

АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 4-МЕТИЛБЕНЗАМИДА, СОДЕРЖАЩИХ ФРАГМЕНТЫ ПУРИНА И 3-(ТРИФТОРМЕТИЛ)АНИЛИНА

Фарина А.В., Божок Т.С., Панибрат О.В., Калиниченко Е.Н.

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»

Минск, Беларусь

farina@iboch.by, tbozhok@iboch.by,

panibrat@iboch.by, kalinichenko@iboch.by

В работе исследована способность 10 новых производных 4-метилбензамида, содержащих фрагменты пурина и 3-(трифторметил)анилина, ингибировать *in vitro* клеточные линии опухолевых заболеваний: MCF-7, HeLa, HepG2, A549, OKP-GS, K-562, HL-60. Для ряда исследуемых соединений была обнаружена высокая и селективная ингибирующая активность с лучшим результатом IC_{50} 1 мкмоль против лейкозной линии HL-60.

Ключевые слова: рак, МТТ-тест, ингибиторы протеинкиназ

ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF NOVEL 4-METHYLBENZAMIDE DERIVATIVES CONTAINING FRAGMENTS OF PURINE AND 3- (TRIFLUOROMETHYL)ANILINE.

Farina A.V., Bozhok T.S., Panibrat O.V., Kalinichenko E.N.

Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences

Minsk, Belarus,

Annotation. *In the study inhibitory activity in vitro of novel 4-methylbenzamide derivatives containing fragments of purine and 3-(trifluoromethyl)aniline against MCF-7, HeLa, HepG2, A549, OKP-GS, K-562 and HL-60 cancer cell lines was studied. Several compounds showed high cell inhibition with best result of IC_{50} 1 μ mol for HL-60 cells.*

Keywords: *cancer, MTT-test, protein kinase inhibitors.*

Введение. В последние десятилетия наблюдается значительный прогресс в лечении онкозаболеваний, который связан во многом с введением в лечебную практику таргетных противоопухолевых препаратов, действующих на биологические мишени, чаще всего белковые, специфические для конкретного заболевания. В ряде случаев такой подход позволяет добиться крайне высокого отклика на терапию, как например в случае использования ингибиторов протеинкиназ (иматиниб, нилотиниб) для лечения хронического миелоидного лейкоза [1]. Тем не менее, для многих случаев неоперабельных диагнозов прогноз лечения низкомолекулярными препаратами остается нестабильным, и поиск новых химических соединений, обладающих противоопухолевой активностью, по-прежнему остается одной из важнейших научных задач.

Цель и задачи исследования. Целью настоящего исследования являлось изучение способности новых производных 4-метилбензамида, содержащих фрагменты пурина и 3-(трифторметил)анилина и обладающих высоким фармакофорным сходством с известными ингибиторами протеинкиназ [2], ингибировать *in vitro* клеточные линии различных опухолевых заболеваний для

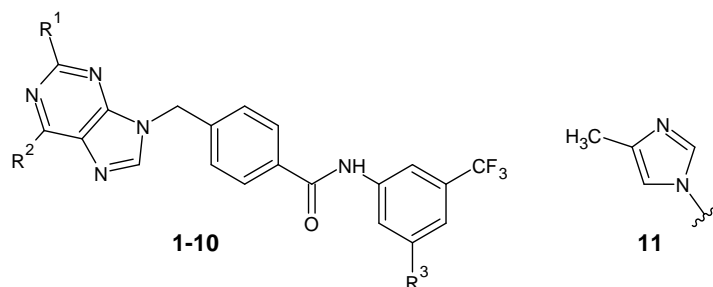
выявления соединений-лидеров для создания на их основе новых противоопухолевых препаратов.

Материалы и методы. Для определения IC_{50} (концентрация вещества, при которой происходит снижение жизнеспособности клеток на 50%) исследуемых соединений использовали МТТ-тест. Клетки опухолевых линий MCF-7, A549, ОКР-GS, HepG2, HeLa, сажали в 96-луночный планшет в концентрации $5 \cdot 10^3$ клеток / лунку и инкубировали 24 часа. На следующий день добавляли тестируемые вещества в концентрациях 0,1, 1, 10, 50 мкмоль. Клетки опухолевых линий K-562 и HL-60, сажали в 96-луночный планшет в концентрации $1 \cdot 10^4$ клеток / лунку и сразу добавляли тестируемые вещества в концентрациях 0,1, 1, 10, 50 мкмоль. Исходная концентрация препаратов – 20 ммоль, раствор в ДМСО. В контроль добавляли 0,5% ДМСО. Препараты разводили до конечных концентраций последовательно инкубационной средой. После 72 ч культивирования клеток с исследуемыми препаратами в стандартных условиях (37°C, 5% CO_2 , 92% влажность) в каждую лунку 96-луночного планшета добавляли 20 мкл МТТ в концентрации 5 мг/мл. Через 4 ч экспозиции при 37°C и 5% CO_2 клетки восстанавливали желтый МТТ до темно-фиолетовых гранул формазана. Гранулы формазана растворяли в 200 мкл ДМСО, количество восстановленного продукта измеряли фотометрически при длине волны 570 нм на планшетном анализаторе АИФ-М/340. Конечное значение IC_{50} определялось как среднее по двум экспериментам.

Результаты и обсуждение. Структуры исследуемых соединений **1-10** и полученные для них значения IC_{50} представлены в таблице 1. В качестве соединений сравнения использовались известные ингибиторы протеинкиназ: иматиниб и сорафениб. Сорафениб существенно ингибировал рост всех опухолевых клеток. Для иматиниба значение IC_{50} в отношении клеточной линии хронического миелоидного лейкоза (K-562) оказалось меньше 1 мкмоль, что соответствует его литературному биологическому профилю [3]. Соединения **1** и **2**, содержащие два атома хлора в положениях 2 и 6 пуриновой гетероциклической системы продемонстрировали наиболее высокую активность в отношении всех используемых клеточных линий с лучшим значением IC_{50} равным 1 мкмоль. При этом наиболее активно ингибировались лейкозные клеточные линии K-562 и HL-60. Также значительная ингибирующая способность была обнаружена у соединений **5** и **6**, содержащие атом хлора и метокси-группу в положениях 2 и 6 пуринового фрагмента соответственно. Соединения, содержащие в 6-ом положении аминогруппу были наименее активными. Исходя из полученных результатов, введение имидазольного фрагмента **11** в структуру терминального бензольного кольца, по-видимому, не оказывает существенного влияния на биологические свойства исследуемых производных 4-метилбензамида. Скорее всего, именно структура пуринового фрагмента в наибольшей степени модулирует активность соединений **1-10**. Кроме того, перспективным подходом для их дальнейшей модификации, вероятно, может быть введение различных групп в структуру 4-метилбензамидного линкера. Стоит также отметить, что наблюдаемый во многих случаях противоопухолевый эффект по большей части неспецифичен к конкретной клеточной линии. Исходя из полученных данных, нельзя

предположить конкретный механизм противоопухолевого действия целевых соединений.

Таблица 1. Результаты исследования антипролиферативной активности новых производных 4-метилбензамида



Соед.	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ , мкмоль						
				MCF-7	HeLa	HepG2	A549	OKP-GS	K-562	HL-60
1	Cl	Cl	11	8	6	13	18	25	3	2
2	Cl	Cl	H	12	7	11	6	5	2	1
3	F	NH ₂	H	н/а*	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	94
4	F	NH ₂	11	н/а	н/а	44	н/а	н/а	н/а	30
5	Cl	OMe	11	67	34	29	20	11	27	50
6	Cl	OMe	H	14	15	9	13	16	30	26
7	H	NH ₂	H	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
8	H	NH ₂	11	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
9	Cl	NH ₂	11	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а	н/а
10	Cl	NH ₂	H	59	н/а	н/а	н/а	н/а	16	н/а
иматиниб	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	10
сорафениб	-	-	-	14	7	8	6	14	3	-

н/а – нет активности; «-» – не изучалась

Заключение. В условиях проведенного эксперимента ряд производных 4-метилбензамида, содержащие фрагменты пурина и 3-(трифторметил)-анилина, продемонстрировали высокий противоопухолевый эффект и могут являться перспективными объектами для дальнейшей дериватизации и поиска на их основе новых химических соединений с высокой биологической активностью.

Список литературы

1. Kinase-targeted cancer therapies: progress, challenges and future directions / K. S. Bhullar [et al.] // Mol. Cancer. - 2018. - Vol. 17, iss. 1. - P. 48.
2. Synthesis, Biological Activities and Docking Studies of Novel 4-(Arylaminoethyl)benzamide Derivatives as Potential Tyrosine Kinase Inhibitors / E. Kalinichenko, A. Faryna, V. Kondrateva, A. Vlasova, V. Shevchenko, A. Melnik, O. Avdoshko, A. Belko // Molecules. - 2019. - Vol. 24, iss. 19. - P. 3543-3568.
3. Waller, C. F. Imatinib Mesylate / C. F. Waller // Recent. Results. Cancer Res. - 2018. - Vol. 212. - P. 1-27.