

**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ
2'-ФТОР-ЗАМЕЩЕННОГО ПРОИЗВОДНОГО ДЕЦИТАБИНА
В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VIVO* НА МОДЕЛИ ПЕРЕВИВАЕМОГО
ГЕМОБЛАСТОЗА P388D1**

**Зильберман Р.Д., Божок Т.С., Панибрат О.В.,
Савин А.О., Винникова О.В., Калиниченко Е.Н.**
ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»
Минск, Беларусь,

labtox@iboch.by, tbozhok@iboch.by, panibrat@iboch.by,
labtox@iboch.by, labtox@iboch.by, kalinichenko@iboch.by

*Публикация посвящена исследованию эффективности нового синтетического фторсодержащего производного децитабина – 4-амино-1-(2-дезоксидецил)-1,3,5-триазин-2(1H)-она (2'-F-5-aza-dCyd), полученного на базе НПЦ «ХимФармСинтез». Исследования *in vitro*, проведенные нами ранее, продемонстрировали высокую цитостатическую активность 2'-F-5-aza-dCyd в отношении клеточных линий острого миелогенного лейкоза [1] при сравнимых с известными аналогами показателях острой токсичности [2]. В экспериментах *in vivo* на модели перевиваемого гемобластома мышей (P388D1) впервые продемонстрирована противолейкозная активность 2'-F-5-aza-dCyd: однократное введение в диапазоне доз 0,5–10 мг/кг вызывало увеличение продолжительности жизни мышей на 77–176%.*

Ключевые слова: децитабин; фтораналог; противолейкозная активность; P388D1.

**ANTITUMOR ACTIVITY OF 2'-FLUORINE-SUBSTITUTED DECITABIN
DERIVATIVE *IN VIVO* ON P388D1 HEMOBLASTOSIS MODEL**

**Zilberman R.D., Bozhok T.S., Panibrat O.V.,
Savin A.O., Vinnikova O.V., Kalinichenko E.N.**
Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences
Minsk, Belarus

*The publication is dedicated to the investigation of the biological activity of a new synthetic fluorine-containing analogue of decitabine – 4-amino-1-(2-deoxy-2-fluoro-β-D-arabinofuranosyl)-1,3,5-triazin-2(1H)-one (2'-F-5-aza-dCyd), obtained at the Scientific and Production Center “ChemPharmSynthesis”. *In vitro* studies carried out by us earlier showed cytostatic activity of 2'-F-5-aza-dCyd against acute myelogenous leukemia cell lines [1] with indicators of acute toxicity comparable to known analogues [2]. *In vivo* experiments was performed on a model of transplanted hematological malignancies in mice (P388D1). The antileukemic activity of 2'-F-5-aza-dCyd was demonstrated for the first time: a single administration in the dose range of 0.5 – 10 mg/kg resulted in increase of the mice lifespan by 77 – 176%.*

Key words: decitabine; fluoro analogue; antileukemic activity; P388D1.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено на половозрелых (2-2,5 месяцев) самках мышей (гибридах первого поколения ♀C57Bl/6 × ♂DBA₂, далее – BDF₁) с массой тела 20,5 ± 1,5 г ($\bar{X} \pm SD$, n=49).

Животные получены в виварии ИБОХ НАН Беларуси. При проведении исследований учитывали рекомендации Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств [3], соблюдены принципы гуманного обращения с лабораторными животными [4].

Модель перевиваемого гемобластома мышей P388D1 формировали путем однократной внутрибрюшинной инокуляции суспензии клеток линии P388D1 (10^6 клеток в 0,2 мл среды 199 на мышь). Суспензию получали путем разбавления асцита, полученного от самок-опухоленосителей DBA₂ (2-10 генерации), культуральной средой до необходимой концентрации клеток.

После инокуляции опухолевых клеток животных объединяли в группы в зависимости от дозы и вводимого соединения: 1) контроль, n=8 (раствор хлорида натрия, 0,9%); 2) 2'F-5-aza-dCyd в дозе 0,5 мг/кг, n=7; 3) 2'F-5-aza-dCyd в дозе 1,0 мг/кг, n=8; 4) 2'F-5-aza-dCyd в дозе 2,0 мг/кг, n=8; 5) 2'F-5-АЦ в дозе 10,0 мг/кг, n=10; 6) децитабин (препарат сравнения) в дозе 2,0 мг/кг, n=8.

Субстанции 2'F-5-aza-dCyd и децитабина получены на НПЦ «ХимФармСинтез» с содержанием действующего вещества $\geq 99,0\%$. Рабочие растворы соединений готовили непосредственно перед введением путем растворения навесок исследуемых веществ в 0,9% растворе хлорида натрия. Рабочие растворы вводили однократно внутривенно спустя 24 часа после инокуляции опухолевых клеток.

Регистрировали продолжительность жизни мышей-опухоленосителей и любые изменения внешнего вида, двигательной и поведенческой активности. Оценку противоопухолевого эффекта проводили по увеличению продолжительности жизни (УПЖ%) и соотношению средней продолжительности жизни (СПЖ) опытной и контрольной групп (Т/С%) [3].

Результаты и их обсуждение. В первую неделю наблюдения каких-либо признаков токсического действия как 2'F-5-aza-dCyd, так и децитабина у животных отмечено не было: масса тела без значимых отклонений, шерсть гладкая, блестящая, двигательная активность и поведенческие реакции в пределах нормы. В дальнейшем с развитием опухолевого процесса у животных всех групп исследования отмечали: пилоэрекцию, сгорбленную позу, прогрессирующий асцит, снижение двигательной активности и тонуса скелетной мускулатуры, снижение реакций на внешние раздражители.

У животных, получавших 2'F-5-aza-dCyd в диапазоне доз 0,5 – 10 мг/кг, отмечено значимое увеличение продолжительности жизни относительно контроля от 77% (минимальное значение для животных с лейкозами) до 176% (выраженная активность) (см. таблицу). Полученные данные предполагают наличие зависимости эффекта от дозы 2'F-5-aza-dCyd, однако для установления ее характера требуются дополнительные исследования. Сравнительная оценка противоопухолевой эффективности 2'F-5-aza-dCyd и децитабина в эквимоллярных эффективных дозах (2 мг/кг) указывает на большую активность 2'F-5-aza-dCyd: на $\approx 30\%$ выше СПЖ животных при $p < 0,05$ (точный критерий Фишера) и на 53% – УПЖ.

Заключение. В экспериментах на животных-опухоленосителях продемонстрирована высокая противоопухолевая активность 2'F-5-aza-dCyd, предполагающая дозозависимость эффекта. В эквимоллярной дозе 2'F-5-aza-dCyd более

активен, чем децитабин, при сравнимом уровне общей токсичности. Учитывая короткий период полувыведения обоих соединений, мы предполагаем усиление эффективности 2'F-5-aza-dCyd при многократном введении.

Таблица – Результаты эксперимента по оценке противоопухолевого эффекта 2'F-5-aza-dCyd и децитабина в опытах на мышах-опухоленосителях P388D1 после однократного внутривенного введения

Соединение, доза	СПЖ, сутки ($\bar{X} \pm SD$)	УПЖ %	T/C, %	Активность
Контроль (физраствор)	15,4 ± 1,6	-	-	-
2'F-5-aza-dCyd, 0,5 мг/кг	27,3 ± 4,4	77	177	++
2'F-5-aza-dCyd, 1 мг/кг	32,9 ± 12,9*	114	214	+++
2'F-5-aza-dCyd, 2 мг/кг	35,4 ± 8,4*#	130	231	+++
2'F-5-aza-dCyd 10 мг/кг	39,5 ± 7,5*	176	276	+++
Децитабин, 2 мг/кг	27,3 ± 4,4	77	177	++

Примечание: * – различия 2'F-5-aza-dCyd с контролем статистически значимы при $p < 0,05$ (оценка по методу Краскелла-Уоллиса с использованием критерия Данна для множественных сравнений); # – различия между группами 2'F-5-aza-dCyd (2 мг/кг) и децитабина (2 мг/кг) статистически значимы при $p < 0,05$ (точный критерий Фишера).

Список литературы

1. Bozhok, T. S. Synthesis, hydrolytic stability, and antileukemic activity of azacytidine nucleoside analogs / T. S. Bozhok, E. N. Kalinichenko, B. V. Kuz'mitskii, M. V. Golubeva // Pharm. Chem. J. – 2012. – Vol. 2, №12. – P.804-809.
2. Божок, Т. С. Сравнительное исследование острой токсичности 2'-дезоксидезокси-2'-фтор-5-азациитидина, азациитидина и децитабина / Т. С. Божок Р. Д. Зильберман, А. О. Савин, В. К. Левченко, Е. В. Санько-Счисленок, А. И. Зильберман, В. М. Насек, Е. Н. Калиниченко // Международная научно-практическая конференция «Белорусские лекарства»: материалы междунар. науч. конф., Минск, 10-11 октября 2019. – Минск, 2019. – С. 23-26.
3. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Миронов А.Н. [и др.], под ред. А.Н. Миронов. – Москва: Гриф и К, 2012. – 944 с.
4. Guide for the care and use of laboratory animals: National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. – Washington, D. C.: Nat. acad. press, 1996. – 154 p.