

ИНГИБИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ НОВЫХ СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ ВОРИНОСТАТА В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

Терпинская Т.И.¹, Лисовская М. В.², Янченко Т.Л.¹,
Полукошко Е.Ф.¹, Михальчук А.Л.²

¹Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси

²Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси

Актуальность. Эпигенетические изменения активности генов, то есть наследуемые изменения синтеза белков без изменения нуклеотидной последовательности ДНК, рассматриваются как один из механизмов онкогенеза. Эпигенетическая регуляция клеточных процессов осуществляется посредством ряда механизмов, важнейшим из которых является ассоциация ДНК с гистонами и негистоновыми белками при образовании хроматина. Посттрансляционные модификации гистоновых белков обеспечивают регуляцию транскрипции генов. В такой модификации участвует ряд ферментов, включая гистондеацетилазы (HDAC), которые деацетилируют N-концевые лизиновые остатки гистонов и ряда негистоновых белков. Это способствует более конденсированной структуре хроматина и делает его менее доступным для транскрипционного аппарата. Деацетилирование негистоновых белков приводит к изменению путей передачи сигнала, регулируя физиологические функции клеток и их пролиферацию. Для многих опухолей характерно нарушение процессов деацетилирования и сверхэкспрессия гистондеацетилаз. Ингибиторы HDAC тормозят опухолевый рост и способствуют апоптозу раковых клеток, благодаря чему находят применение в клинической практике. Например, воринонат (субероиланилид гидроксамовая кислота, SAHA) используется для лечения кожной Т-клеточной лимфомы [1]. Все это обуславливает интерес к детальному исследованию роли гистондеацетилаз в патогенезе опухолей и к разработке новых ингибиторов HDAC с противоопухолевым эффектом.

Цель работы – синтез SAHA и её новых структурных аналогов из класса пара-замещенных анилидов и исследование их противоопухолевой активности в экспериментах *in vitro*.

Материалы и методы исследования.

Синтез соединений: SAHA **1** получили по известной методике [2], её новые структурные аналоги – N-(4-(2-(гидроксиамино)-2-оксоэтокси)фенил)-бутирамид **2** и N-(4-(2-(гидроксиамино)-2-оксоэтокси)фенил)додеканамид **3** синтезировали из пара-аминофенола в несколько стадий.

Сперва проацилировали аминогруппу хлорангидами масляной и лауриновой кислот, затем проалкилировали фенольную группу метил хлор-ацетатом с образованием амидоэфиров, взаимодействием которых с гидроксилами получили соответствующие гидроксамовые кислоты **2** и **3**.

Реактивы, среды и компоненты сред для культивирования клеток: эмбриональная телячья сыворотка (ЭТС) (HyClone); трипсин 2,5%; среда DMEM 5648, антибиотики (пенициллин, стрептомицин, амфотерицин В), пропидиум йодид (все Sigma), флуоросферы FLOW-COUNT™ (Beckman Coulter).

Клетки. Клетки *Hela* (происхождение: человек, рак шейки матки) и клетки глиомы *C6* (глиома, крыса) из коллекции РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Республика Беларусь).

Проведение экспериментов: клетки глиомы *C6* или *Hela* высевали в лунки 96-луночных планшетов в среде DMEM с добавлением 10% ЭТС и антибиотиков. Вносили исследуемые соединения в дозе 0,5 мМ. Культивировали 48 ч, затем готовили клеточные пробы с использованием красителя пропидий йодида (для определения жизнеспособности) и флуоросфер (для определения концентрации клеток). Анализировали пробы методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II.

Результаты. Синтезированы САНА **1** и её новые структурные аналоги **2** и **3** со степенью чистоты 95-98% (согласно данным высокоэффективной жидкостной хроматографии). Структуры полученных соединений подтверждены данными спектроскопии ядерного магнитного резонанса.

Показано, что **3** в дозе 0,5 мМ при 48-часовом культивировании вызывало снижение жизнеспособности клеток *Hela* на 6%. Остальные исследуемые препараты не оказывали цитотоксического эффекта (рис. 1).

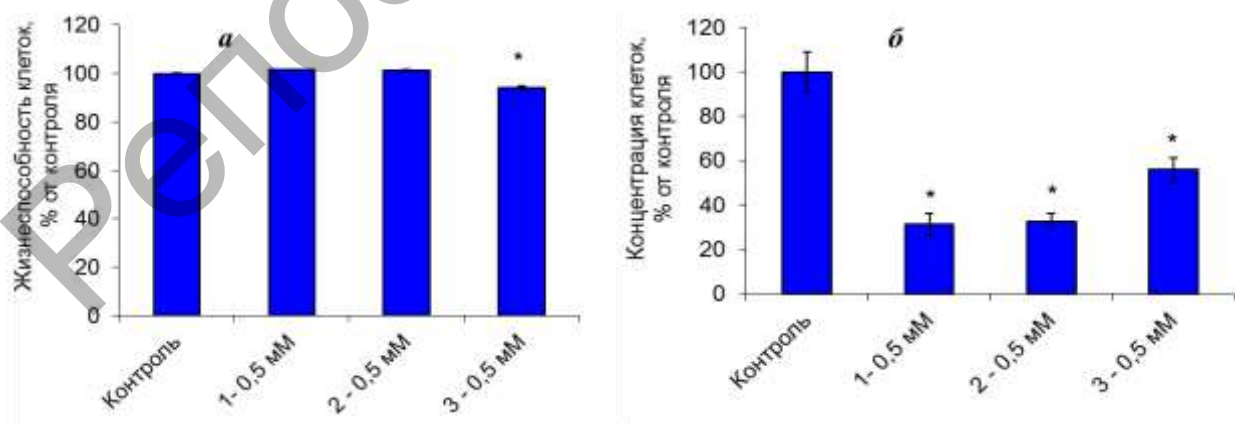


Рисунок 1 – Влияние исследуемых соединений на жизнеспособность (а) и пролиферацию (б) клеток *Hela* (n=12, объединены данные двух независимых экспериментов); * $p < 0,05$ при сравнении с контролем (тест Стьюдента)

Соединения **1** и **2** вызывали подавление пролиферации в 3 раза, а соединение **3** – в 2 раза (рис. 1б).

Опыты на клетках глиомы *C6* продемонстрировали, что соединения **2** и **3** в дозе 0,5 мМ снижали жизнеспособность клеток на 3%, SAHA в дозе 0,5 мМ при данных условиях не оказала цитотоксического эффекта, рис. 2а. Выявлено подавление пролиферации клеток исследуемыми соединениями в 1,2 – 1,6 раза, наиболее выраженным был эффект соединения **2**, рис. 2б.

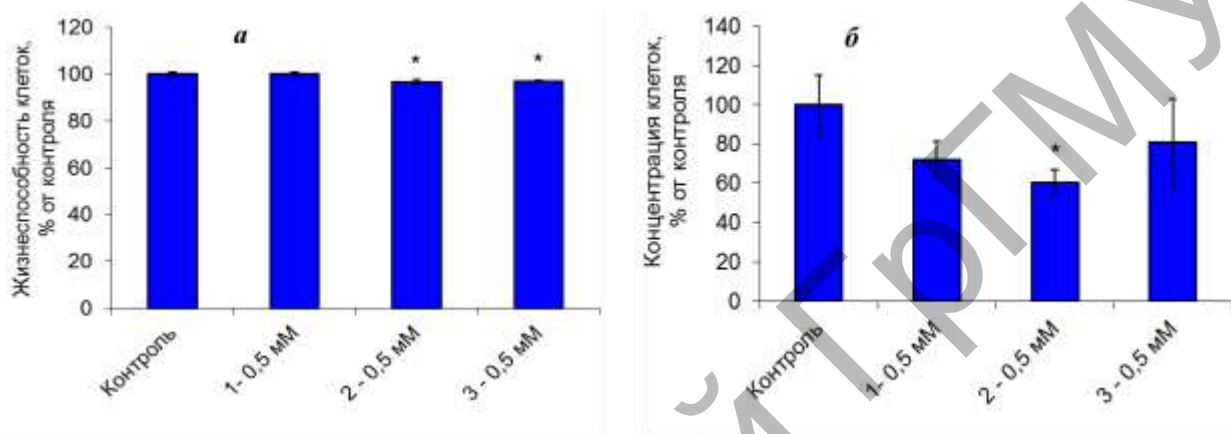


Рисунок 2 – Влияние исследуемых соединений на жизнеспособность (а) и пролиферацию (б) клеток глиомы *C6* (n=12, объединены данные двух независимых экспериментов);
* $p < 0,05$ при сравнении с контролем (тест Стьюдента)

Выводы. Были синтезированы два новых структурных аналога субероиланилид гидроксамовой кислоты. Биологические эксперименты показали, что полученные соединения в дозе 0,5 мМ практически не оказывают цитотоксический эффект на клетки *Hela* и глиомы *C6* при 48-часовом культивировании. В то же время соединения проявляют антипролиферативное действие, более выраженное в отношении клеток *Hela* и сопоставимое с действием стандартного препарата (SAHA).

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № X22УЗБ-019 от 04.05.2022).

Литература

1. The Development Process: from SAHA to Hydroxamate HDAC Inhibitors with Branched CAP Region and Linear Linker / F. Yang [et al.] // Chem Biodivers. – 2020. – Vol. 17, № 1. – P. e1900427. – Mode of access: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31793143/> – Date of access: 20.12.2022
2. Discovery of (2E)-3-{2-Butyl-1-[2-(diethylamino)ethyl]-1H-benzimidazol-5-yl}-N-hydroxyacrylamide (SB939), an Orally Active Histone Deacetylase Inhibitor with a Superior Preclinical Profile / H. Wang [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. – 2011. – Vol. 54, № 13. – P. 4694–4720.