

ПРОИЗВОДНОЕ БЕНЗИМИДАЗОЛА КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ СРЕДСТВО В ОТНОШЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ ЛЕГКОГО

Е. Ф. Комарова^{1,2}, О. Н. Жуковская³, Е. А. Лукбанова¹ ✉, М. А. Енгибарян¹, Л. Н. Ващенко¹, Д. А. Харагезов¹, В. В. Позднякова¹, Н. Д. Ушакова¹, Ю. С. Шатова¹, Ю. В. Пржедецкий¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии, Ростов-на-Дону, Россия

² Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

³ Научно-исследовательский институт физической и органической химии Южного федерального университета, Ростов-на-Дону, Россия

Значительное число применяемых в клинике противоопухолевых средств недостаточно эффективно и безопасно, что обуславливает поиск новых лекарственных субстанций. Цель работы — изучить влияние дигидробромида 2-(3,4-дигидроксибензил)-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола (РУ-185) на рост и метастазирование перевиваемой экспериментальной опухоли легкого Льюис (LLC). LLC прививали 55 мышам-самкам C57/Bl6 массой 18–20 г подкожно. Внутривенное (0,5 мл в сут.) введение препарата начинали через 48 ч после перевивки опухоли 1 раз в сутки 10 дней в разовых дозах 50, 220, 500 мг/кг (группы 1, 2 и 3 соответственно). Мышам контрольной группы вводили физиологический раствор. При внутривенном введении субстанции происходило достоверное увеличение продолжительности жизни животных только в группе 2 (162,3%), а также значимое уменьшение объемов опухоли уже на 1-е сутки после окончания лечения. На 7-е и 14-е сутки от момента окончания лечения размеры опухоли в группах 2 и 3 были снижены по сравнению с контрольной группой в 3,4 и 1,3 раза (на 7-е сутки) и в 2,2 и 1,3 раза (на 14-е сутки) соответственно ($p < 0,05$). Индекс торможения роста опухоли сохранился в группе 2 к 14-м суткам после окончания лечения и у 20% животных отмечен регресс опухоли. Число метастазов в легких в группах 1 и 2 было снижено относительно контроля в 2,6 и 3,1 раза соответственно, а индекс ингибирования метастазирования составил 68,1 и 80% соответственно. Исследованный РУ-185 оказывает противоопухолевое действие, что выражено в увеличении продолжительности жизни животных, снижении скорости роста первичной опухоли, а также частоты развития и количества легочных метастазов экспериментальной эпидермоидной карциномы легкого Льюис мышей.

Ключевые слова: эпидермоидная карцинома легкого Льюис, дигидробромид 2-(3,4-дигидроксибензил)-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола, противоопухолевая активность, антиметастатическая активность, внутривенное введение

Финансирование: синтез исследуемого соединения осуществляли при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (государственное задание в области научной активности, Южный федеральный университет, 2020, проект FENW-2020-0031 (0852-2020-0031). Исследования *in vivo* проводили в рамках государственного задания «Изучение противоопухолевой активности фармакологических субстанций *in vivo* и *in vitro*» (121031100253-3).

Вклад авторов: Е. Ф. Комарова — дизайн исследования, написание рукописи, проведение эксперимента; О. Н. Жуковская — редактирование рукописи, синтез вещества; Е. А. Лукбанова — оформление рукописи, проведение эксперимента; М. А. Енгибарян — редактирование рукописи; Л. Н. Ващенко — концепция и дизайн исследования, редактирование рукописи; Д. А. Харагезов — написание рукописи; В. В. Позднякова — статистический анализ данных; Н. Д. Ушакова — концепция и дизайн рукописи; Ю. С. Шатова — оформление библиографии, редактирование рукописи; Ю. В. Пржедецкий — техническое редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ (протокол № 18 от 10 сентября 2015 г.); все манипуляции с животными, в том числе выведение из эксперимента, осуществляли в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Алексеевна Лукбанова
ул. Азовская, д. 163, 346783, г. Азов; katya.samarskaja@yandex.ru

Статья получена: 01.06.2021 **Статья принята к печати:** 15.06.2021 **Опубликована онлайн:** 25.06.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.031

BENZIMIDAZOLE DERIVATIVE AS ANTITUMOR DRUG AGAINST EXPERIMENTALLY INDUCED LUNG CARCINOMA

Komarova EF^{1,2}, Zhukovskaya ON³, Lukbanova EA¹ ✉, Yengibaryan MA¹, Vashenko LN¹, Kharagezov DA¹, Pozdnyakova VV¹, Ushakova ND¹, Shatova YuS¹, Przhedetsky YuV¹

¹ National Medical Research Center for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

² Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

³ Research Institute for Physical and Organic Chemistry of Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia

Most cancer drugs used in a clinical setting are insufficiently effective and insufficiently safe. This prompts the search for novel substances to fight cancer. The aim of this study was to explore the effects of dihydrobromide 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-9-diethylaminoethylimidazo[1,2-a] benzimidazole (RU-185) on the growth and metastasis of experimentally induced transplantable Lewis lung carcinoma (LLC). Fifty-five C57/Bl6 male mice (weight 18–20 g) were subcutaneously inoculated with LLC cells. The tested substance (0.5 ml) was administered intragastrically at 50, 220, and 500 mg/kg (groups 1, 2 and 3, respectively) once a day for 10 days starting at 48 h after inoculation. The control group received normal saline. Intragastric administration of the tested substance resulted in significantly longer survival in group 2 only (162.3%) and in the significant reduction of tumor size on day 1 after treatment in all groups. After the end of treatment, tumor sizes in groups 2 and 3 were 3.4 and 1.3 times smaller, respectively, on day 7 and 2.2. and 1.3 times smaller, respectively, on day 14 than in the control group ($p < 0,05$). The growth delay rate was sustained in group 2 by day 14 after the end of treatment; tumor regression was observed in 20% of the animals. The number of metastases in the lungs was lower in groups 1 and 2 than in the control group (2.6 and 3.1-fold, respectively), and the metastasis inhibition was 68.1% and 80%, respectively. The tested substance RU-185 has an anticancer effect in mice: it results in longer survival, slower growth of the primary tumor and fewer lung metastases of Lewis lung carcinoma.

Keywords: Lewis lung carcinoma, dihydrobromide 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-9-diethylaminoethylimidazo[1,2-a] benzimidazole, antitumor activity, antimetastatic activity, intragastric administration.

Funding: synthesis of the tested compound was supported by the Russian Ministry of Science and Higher Education under the state assignment for the Southern Federal University, 2020, Project FENW-2020-0031 (0852-2020-0031). *In vivo* experiments were part of the state assignment *Study of antitumor activity of pharmacological substances in vivo and in vitro* (121031100253-3).

Author contributions: Komarova EF proposed the design, conducted the experiment and wrote the draft version of the manuscript; Zhukovskaya ON synthesized the tested compound and edited the manuscript; Lukbanova EA conducted the experiment and contributed to writing the manuscript; Yengibaryan MA edited the manuscript; Vashenko LN proposed the concept and design for the study, edited the manuscript; Kharagezov DA contributed to writing the manuscript; Pozdnyakova VV performed statistical analysis; Ushakova ND proposed the concept and design for the study; Shatova YuS prepared the list of references and edited the manuscript; Przhedetsky YuV performed technical editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of National Medical Research Center for Oncology (Protocol № 18 dated September 10, 2015); the experiment complied with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina A. Lukbanova
Azovskaya, 163, 346783, Azov; katya.samarskaja@yandex.ru

Received: 01.06.2021 **Accepted:** 15.06.2021 **Published online:** 25.06.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.031

Многочисленные исследования в современной онкологии, направленные на изучение механизмов опухолевого роста и прогрессирования злокачественных новообразований, закладывают фундаментальную основу поиска мишеней для терапии [1–3]. В связи с этим идет разработка новых противоопухолевых и антиметастатических средств, в основе эффективности которых лежит воздействие на эти мишени. Однако значительное число применяемых в клинике противоопухолевых средств недостаточно эффективно и безопасно, что определяет приоритетные направления экспериментальной медицины — поиск новых лекарственных субстанций.

Молекула ДНК служит главной мишенью, на которую направлено действие многих противоопухолевых и антиметастатических препаратов разных классов и разных химических групп, реализующих свою активность с помощью разнообразных механизмов. Исследования показали, что родоначальник ряда трициклических систем на основе бензимидазола, 3Н-триазоло[1,5-а]бензимидазол, весьма эффективно связывается с АТФ-сайтом фермента check point kinase 2 и тем самым ингибирует его. Поскольку эта киназа играет решающую роль в активации путей передачи сигнала, участвующих в клеточном ответе на повреждения ДНК, ее ингибирование в опухолевых клетках должно блокировать репарацию ДНК и индуцировать апоптоз злокачественных клеток [4]. Производные бензимидазола могут проявлять противоопухолевую активность и за счет влияния на другие клеточные мишени, задействованные в процессах репарации (например, ингибируя ключевой фермент системы репарации ДНК — поли(АДФ-рибоза) полимеразу (PARP-1 и -2) и потенцируя цитотоксичность повреждающих ДНК агентов) [5]. При переходе от производных бензимидазола к соединениям ряда более простой моноциклической имидазольной системы возникает возможность противоопухолевого действия за счет блокирования возможности эффективной репликации ДНК путем электростатических взаимодействий, интеркаляции и связывания с бороздками ДНК [6].

Другой весьма важной мишенью для противоопухолевых препаратов служит белок тубулин, связывание с которым препятствует критически важным, в том числе для клеточного деления, процессам его полимеризации и деполимеризации. И здесь в роли ингибиторов тубулина могут выступать различные производные бензимидазола, затрудняющие образование микротрубочек [7]. Отдельные их представители обладают хорошими фармакокинетическими свойствами и способны преодолеть множественную лекарственную устойчивость, формирующуюся у многих клеточных линий. В частности, широкий спектр активности в качестве ингибиторов β -тубулина демонстрируют производные бензимидазола-2-мочевины, которые, по данным литературы, оказывают цитотоксическое действие в отношении культур клеток человека NCI-H460, Colo205, K562, A431, HepG2, Hela, MDA-MB-435S [8].

Цитотоксический эффект производных бензимидазола в отношении клеток аденокарциномы легких человека A549 в условиях гипоксии связывают с активацией их каспаззависимого апоптоза [9]. Показано, что одно из довольно сложных по структуре соединений бензимидазольного ряда обладает ингибирующей активностью в отношении онкогенных киназ MEK1 и PI3K [10].

Целью работы было исследовать влияние дигидробромида 2-(3,4-дигидроксифенил)-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола (РУ-185) на рост и метастазирование LLC.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовали 55 самцов мышей линии С57В1/6 весом 18–20 г. Животные были получены из вивария филиала «Андреевка» (Московская область).

Для проведения исследований использовали перевивную опухоль эпидермоидной карциномы LLC, для которой характерно 100%-е спонтанное метастазирование в легкие. Штамм был получен в банке опухолевых материалов лаборатории комбинированной терапии опухолей Научно-исследовательского института экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н. Н. Блохина. Поддержание и подожную перевивку опухолевого штамма осуществляли в соответствии с общепринятыми методами.

Исследуемое вещество было получено из 1-диэтиламиноэтил-2-аминобензимидазола, его кватернизацией 3,4-диметоксифенацилбромидом с последующей циклизацией образующейся четвертичной соли действием 48%-й бромистоводородной кислоты при кипячении, сопровождающейся О-деметилированием [11]. Синтез РУ-185 осуществляли в НИИ физической и органической химии Южного федерального университета.

Исследуемое соединение предварительно растворяли в физиологическом растворе. Введение веществ трем группам лабораторных животных осуществляли внутрижелудочно с помощью назогастрального зонда в разовых дозах 50 мг/кг (1-я группа), 220 мг/кг (2-я группа) и 500 мг/кг (3-я группа) (что соответствовало 1/40, 1/8 и 1/4 ЛД₅₀) раз в день в течение 10 дней, через 48 ч после перевивки опухоли LLC мышам указанной линии (табл. 1). Контрольную группу составляли животные с перевитой LLC, которым внутрижелудочно вводили физиологический раствор (глицерол) в аналогичных объемах и по той же схеме.

На 26-е сутки после перевивки опухоли часть животных всех групп подвергали эктаназии в CO₂-камере и проводили некропсию. Изучение противоопухолевой и антиметастатической активности вещества выполняли в соответствии с методическими рекомендациями [12]. Степень противоопухолевой и антиметастатической активности вещества определяли по стандартным показателям, таким как объем опухоли, увеличение продолжительности жизни (Т/С%), рассчитанное как соотношение средней продолжительности жизни животных, подвергнутых воздействию, к контрольным показателям, а также количество метастатических узлов. По полученным результатам рассчитывали индекс торможения роста опухоли (ТРО%) и индекс ингибирования метастазирования (ИИМ%) [12].

Предварительно была определена величина острой токсичности ЛД₅₀ для РУ-185 при внутрижелудочном введении, которая составила 1980,4 мг/кг, что согласно гармонизированной системе классификации опасности и маркировки химической продукции (СГС) соответствует 4-й категории опасности. В соответствии с нормативными документами [13] он может быть отнесен к умеренно-опасным веществам (3-й класс опасности).

Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью программы STATISTICA 12.0 (StatSoft Inc.; США). Оценку нормальности распределения признаков осуществляли с помощью критерия Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. Достоверность различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью параметрического критерия Стьюдента. Уровень значимости для использованных методов был установлен как $p \leq 0,05$.

Таблица 1. Дизайн эксперимента

Основные показатели	Группы животных			
	Экспериментальные			Контрольная
	1-я	2-я	3-я	
Число животных в группе	18	18	19	10
Вводимые вещества	Дигидробромид 2-(3,4-дигидроксифенил)-9-диэтиламино-этилимидазо[1,2-а]бензимидазола			Физиологический раствор
Разовые дозы, мг/кг	50	220	500	
Длительность введения	10 дней			
Вводимые объемы	0,5 мл в сутки			
Способ введения вещества	Внутрижелудочно, назогастральным зондом			

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты оценки противоопухолевой эффективности РУ-185 при внутрижелудочном введении представлены в табл. 2. Применение РУ-185 в исследуемых дозах по-разному влияло на продолжительность жизни животных в трех группах. Достоверное увеличение продолжительности жизни животных наблюдали только во 2-й группе, для которой показатель Т/С составил 162,3%. Продолжительность жизни животных в 3-й группе была выше контроля, но Т/С статистически значимо не отличался от контрольных показателей. Продолжительность жизни животных в 1-й группе, наоборот, была снижена относительно контроля.

Динамику роста первичной опухоли оценивали на 1-е, 7-е и 14-е сутки после окончания введения субстанции по объемам опухоли. Объемы первичного очага различались в группах уже в 1-е сутки после перевивки опухоли. При применении РУ-185 в средней и большой дозе (2-я и 3-я группы) объем опухоли уменьшался относительно показателя контрольной группы, о чем свидетельствовал индекс ТРО. Впрочем, значимое изменение объемов опухоли к этому сроку исследования отмечено лишь для 2-й группы. В 1-й группе было обнаружено усиление роста опухоли, ее размеры превышали контроль в 1,5 раза ($p < 0,05$).

Измерение объемов опухолей на 7-е и 14-е сутки от момента окончания введения препаратов показало подобную динамику роста опухоли по сравнению с первыми сутками после введения в каждой исследуемой группе. Так, размеры опухоли в 1-й группе превышали контрольные показатели, тогда как во 2-й и 3-й группах они были уменьшены по сравнению с контрольной в 3,4 и 1,3 раза (на 7-е сутки) и 2,2 и 1,3 раза (на 14-е сутки) соответственно ($p < 0,05$). При этом индекс ТРО указывал на значимую эффективность применения субстанции

в разовой дозе 220 мг/кг, торможение роста опухоли отмечалось на сроке 14 суток после окончания лечения. Важно также, что в этой же группе у 20% животных был отмечен и регресс опухоли (табл. 2), подтвержденный данными некропсии на момент вывода животных из эксперимента.

Интересно, что исследуемая субстанция при ее внутрижелудочном применении обладает и антиметастатическим действием в отношении LLC (табл. 3).

Данный эффект выражается в снижении как частоты метастазирования, так и количества метастатических узлов в легком животных, наблюдавшемся в 1-й и во 2-й группах. Выявлено выраженное снижение частоты метастазирования и количества метастатических узлов в легком животных в 1-й и 2-й группах: число метастазов в этих группах было меньше относительно контроля в 2,6 и 3,1 раза соответственно, а ИИМ составил 68,1% и 80% соответственно. В 3-й группе животных при применении большой дозы препарата также обнаружено ингибирование метастазирования.

Таким образом, можно заключить, что РУ-185 при его внутрижелудочном применении обладает противоопухолевой активностью в отношении экспериментальной злокачественной опухоли легкого, индуцируемой клеточной линией карциномы LLC, тормозя как ее рост, так и метастазирование. При разовой дозе, равной 220 мг/кг, отмечено также увеличение средней продолжительности жизни животных, а в 20% случаев у животных к 14 суткам после начала лечения наблюдался регресс опухоли. Наиболее выраженный противоопухолевый и антиметастатический эффект исследуемого производного бензимидазола отмечен при дозе 220 мг/кг. Снижение количества метастазов в легком, а также частоты метастатического поражения, характеризуемой индексом ингибирования метастазирования, наблюдавшееся для

Таблица 2. Влияние дигидробромид 2-(3,4-дигидроксифенил)-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола при внутрижелудочном введении на динамику роста LLC

Разовая доза, мг/кг	Т/С, %	Объем опухоли (см ³), $M \pm m$ (ТРО, %)		
		сутки после окончания лечения		
50	94,3	2,34 ± 0,42	8,63 ± 1,3 ^{1,2}	10,4 ± 0,52
220	162,3	0,41 ± 0,3 ^{1,2}	2,04 ± 0,5 ^{1,2}	4,5 ± 0,11,2 (55,0) – 80% животных 0 (100) – 20% животных
500	112,9	1,08 ± 0,45 ^{1,2} (30,1)	5,21 ± 1,21,2 (22,1)	7,4 ± 0,3 ^{1,2} (28,6)
Контроль	0	1,56 ± 1,4	6,7 ± 0,4	9,8 ± 0,7

Примечание: 1 — различия достоверны относительно контроля ($p < 0,05$); 2 — различия достоверны относительно подгрупп экспериментальной группы ($p < 0,05$).

Таблица 3. Влияние дигидробромид 2-(3,4-дигидроксифенил)-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола при внутрижелудочном введении на метастазирование LLC

Разовая доза, мг/кг	Число метастазов на одного животного	ИИМ, %
50	12,3 ± 1,0 ^{1,2}	68,1 ± 2,1 ^{1,2}
220	10,3 ± 0,6 ^{1,2}	80,0 ± 3,1 ^{1,2}
500	27,5 ± 0,9 ²	13,9 ± 1,1
Контроль	32,2 ± 1,2	–

Примечание: 1 — различия достоверны относительно контроля ($p < 0,05$); 2 — различия достоверны относительно подгрупп экспериментальной группы ($p < 0,05$).

всех исследуемых доз, свидетельствует о выраженном антиметастатическом эффекте РУ-185 в отношении легочных метастазов LLC.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранние исследования влияния РУ-185 на рост и развитие подкожно перевитой меланомы В16 при внутрижелудочном введении животным показали, что субстанция оказывает большее ингибирующее влияние на метастазирование в легких, чем на рост первичной опухоли [14, 15]. Однако в настоящем исследовании выявлено выраженное противоопухолевое действие как на первичную, так и на метастатическую опухоль экспериментальной LLC. Возможно, особенности в противоопухолевой эффективности исследуемой субстанции в отношении первичной опухоли связаны с различиями фенотипических характеристик меланомы и опухоли легкого [16, 17]. Выявленное ингибирование метастазирования этих различных типов опухолей в ткань легкого наводит на мысль о существовании общих факторов, определяющих адаптацию опухолевых клеток к метастатической нише и рост метастазов в конкретной метаболической среде, обуславливая механизм действия изученной субстанции [18]. Метастатический протеом и транскриптом опухоли динамически модулируются

метаболом. Индуцированные метаболом сигнальные каскады могут управлять опухолевой агрессией и метастазированием посредством различных путей, участвующих на каждом этапе каскада метастазирования [19]. Однако для подтверждения предположения о возможных механизмах противоопухолевого действия изученной фармакологической субстанции необходимы дальнейшие исследования.

ВЫВОДЫ

Фармакологическая субстанция РУ-185 при введении внутрижелудочно в разовой дозе 220 мг/кг однократно в день оказывает противоопухолевое действие, что выражается в достоверном увеличении продолжительности жизни животных, снижении скорости роста первичной опухоли, а также частоты развития и количества легочных метастазов экспериментальной эпидермоидной LLC. Антиметастатическое действие субстанции в отношении данной перевиваемой опухоли показано также в дозах 50 и 500 мг/кг. Выяснение метаболических механизмов антитуморогенного и антиметастатического эффекта изученной химической субстанции позволит выявить ее терапевтические мишени и использовать в качестве фармакологического препарата в клинической практике для лечения онкопатологии легкого.

Литература

1. Кит О. И., Шапошников А. В., Златник Е. Ю., Никипелова Е. А., Новикова И. А. Местный клеточный иммунитет при аденокарциноме и полипах толстой кишки. Сибирское медицинское обозрение. 2012; 4 (76): 11–16.
2. Кит О. И., Франциянц Е. М., Никипелова Е. А., Комарова Е. Ф., Козлова Л. С., Таварян И. С., и др. Изменения маркеров пролиферации, неоангиогенеза и системы активации плазминогена в ткани рака прямой кишки. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2015; 2 (114): 40–45.
3. Bashraheel SS, Domling A, Goda SK. Update on targeted cancer therapies, single or in combination, and their fine tuning for precision medicine. *Biomed Pharmacother*. 2020; 125: 110009.
4. Silva-Santisteban MC, Westwood IM, Boxall K. Fragment-based screening maps inhibitor interactions in the ATP-binding site of checkpoint kinase 2. *PLoS One*. 2013; 8 (6): e65689.
5. Penning TD, Zhu G-D, Gandhi VB, Gong J, Liu X, Shi Y, et al. Discovery of the Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP) Inhibitor 2-[(R)-2-Methylpyrrolidin-2-yl]-1H-benzimidazole-4-carboxamide (ABT-888) for the Treatment of Cancer. *J Med Chem*. 2009; 52: 514.
6. Ali I, Lone MN, Aboul-Enein H.Y. Imidazoles as potential anticancer agents. *Medchemcomm*. 2017; 8 (9): 1742–73.
7. Torres FC, Garcia-Rubino ME, Lozano-Lopez C, Kawano DF, Eifer-Lima VL, von Poser GL. Imidazoles and benzimidazoles as tubulin-modulators for anti-cancer therapy. *Curr Med Chem*. 2015; 14: 306–18.
8. Khatlab M. Theoretical study of the geometric and electronic characterization of carbendazim-based drug (Nocodazole). *Heliyon*. 2020; 6 (6): e04055.
9. Blaszczak-Swiatkiewicz K, Olszewska P, Mikiciuk-Olasik E. Biological approach of anticancer activity of new benzimidazole derivatives. *Pharmacological Reports*. 2014; 66 (1): 100–6.
10. Marcian E, Dort V, Hong H, Wang H, Nino CA, Lombardi RL. Discovery of Bifunctional Oncogenic Target Inhibitors against Allosteric Mitogen-Activated Protein Kinase (MEK1) and Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K). *Journal of Medicinal Chemistry*. 2016; 59 (6): 2512–22.
11. Анисимова В. А., Косолапов В. А., Минкин В. И., и др., патентообладатель. Дигидробромид 9-(3,4-дигидроксифенил)-9-диэтиламино-этилимидазо[1,2-а]бензимидазола и фармацевтическая композиция на его основе. Патент РФ № 2391979/ 12.05.2008.
12. Межгосударственный стандарт. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. ГОСТ 12.1.007-76. Доступно по ссылке: <https://docs.cntd.ru/document/5200233>.
13. Миронова А. Н., редактор. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1, М.: Гриф и К, 2013; 944 с.
14. Кит О. И., Комарова Е. Ф., Спасов А. А., Морковник А. С., Жуковская О. Н., Коробейникова Е. П., Ванжа Л. В., Шихлярова А. И., Брагина М. И., Бартенева Т. А., Лукбанова Е. А., Ширнина Е. А., Златник Е. Ю., Новикова И. А., Позднякова В. В.,

- Максимов А. Ю., Анисимова В. А., авторы; ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии», патентообладатель. Средство для ингибирования метастазирования в легких. Патент РФ № 2632703. 12.12.2016.
15. Комарова Е. Ф., Шихлярова А. И., Брагина М. И., Ширнина Е. А., Бартенева Т. А., Коробейникова Е. П. и др. Оценка противоопухолевой активности антиоксиданта эноксифол на модели меланомы V16 в эксперименте. Известия Вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2017; 3–2: 67–73.
 16. Aminzadeh-Gohari S, Weber DD, Catalano L, Feichtinger RG, Kofler B, Lang R. Targeting Mitochondria in Melanoma. *Biomolecules*. 2020; 10 (10): 1395.
 17. Wu M. Multiparameter metabolic analysis reveals a close link between attenuated mitochondrial bioenergetic function and enhanced glycolysis dependency in human tumor cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007; 292: 125–36.
 18. Ohshima K, Morii E. Metabolic Reprogramming of Cancer Cells during Tumor Progression and Metastasis. *Metabolites*. 2021; 11 (1): 28.
 19. Wei Q, Qian Y, Yu J, Wong CC. Metabolic rewiring in the promotion of cancer metastasis: mechanisms and therapeutic implications. *Oncogene*. 2020; 39 (39): 6139–56.

References

1. Kit OI, Shaposhnikov AV, Zlatnik EYu, Nikipelova EA, Novikova IA. Mestnyy kletochnyy immunitet pri adenokarcinome i polipah tolstoj kishki. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie*. 2012; 4 (76): 11–16. Russian.
2. Kit OI, Franciyanc EM, Nikipelova EA, Komarova EF, Kozlova LS, Tavarjan IS, i dr. Izmeneniya markerov proliferacii, neoangiogeneza i sistemy aktivacii plazminogena v tkani raka prjamoj kishki. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija*. 2015; 2 (114): 40–45. Russian.
3. Bashraheel SS, Domling A, Goda SK. Update on targeted cancer therapies, single or in combination, and their fine tuning for precision medicine. *Biomed Pharmacother*. 2020; 125: 110009.
4. Silva-Santisteban MC, Westwood IM, Boxall K. Fragment-based screening maps inhibitor interactions in the ATP-binding site of checkpoint kinase 2. *PLoS One*. 2013; 8 (6): e65689.
5. Penning TD, Zhu G-D, Gandhi VB, Gong J, Liu X, Shi Y, et al. Discovery of the Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP) Inhibitor 2-[(R)-2-Methylpyrrolidin-2-yl]-1H-benzimidazole-4-carboxamide (ABT-888) for the Treatment of Cancer. *J Med Chem*. 2009; 52: 514.
6. Ali I, Lone MN, Aboul-Enein H.Y. Imidazoles as potential anticancer agents. *Medchemcomm*. 2017; 8 (9): 1742–73.
7. Torres FC, Garcia-Rubino ME, Lozano-Lopez C, Kawano DF, Eifler-Lima VL, von Poser GL. Imidazoles and benzimidazoles as tubulin-modulators for anti-cancer therapy. *Curr Med Chem*. 2015; 14: 306–18.
8. Khattab M. Theoretical study of the geometric and electronic characterization of carbendazim-based drug (Nocodazole). *Heliyon*. 2020; 6 (6): e04055.
9. Blaszcak-Swiatkiewicz K, Olszewska P, Mikiciuk-Olasik E. Biological approach of anticancer activity of new benzimidazole derivatives. *Pharmacological Reports*. 2014; 66 (1): 100–6.
10. Marcian E, Dort V, Hong H, Wang H, Nino CA, Lombardi RL. Discovery of Bifunctional Oncogenic Target Inhibitors against Allosteric Mitogen-Activated Protein Kinase (MEK1) and Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K). *Journal of Medicinal Chemistry*. 2016; 59 (6): 2512–22.
11. Anisimova VA, Kosolapov VA, Minkin VI, i dr., patentoobladatel'. Digidrobromid 9-(3,4-digidroksifenil)-9-dijetilamiino-jetilimidazo[1,2-a]benzimidazola i farmacevticheskaja kompozicija na ego osnove. Patent RF # 2391979/ 12.05.2008.
12. Mezhgosudarstvennyj standart. Sistema standartov bezopasnosti truda. Vrednye veshhestva. Klassifikacija i obshhie trebovanija bezopasnosti. GOST 12.1.007-76. Dostupno po ssylke: <https://docs.cntd.ru/document/5200233>.
13. Mironova AN, redaktor. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. Chast 1, M.: Grif i K, 2013; 944 s.
14. Kit OI, Komarova EF, Spasov AA, Morkovnik AS, Zhukovskaya ON, Korobejnjkova EP, Vanzha LV, Shihljjarova AI, Bragina MI, Barteneva TA, Lukbanova EA, Shimina EA, Zlatnik EJu, Novikova IA, Pozdnjakova VV, Maksimov AJu, Anisimova VA, avtory; FGBU «Nacional'nyj medicinskij issledovatel'skij centr onkologii», patentoobladatel'. Sredstvo dlja ingibirovanija metastazirovanija v legkih. Patent RF # 2632703. 12.12.2016. Russian.
15. Komarova EF, Shihljjarova AI, Bragina MI, Shimina EA, Barteneva TA, Korobejnjkova EP, i dr. Ocenka protivopuholevoj aktivnosti antioksidanta jenoksifol na modeli melanomy V16 v jeksperimente. *Izvestija Vuzov. Severo-Kavkazskij region. Estestvennye nauki*. 2017; 3–2: 67–73. Russian.
16. Aminzadeh-Gohari S, Weber DD, Catalano L, Feichtinger RG, Kofler B, Lang R. Targeting Mitochondria in Melanoma. *Biomolecules*. 2020; 10 (10): 1395.
17. Wu M. Multiparameter metabolic analysis reveals a close link between attenuated mitochondrial bioenergetic function and enhanced glycolysis dependency in human tumor cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007; 292: 125–36.
18. Ohshima K, Morii E. Metabolic Reprogramming of Cancer Cells during Tumor Progression and Metastasis. *Metabolites*. 2021; 11 (1): 28.
19. Wei Q, Qian Y, Yu J, Wong CC. Metabolic rewiring in the promotion of cancer metastasis: mechanisms and therapeutic implications. *Oncogene*. 2020; 39 (39): 6139–56.