S., Bedard P. L. et al. A phase 1 study of SLC-0111, a novel inhibitor of carbonic anhydrase IX, in patients with advanced solid tumors // *Am. J. Clin. Oncol.* – 2020. – Vol. 43, № 7. – P. 484–490.
35. Gieling R. G., Babur M., Mamnani L. et al. Antimetastatic effect of sulfamate carbonic anhydrase IX inhibitors in breast carcinoma xenografts // *J. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 55, № 11. – P. 5591–5600.
36. Bryant J. L., Gieling R. G., Meredith S. L. et al. Novel carbonic anhydrase IX-targeted therapy enhances the anti-tumour effects of cisplatin in small cell lung cancer // *Int. J. Cancer. United States.* – 2018. – Vol. 142, № 1. – P. 191–201.
37. Cuffaro D., Nuti E., Rossello A. An overview of carbohydrate-based carbonic anhydrase inhibitors // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem. Taylor & Francis.* – 2020. – Vol. 35, № 1. – P. 1906–1922.
38. Supuran C. T. Carbonic anhydrase inhibitors: an update on experimental agents for the treatment and imaging of hypoxic tumors // *Expert Opin. Investig. Drugs. Taylor & Francis.* – 2021. – Vol. 30, № 12. – P. 1197–1208.
39. Andreucci E., Ruzzolini J., Peppicelli S. et al. The carbonic anhydrase IX inhibitor SLC-0111 sensitises cancer cells to conventional chemotherapy // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem. Taylor & Francis.* – 2019. – Vol. 34, № 1. – P. 117–123.
40. Boyd N. H., Walker K., Fried J. et al. Addition of carbonic anhydrase 9 inhibitor SLC-0111 to temozolomide treatment delays glioblastoma growth in vivo // *JCI Insight.* – 2017. – Vol. 2, № 24. – P. 1–16.
41. Van Kuijk S. J., Gieling R. G., Niemans R. et al. The sulfamate small molecule CAIX inhibitor S4 modulates doxorubicin efficacy // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, № 8. – P. 1–14.
42. Ward C., Meehan J., Mullen P. et al. Evaluation of carbonic anhydrase IX as a therapeutic target for inhibition of breast cancer invasion and metastasis using a series of in vitro breast cancer models // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6, № 28. – P. 24856–24870.
43. McDonald P. C., Chafe S. C., Brown W. S. et al. Regulation of pH by Carbonic Anhydrase 9 Mediates Survival of Pancreatic Cancer Cells With Activated KRAS in Response to Hypoxia // *Gastroenterology.* – 2019. – Vol. 157, № 3. – P. 823–837.
44. Kleeff J., Korc M., Apte M. et al. Pancreatic cancer // *Nat. Rev. Dis. Prim. Macmillan Publishers Limited.* – 2016. – Vol. 2. – P. 1–23.
45. Lee K. E., Spata M., Bayne L. J. et al. Hif1a deletion reveals pro-neoplastic function of B cells in pancreatic neoplasia // *Cancer Discov.* – 2016. – Vol. 6, № 3. – P. 256–269.
46. Petrenko M., Güttler A., Funtan A. et al. Combined 3-O-acetylbetulin treatment and carbonic anhydrase IX inhibition results in additive effects on human breast cancer cells // *Chem. Biol. Interact.* – 2021. – Vol. 333. – P. 109326–109335.
47. Hedlund E. M. E., McDonald P. C., Nemirovsky O. et al. Harnessing induced essentiality: Targeting carbonic anhydrase IX and angiogenesis reduces lung metastasis of triple negative breast cancer xenografts // *Cancers (Basel).* – 2019. – Vol. 11, № 7. – P. 1002–1020.
48. Chiche J., Brahimi-Horn M. C., Pouyssegur J. Tumour hypoxia induces a metabolic shift causing acidosis: A common feature in cancer // *J. Cell. Mol. Med.* – 2010. – Vol. 14, № 4. – P. 771–794.
49. Bellot G., Garcia-Medina R., Gounon P. et al. Hypoxia-induced autophagy is mediated through hypoxia-inducible factor induction of BNIP3 and BNIP3L via their BH3 domains // *Mol. Cell. Biol.* – 2009. – Vol. 29, № 10. – P. 2570–2581.
50. Chafe S. C., Vizeacoumar F. S., Venkateswaran G. et al. Genome-wide synthetic lethal screen unveils novel CAIX-NFS1/xCT axis as a targetable vulnerability in hypoxic solid tumors // *Sci. Adv.* – 2021. – Vol. 7, № 35. – P. 1–16.

REFERENCES

1. Neri D., Supuran C. T. Interfering with pH regulation in tumours as a therapeutic strategy // *Nature Reviews Drug Discovery*. Nature Publishing Group. 2011;10(10):767–777.
2. Benej M., Pastorekova S., Pastorek J. Carbonic Anhydrase IX: regulation and role in cancer // *Subcell. Biochem.* 2014;75:199–219.
3. Gilmour K. M. Perspectives on carbonic anhydrase // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 2010;157(3):193–197.
4. McKenna R., Frost S. C. Overview of the carbonic anhydrase family // *Sub-cellular biochemistry*. United States. 2014;75:3–5.
5. Zamanova S., Shabana A. M., Mondal U. K., Ilies M. A. Carbonic anhydrases as disease markers // *Expert Opin. Ther. Pat.* 2019;29(7):509–533.
6. Lomelino C. L., Andring J. T., McKenna R. Crystallography and Its Impact on Carbonic Anhydrase Research // *Int. J. Med. Chem.* 2018;2018:1–21.
7. Alterio V., Hilvo M., Di Fiore A. et al. Crystal structure of the catalytic domain of the tumor-associated human carbonic anhydrase IX // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2009;106(38):16233–16238.
8. Whittington D. A., Waheed A., Ulmasov B. et al. Crystal structure of the dimeric extracellular domain of human carbonic anhydrase XII, a bitopic membrane protein overexpressed in certain cancer tumor cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001;98(17):9545–9550.
9. Ilies M. A., Winum J. Y. Carbonic anhydrase inhibitors for the treatment of tumors: Therapeutic, immunologic, and diagnostic tools targeting isoforms IX and XII // *Carbonic Anhydrases: Biochemistry and Pharmacology of an Evergreen Pharmaceutical Target*. Elsevier Inc. 2019;2:331–365.
10. Chiche J., Ilc K., Laferrrière J. et al. Hypoxia-inducible carbonic anhydrase IX and XII promote tumor cell growth by counteracting acidosis through the regulation of the intracellular pH // *Cancer Res.* 2009;69(1):358–368.
11. Terry S., Faouzi Zaarour R., Hassan Venkatesh G. et al. Role of hypoxic stress in regulating tumor immunogenicity, resistance and plasticity // *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(10):3044–3063.
12. Parks S. K., Chiche J., Pouyssegur J. pH control mechanisms of tumor survival and growth // *J. Cell. Physiol.* United States. 2011;226(2):299–308.
13. Pastorekova S., Gillies R. J. The role of carbonic anhydrase IX in cancer development: links to hypoxia, acidosis, and beyond // *Cancer Metastasis Rev. Cancer and Metastasis Reviews*. 2019;38(1–2):65–77.
14. Ames S., Pastorekova S., Becker H. M. The proteoglycan-like domain of carbonic anhydrase IX mediates non-catalytic facilitation of lactate transport in cancer cells // *Oncotarget*. 2018;9(46):27940–27957.
15. Raghunand N., Gatenby R. A., Gillies R. J. Microenvironmental and cellular consequences of altered blood flow in tumours // *Br. J. Radiol. England*. 2003;76:11–22.
16. Gatenby R. A., Gillies R. J. A microenvironmental model of carcinogenesis // *Nat. Rev. Cancer. England*. 2008;8(1):56–61.
17. Riemann A., Rauschner M., Gießelmann M. et al. Extracellular acidosis modulates the expression of Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) markers and adhesion of epithelial and tumor cells // *Neoplasia*. 2019;21(5):450–458.
18. Tonissen K. F., Poulsen S. A. Carbonic anhydrase XII inhibition overcomes P-glycoprotein-mediated drug resistance: A potential new combination therapy in cancer // *Cancer Drug Resist.* 2021;4(2):343–355.
19. Supuran C. T. Advances in structure-based drug discovery of carbonic anhydrase inhibitors // *Expert Opin. Drug Discov.* Taylor & Francis. 2017;12(1):61–88.
20. Eldehna W. M., Nocentini A., Al-Rashood S. T. et al. Tumor-associated carbonic anhydrase isoform IX and XII inhibitory properties of certain isatin-bearing sulfonamides endowed with in vitro antitumor activity towards colon cancer // *Bioorg. Chem. Elsevier*. 2018;81:425–432.
21. El-Gazzar M. G., Nafie N. H., Nocentini A. et al. Carbonic anhydrase inhibition with a series of novel benzenesulfonamide-triazole conjugates // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* Taylor & Francis. 2018;33(1):1565–1574.
22. Nocentini A., Bua S., Lomelino C. L. et al. Discovery of new sulfonamide carbonic anhydrase IX inhibitors incorporating nitrogenous bases // *ACS Med. Chem. Lett.* 2017;8(12):1314–1319.
23. Supuran C. T. Carbonic anhydrase inhibitors as emerging agents for the treatment and imaging of hypoxic tumors // *Expert Opin. Investig. Drugs. England*. 2018. Vol. 27(12):963–970.
24. Kurt B. Z., Dag A., Doğan B. et al. Synthesis, biological activity and multiscale molecular modeling studies of bis-coumarins as selective carbonic anhydrase IX and XII inhibitors with effective cytotoxicity against hepatocellular carcinoma // *Bioorg. Chem. Elsevier*. 2019;87:838–850.
25. Bonardi A., Falsini M., Catarzi D. et al. Structural investigations on coumarins leading to chromeno[4,3-*c*]pyrazol-4-ones and pyrano[4,3-*c*]pyrazol-4-ones: New scaffolds for the design of the tumor-associated carbonic anhydrase isoforms IX and XII // *Eur. J. Med. Chem.* 2018;146:47–59.
26. Angeli A., Trallori E., Carta F. et al. Heterocoumarins Are Selective Carbonic Anhydrase IX and XII Inhibitors with Cytotoxic Effects against Cancer Cells Lines // *ACS Med. Chem. Lett.* 2018;9(9):947–951.
27. Cadoni R., Pala N., Lomelino C. et al. Exploring Heteroaryl-pyrazole Carboxylic Acids as Human Carbonic Anhydrase XII Inhibitors // *ACS Med. Chem. Lett.* 2017;8(9):941–946.
28. Nocentini A., Lucidi A., Perut F. et al. α -diketocarboxylic acids and their esters act as carbonic anhydrase IX and XII selective inhibitors: rapid-communication // *ACS Med. Chem. Lett. American Chemical Society*. 2019;10(4):661–665.
29. Ivanova J., Leitans J., Tanc M. et al. X-ray crystallography-promoted drug design of carbonic anhydrase inhibitors // *Chem. Commun. Royal Society of Chemistry*. 2015;51(33):7108–7111.
30. Coviello V., Marchi B., Sartini S. et al. 1,2-benzisothiazole derivatives bearing 4-, 5-, or 6- alkyl/arylcarboxamide moieties inhibit Carbonic Anhydrase Isoform IX (CAIX) and cell proliferation under hypoxic conditions // *J. Med. Chem.* 2016;59(13):6547–6552.
31. Bua S., Lomelino C. L., Murray A. B. et al. “A sweet combination”: developing saccharin and acesulfame K structures for selectively targeting the tumor-associated carbonic anhydrases IX and XII // *J. Med. Chem.* 2020;63(1):321–333.
32. Riemann A., Güttler A., Haupt V. et al. Inhibition of carbonic anhydrase IX by ureidosulfonamide inhibitor U104 reduces prostate cancer cell growth, but does not modulate daunorubicin or cisplatin cytotoxicity // *Oncol. Res.* 2018;26(2):191–200.
33. Bernardino R. L., Dias T. R., Moreira B. P. et al. Carbonic anhydrases are involved in mitochondrial biogenesis and control the production of lactate by human Sertoli cells // *FEBS J. England*. 2019;286(7):1393–1406.
34. McDonald P. C., Chia S., Bedard P. L. et al. A phase I study of SLC-0111, a novel inhibitor of carbonic anhydrase IX, in patients with advanced solid tumors // *Am. J. Clin. Oncol.* 2020;43(7):484–490.

35. Gieling R. G., Babur M., Mamnani L. et al. Anti-metastatic effect of sulfamate carbonic anhydrase IX inhibitors in breast carcinoma xenografts // *J. Med. Chem.* 2012; 55(11):5591–5600.
36. Bryant J. L., Gieling R. G., Meredith S. L. et al. Novel carbonic anhydrase IX-targeted therapy enhances the anti-tumour effects of cisplatin in small cell lung cancer // *Int. J. cancer.* United States. – 2018;142(1):191–201.
37. Cuffaro D., Nuti E., Rossello A. An overview of carbohydrate-based carbonic anhydrase inhibitors // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* Taylor & Francis. 2020;35(1):1906–1922.
38. Supuran C. T. Carbonic anhydrase inhibitors: an update on experimental agents for the treatment and imaging of hypoxic tumors // *Expert Opin. Investig. Drugs.* Taylor & Francis. 2021;30(12):1197–1208.
39. Andreucci E., Ruzzolini J., Peppicelli S. et al. The carbonic anhydrase IX inhibitor SLC-0111 sensitises cancer cells to conventional chemotherapy // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* Taylor & Francis. 2019;34(1):117–123.
40. Boyd N. H., Walker K., Fried J. et al. Addition of carbonic anhydrase 9 inhibitor SLC-0111 to temozolomide treatment delays glioblastoma growth in vivo // *JCI Insight.* 2017;2(24):1–16.
41. Van Kuijk S. J., Gieling R. G., Niemans R. et al. The sulfamate small molecule CAIX inhibitor S4 modulates doxorubicin efficacy // *PLoS One.* 2016;11(8):1–14.
42. Ward C., Meehan J., Mullen P. et al. Evaluation of carbonic anhydrase IX as a therapeutic target for inhibition of breast cancer invasion and metastasis using a series of in vitro breast cancer models // *Oncotarget.* 2015;6(28):24856–24870.
43. McDonald P. C., Chafe S. C., Brown W. S. et al. Regulation of pH by Carbonic Anhydrase 9 Mediates Survival of Pancreatic Cancer Cells With Activated KRAS in Response to Hypoxia // *Gastroenterology.* 2019;157(3):823–837.
44. Kleeff J., Korc M., Apte M. et al. Pancreatic cancer // *Nat. Rev. Dis. Prim.* Macmillan Publishers Limited. 2016;2:1–23.
45. Lee K. E., Spata M., Bayne L. J. et al. Hif1a deletion reveals pro-neoplastic function of B cells in pancreatic neoplasia // *Cancer Discov.* 2016;6(3):256–269.
46. Petrenko M., Güttler A., Funtan A. et al. Combined 3-O-acetylbetulin treatment and carbonic anhydrase IX inhibition results in additive effects on human breast cancer cells // *Chem. Biol. Interact.* 2021;333:109326–109335.
47. Hedlund E. M. E., McDonald P. C., Nemirovsky O. et al. Harnessing induced essentiality: Targeting carbonic anhydrase IX and angiogenesis reduces lung metastasis of triple negative breast cancer xenografts // *Cancers (Basel).* 2019;11(7):1002–1020.
48. Chiche J., Brahimi-Horn M. C., Pouyssegur J. Tumour hypoxia induces a metabolic shift causing acidosis: A common feature in cancer // *J. Cell. Mol. Med.* 2010;14(4):771–794.
49. Bellot G., Garcia-Medina R., Gounon P. et al. Hypoxia-Induced Autophagy Is Mediated through Hypoxia-Inducible Factor Induction of BNIP3 and BNIP3L via Their BH3 Domains // *Mol. Cell. Biol.* 2009;29(10):2570–2581.
50. Chafe S. C., Vizeacoumar F. S., Venkateswaran G. et al. Genome-wide synthetic lethal screen unveils novel CAIX-NFS1/xCT axis as a targetable vulnerability in hypoxic solid tumors // *Sci. Adv.* 2021;7(35):1–16.

Информация об авторах

Калинин Станислав Алексеевич, старший преподаватель кафедры медицинской химии Института химии, Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-6421-1208; **Шаронова Татьяна Валерьевна**, младший научный сотрудник лаборатории субклеточных технологий с группой онкоэндокринологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Петрова (Санкт-Петербург, Россия); **Малкова Анна Михайловна**, аспирант, Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург, Россия); **Агеев Сергей Вадимович**, специалист по учебно-методической работе, заведующий учебной частью кафедры общей и биоорганической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-2709-7282; **Семёнов Константин Николаевич**, доктор химических наук, профессор кафедры общей и биоорганической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-2239-2044; **Шаройко Владимир Владимирович**, доктор биологических наук, профессор кафедры общей и биоорганической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-3717-0471.

Information about authors

Kalinin Stanislav A., Senior Lecturer of the Department of Medical Chemistry, Institute of Chemistry, Saint-Petersburg University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-6421-1208; **Sharonova Tatiana V.**, Junior Research Fellow of the Laboratory of Subcellular Technologies with Oncoendocrinology Group, Petrov National Medical Research Center for Oncology (Saint Petersburg, Russia); **Malkova Anna M.**, graduate student, Saint-Petersburg University (Saint Petersburg, Russia); **Ageev Sergei V.**, Teaching and Learning Specialist, Head of the Educational Department of the Department of General and Bioorganic Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-2709-7282; **Semenov Konstantin N.**, Dr. of Sci. (Chem.), Professor of the Department of General and Bioorganic Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-2239-2044; **Sharoyko Vladimir V.**, Dr. of Sci. (Biol.), Professor of the Department of General and Bioorganic Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-3717-0471.