

Хиляль Абдулла

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ, ЦИКЛИЧЕСКИХ И
АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК
ОТДЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ ЛИНИЙ

3.3.3. Патологическая физиология
1.5.4. Биохимия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2024

Работа выполнена на кафедре общей патологии и патологической физиологии имени В.А. Фролова медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор **Благонравов Михаил Львович**

доктор биологических наук, профессор **Сяткин Сергей Павлович**

Официальные оппоненты:

Давыдов Вадим Вячеславович

доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии Института фармации и медицинской химии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Сыроешкин Антон Владимирович

доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Ковалёва Ольга Владимировна

доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 09 » октября 2024 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.006 на базе ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6 и на сайте: <https://www.rudn.ru/science/dissovet>

Автореферат разослан « _____ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ПДС 0300.006

кандидат медицинских наук

Горячев Вячеслав Александрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Полиамины (ПА) (спермидин (Спд), спермин (Спм), путресцин) осуществляют регуляцию процессов клеточного роста, пролиферации и дифференцировки [Gamble L. D. et al., 2012; Damiani E. et al., 2018]. ПА необходимы для поддержания метаболизма эукариотических клеток, поскольку они участвуют во многих ключевых молекулярных процессах, включая транскрипцию генов, регуляцию функции белков, обеспечение стабильности клеточных мембран [Soda K. et al., 2013]. Повышение содержания ПА в клетках наблюдается в ходе эмбрионального развития и регенерации [Lenis Y. Y. et al., 2017], а также при различных патологических процессах, включая онкологические заболевания, паразитарные инфекции и др. [Velez N. et al., 2015; Vannier-Santos M. A. et al., 2017; Novita Sari I. et al., 2021]. Снижение уровня ПА за счет уменьшения скорости их синтеза или повышения активности катаболизма приводит к остановке клеточного цикла. Аккумуляция ПА при определенных условиях может индуцировать апоптоз [Murray-Stewart T. R. et al., 2016; Damiani E. et al., 2018]. В связи с этим обмен ПА играет важную роль в регуляции клеточного состава тканей. Химически модифицированные аналоги ПА могут рассматриваться в качестве перспективных модуляторов митотического деления клеток. На основе данных скрининга, выполненного *in vitro*, новые синтетические аналоги ПА классифицируют по их влиянию на скорость пролиферации клеток.

Одной из основных характеристик патогенеза опухолевого роста является метаболический атипизм, который выражается в значительных изменениях интенсивности и направленности обменных процессов в малигнизированных клетках [Korpenol W. H. et al., 2011]. При канцерогенезе наблюдается модуляция различных способов поглощения питательных веществ, что обеспечивает резкое увеличение скорости клеточной регенерации и, как следствие, стремительный рост новообразования [Lunt S. Y. et al., 2011]. В быстро пролиферирующих тканях, включая опухолевые, уровень ПА существенно выше по сравнению с обычными. ПА участвуют в пролиферации и миграции атипичных клеток. Было также показано, что они способствуют инвазии злокачественных клеток в соседние ткани [Soda K., 2011; Provanzano B. et al., 2019]. Напротив, снижение уровня ПА при ингибировании их синтеза приводит к подавлению роста опухолевых клеток [Gamble L. D. et al., 2012]. Деградация ПА (Спд и Спм) осуществляется посредством ацетилирования с последующим окислительным дезаминированием либо путём прямого окисления (для Спм) [Murray-Stewart T. R. et al., 2016]. При развитии злокачественной опухоли интенсивность окисления ПА часто снижена, что сопровождается увеличением уровня ацетилированных ПА в сыворотке крови [Venäläinen M. K. et al. 2018]. Продукты окисления ПА обладают цитотоксическими свойствами и могут также выступать в качестве индукторов апоптоза клеток [Murray-Stewart T. R. et al., 2016; Damiani E. et al., 2018]. С учётом указанных особенностей в настоящее время метаболизм ПА рассматривается в качестве патогенетической мишени для разработки противоопухолевых препаратов [Gamble L. D. et al., 2012; Murray-Stewart T. R. et al., 2016].

К одной из перспективных стратегий в разработке новых методов фармакотерапии злокачественных опухолей можно отнести применение химических аналогов ПА. К настоящему времени синтезировано и описано уже довольно много подобных соединений. Некоторые из них обладают способностью подавлять активность опухолевых клеток, нарушая метаболизм их собственных ПА [Murray-Stewart T. R. et al., 2016; Li M. et al. 2018]. В частности, такой агент как тетрабутилпропандиамин (ТБП) является новым аналогом путресцина, для которого была показана способность ингибировать рост и миграцию клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 и остеосаркомы MG-63 посредством индукции апоптоза [Yang J. L. et al., 2012]. Аналогичный эффект был отмечен при исследовании лейкемических клеток K549. Так, применение ТБП приводило к значительному снижению пролиферации K549 за счёт блокады фазы G₀/G₁ митотического цикла указанной линии опухолевых клеток. При этом также показано, что ТБП обладают способностью активировать ферменты, ответственные за катаболизм ПА, таких как сперминоксидаза и ацетилполиаминоксидаза [Wang Q. et al., 2015].

В процессе разработки новых фармацевтических агентов следует оценивать их свойства по отношению к патогенетической мишени. С этой целью активно применяются такие методики как количественные корреляции «структура-активность» (ККСА) и молекулярная стыковка *in silico* (докинг).

Анализ имеющихся на сегодняшний день данных позволяет утверждать, что метаболизм ПА занимает особое место в жизнедеятельности активно пролиферирующих клеток как в норме, так и в условиях патологии. Ранее были исследованы эффекты ряда азотсодержащих гетероциклических соединений на распад ПА в клетках печени, а также их антипролиферативные свойства в отношении клеток опухолевых линий [Шевкун Н. А., 2013]. Вместе с тем, синтезированы и другие вещества, принадлежащие к данному ряду, для которых подобные эффекты изучены не были. Дальнейшие исследования в этом направлении позволят определить новые перспективные противоопухолевые агенты и особенности их влияния на метаболизм ПА в тканях с усиленной пролиферацией.

Степень разработанности темы. Роль ПА в молекулярных механизмах, опосредующих различные патологические процессы, весьма значительна. При этом перечень заболеваний, для которых на основе метаболомных исследований выявляются связи с нарушениями обмена ПА, постоянно расширяется. Ассоциация ПА с патогенезом онкологических заболеваний была установлена более 45 лет назад в работах Рассела и Снайдера, наблюдавших увеличение активности орнитиндекарбоксилазы (ОДК) в злокачественных опухолях. За время, прошедшее с тех пор, получены многочисленные данные, достоверно подтверждающие роль ПА в канцерогенезе. Отмечено, что имеются существенные различия в обмене ПА и потребности в них для нормальных и опухолевых клеток. Эти наблюдения позволяют рассматривать обмен ПА в качестве рациональной мишени для разработки новых эффективных методов химиотерапии. Поиск молекулярных агентов, способных проявлять активность в отношении ПА, осуществляется, в частности, среди

полиаминовых аналогов различных химических классов. Наиболее перспективными представляются те из них, которые могут вызывать истощение пула ПА и/или генерацию цитотоксических агентов посредством активации окисления ПА.

Цель исследования. Оценить влияние отдельных гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на обмен ПА на модели усиленной физиологической регенерации и их эффект в отношении пролиферации опухолевых клеток линий A549, SkBr3 и HeLa.

Задачи исследования:

1. Провести тестирование путем обширного скрининга влияния отдельных гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на метаболизм ПА в бесклеточной тест-системе.
2. Исследовать влияние тестируемых соединений на пролиферацию клеток карциномы лёгкого человека линии A549, рака молочной железы человека линии SkBr3 и рака шейки матки человека линии HeLa.
3. Выполнить анализ корреляции «структура-активность» (ККСА-анализ) на базе полученных результатов и определить наиболее значимые структурные дескрипторы.
4. Осуществить *in silico* докинг тестируемых соединений в системе «белок-лиганд» для полиаминоксидазы (ПАО).
5. Для соединений с наиболее высокой найденной активностью определить значение IC50 (концентрацию полумаксимального ингибирования).

Научная новизна. Получены новые данные об изменении активности синтеза и катаболизма ПА в бесклеточной тест-системе на основе регенерирующей печени крыс для тестируемых соединений в опытах *in vitro*.

Впервые выполнен скрининг антипролиферативного действия отдельных гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на клетки карциномы лёгкого линии A549, рака молочной железы линии SkBr3 и рака шейки матки линии HeLa.

Впервые методом молекулярного докинга (стыковки) было проведено исследование связывания ряда тестируемых органических соединений с ПАО. Определены аминокислотные звенья для соответствующих лигандов.

Впервые проведены количественные корреляции топологических индексов с активностью аминоксидаз.

Теоретическая и практическая значимость работы. В эксперименте на бесклеточной тест-системе было показано, что ряд исследованных гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений повышает интенсивность катаболизма ПА, что свидетельствует об их потенциальном противоопухолевом действии. Вещества A16 (2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он) и A2 (5,5-диметил имидазолидин-2,4-дион) показали способность ингибировать пролиферацию клеток отдельных опухолевых линий.

Полученные результаты расширяют базу данных, необходимую для прогнозирования биологических свойств вновь синтезированных органических соединений с потенциальными противоопухолевыми свойствами. Результаты работы

могут быть использованы для оригинального синтеза новых более эффективных химиотерапевтических агентов.

Методология и методы исследования. Исследование влияния тестируемых соединений на метаболизм ПА в ткани с активной пролиферацией проводилось путём оценки активности ключевых ферментов синтеза и катаболизма ПА на бесклеточной тест-системе, полученной на основе регенерирующей печени крыс. Активность ферментов синтеза ПА (орнитиндекарбоксилаза (ОДК), спермидинсинтаза (СДС) и сперминсинтаза (СМС)) и уровня ПА определялась методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с флуоресцентной детекцией в виде дансильных производных. Анализ удельной активности ферментов окислительного дезаминирования (диаминоксидазы (ДАО), полиаминоксидазы (ПАО) и сперминоксидазы (СМО)) проводили с использованием метода спектрофотометрии. Оценка цитотоксичности тестируемых веществ в отношении опухолевых клеток проводилась на культурах карциномы лёгкого человека линии A549, рака молочной железы человека линии SkBr3 и рака шейки матки линии HeLa. В качестве контроля использовали клеточную линию фибробластов (wi-38). Антипролиферативную активность оценивали по стандартной методике МТТ-теста. ККСА рассчитывали с использованием компьютерных программ «ChemicDescript» и «ChemicPen». Молекулярный докинг тестируемых соединений *in silico* в системе «белок-лиганд» для ПАО проводился с использованием программного обеспечения Molegro Virtual Docker (MVD) версии 6.0.

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре общей патологии и патологической физиологии имени В.А. Фролова медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования РФ.

Положения, выносимые на защиту:

1. Соединения А3 (метил-2-(5-формилфуран-2-ил) бензоат), А16 (2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он), А1 (диэтил-2-(4-(4-пентилейклогексифенил)-4,5-дигидротиазол-4,5-дикарбоксилат), А2 (5,5-диметилимидазо-лидин-2,4-дион) и А5 (4-бутил-2,3,5,6-тетрафторбензойная кислота) проявили максимальный эффект в качестве активаторов распада ПА в бесклеточной тест-системе, тем самым продемонстрировав потенциальное противоопухолевое действие.

2. Соединения А16 (2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он) и А2 (5,5-диметилимидазо-лидин-2,4-дион) показали способность к ингибированию пролиферации клеток рака лёгкого линии A549.

3. Соединение А16 (2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он) проявляет выраженное антипролиферативное действие в отношении клеток рака молочной железы линии SkBr-3 и рака шейки матки линии HeLa.

Степень достоверности. Применявшиеся бесклеточные тест-системы представляли собой цитозольную фракцию 33%-ного гомогената ткани печени самцов беспородных лабораторных крыс. Использовались культуры клеток

злокачественных опухолей линий A549, SkBr-3, HeLa при достаточном объеме выборки в каждой серии исследований. Оценку соответствующих показателей с применением методик спектрофотометрии, ВЭЖХ с флуориметрической детекцией, компьютерного моделирования проводили на сертифицированном оборудовании. Статистические методы, применявшиеся для обработки полученных данных, соответствовали цели и задачам исследования.

Апробация результатов работы. Результаты работы доложены и обсуждены на международном конгрессе «The 44-th FEBS Congress» (Краков, 2019 г.), на международном конгрессе «The 45-th FEBS Congress» (Любляна, 2021 г.), на заседании кафедры общей патологии и патологической физиологии имени В.А. Фролова медицинского института РУДН, 2023 г.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в числе которых 7 публикаций в журналах, индексируемых в МБЦ WoS/Scopus, и 1 статья в журнале, входящем в БД RSCI.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материала и методов исследования, 3-х глав, в которых изложены результаты собственного исследования, главы с обсуждением полученных результатов, заключения и списка литературы. Диссертация изложена на 123 страницах печатного текста, содержит 13 таблиц и 9 рисунков. Библиография содержит 230 источников российской и зарубежной литературы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общий дизайн исследования. Исследование проводилось в несколько этапов, каждый из которых соответствовал определённой задаче. Тестирование гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений проводили *in vitro* в бесклеточной тест-системе с целью оценки их влияния на активность ферментов обмена ПА и на клеточных линиях опухолей: карциномы лёгкого линии K549, рака молочной железы линии SkBr3 и рака шейки матки линии HeLa с целью анализа их антипролиферативного действия. Докинг отдельных тестируемых соединений в системе «белок-лиганд» для ПАО осуществлялся в эксперименте *in silico*.

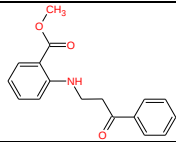
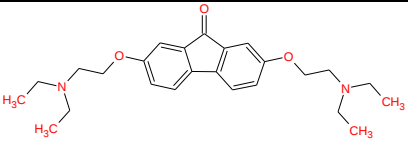
Тестируемые соединения и обоснование их выбора. Исследуемые вещества были синтезированы по стандартной методике [Волков С.В., Кутяков С.В., 2007] в лаборатории синтеза гетероциклических соединений кафедры органической химии РУДН. В таблице 1 приведены индексы, названия и формулы тестируемых соединений.

Указанные соединения имеют структурное сходство с веществами, для которых была доказана антипролиферативная активность (например, противоопухолевые антибиотики), чем и обусловлен их выбор [Семенов А. А., 1979].

Таблица 1.

Тестируемые соединения.

Индекс	Название соединения	Формула соединения
A1	диэтил-2-(4-(4-пентилейклогексифенил)-4,5-дигидротиазол-4,5-дикарбоксилат	
A2	5,5-диметилимидазолидин-2,4-дион	
A3	метил-2-(5-формилфуран-2-ил)бензоат	
A4	2-октилпропан-1,3-диол	
A5	4-бутил-2,3,5,6-тетрафторбензойная кислота	
A6	3-метил-1-фенилпиридин-2(1H)-он	
A7	этил 4-гидроксибензоат	
A8	4-(4-пентилциклогексил)бензамид	
A9	4'-пентил-1,1'-би(циклогексил)-4-карбоксамид	
A10	1,3,7-триметил-3,7-дигидро-1H-пурин-2,6-дион	
A11	4-брум-4-(4-бутилциклогексил)-1,1-бифенил	
A12	4'-пентил[1,1'-би(циклогексан)]-4-ол	
A13	4-бутилциклогексан-1-карбоксамид	
A14	3-метилпиридин-2-ол	

A15	метил-2-[(3-оксо-3-фенилпропил)амино]бензоат	
A16	2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он (и в виде дигидрохлорида)	

Количественный анализ основных показателей обмена ПА в бесклеточных тест-системах.

Подготовка бесклеточной тест-системы. Для изготовления бесклеточной тест-системы использовали печень лабораторных крыс. В эксперимент было включено 85 взрослых беспородных крыс-самцов с массой тела 270 – 360 г. У животных под общим обезболиванием проводили резекцию печени, а через 12 часов забирали её оставшуюся часть [Higgins G. M., Anderson R. M., 1931]. Регенерирующую печень использовали в качестве модели активно пролиферирующей ткани, характеризующейся повышенной продукцией ПА. Для каждого из 16 тестируемых соединений было использовано по 5 крыс. Контрольную группу составили также 5 животных.

В условиях эксперимента содержание животных и все манипуляции с ними проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.). Исследование одобрено Комитетом по этике медицинского института РУДН (протокол № 13 от 15 декабря 2022 г.).

Анализ удельной активности ДАО, ПАО и СМО в бесклеточной тест-системе. Полученный супернатант использовался для оценки активности ферментов распада ПА – аминоксидаз: ДАО, ПАО, СМО [Сяткин С. П. и Березов Т. Т., 1979, 1982]. Активность аминоксидаз определялась при инкубировании супернатанта с субстратами окисления (Спд, Спм, Пут) и соответствующим тестируемым соединением. Концентрация исследуемых веществ в пробах составляла 0,1 мМ. Оптическую плотность определяли методом спектрофотометрии.

Определение уровней ПА и активностей ферментов синтеза ПА. Совместное определение активности ферментов синтеза ПА – орнитиндекарбоксилазы (ОДК), спермидинсинтазы (СПС) и сперминсинтазы (СМС) и уровней ПА проводилось методом ВЭЖХ.

Калибровочные кривые аналитов. На калибровочных стандартах была воспроизведена ВЭЖХ-ФЛД методика одновременного количественного определения путресцин-дансила, спермидин-дансила и спермин-дансила.

Количественный анализ белка. Количество белка в пробах измеряли фармакопейным методом [Государственная Фармакопея СССР, XI, 1987] по Лоури (1951) в модификации Сяткина С. П. (1982).

Количественные корреляции «структура-активность» (ККСА) [по Hu Q. N. et al., 2003]. ККСА рассчитывали с использованием компьютерных программ

«ChemicDescript» [Попов П. И., 2003] и «ChemicPen» [Попов П. И., 2005]. Производили расчет топологических индексов: Винера (W), Балабана (J), обхода (ω) и электропии (ϵ) по структуре молекулы.

Оценка цитотоксичности тестируемых веществ на клеточных культурах

В исследовании были использованы клетки карциномы легкого человека линии (линия A549), клетки рака молочной железы человека (линия SkBr3) и клетки рака шейки матки (линия HeLa). В качестве контроля использовали клеточную линию фибробластов (wi-38). Указанные линии клеток были получены из компании «АТСС» и выращивались в соответствии с условиями стандартного культивирования во влажной атмосфере с 5% CO₂ при 37°C в CO₂-инкубаторе. Влияние тестируемых веществ на пролиферативную активность клеток опухолевых линий A549, SkBr и HeLa исследовали с использованием МТТ-теста. *IC₅₀* (концентрация полумаксимального ингибирования) для вещества с наиболее высокой найденной ингибирующей активностью определялась путём построения кривой «доза – эффект».

Молекулярный докинг. Единственный фермент млекопитающих ПАО, а именно мышьяная АРАО (PAOX_MOUSE), доступен в базе данных Protein Data Bank (PDB) с его кристаллической структурой. Выполнили выравнивание с помощью онлайн-сервиса Clustal Omega (Madeira et al. 2019) на сайте <https://www.uniprot.org> и обнаружили, что он имеет 62,5% сходства с АПАО человека и 79,8% с АПАО крысы. Структуры всех исследованных соединений (лигандов) были построены с использованием программного обеспечения ChemBioOffice 2010 и предварительно оптимизированы полуэмпирическим методом PM3 с помощью программы HyperChem 7.

Методы статистической обработки данных. Статистическая обработка проводилась с использованием программы Excel 2010. Были рассчитаны средние (M) и стандартные ошибки среднего (m), данные представлены в виде M $\pm$ m. Достоверность отличий оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Отличия считались достоверными при $p \leq 0,05$. Для статистического анализа данных докинга использовалось программное обеспечение IBM SPSS Statistics 21.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты оценки влияния гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на катаболизм ПА в бесклеточной тест-системе.

Продукты катаболизма ПА, которые образуются при их окислительном дезаминировании, обладают токсическими свойствами и способны выступать в качестве триггеров регулируемой (программированной) гибели малигнизированных клеток. Данные по влиянию исследуемых соединений на активность ферментов распада ПА в бесклеточной тест-системе представлены в таблице 2.

Согласно полученным данным, статистически значимого ингибирования ДАО не показало ни одно из исследованных соединений. Активность ПАО достоверно снижалась лишь под влиянием вещества A14.

Таблица 2.

Активность ферментов распада ПА в бесклеточной тест-системе в контроле и при воздействии тестируемых соединений ($M \pm m$).

Индекс ве- щества	ДАО Δ , %		ПАО Δ , %		СМО Δ , %	
	нкатал/мг белка		нкатал/мг белка		нкатал/мг белка	
Конт- роль	0,023 $\pm$ 0,001	0	0,007 $\pm$ 0,0005	0	0,006 $\pm$ 0,0005	0
А 1	0,027 $\pm$ 0,001*	117,4	0,013 $\pm$ 0,0004*	185,7	0,018 $\pm$ 0,0004*	257,1
А 2	0,023 $\pm$ 0,001	100,0	0,009 $\pm$ 0,0004*	128,6	0,018 $\pm$ 0,0004*	257,1
А 3	0,028 $\pm$ 0,001*	121,7	0,015 $\pm$ 0,0007*	214,3	0,02 $\pm$ 0,0005*	285,7
А 4	0,018 $\pm$ 0,0004	78,3	0,008 $\pm$ 0,0011	114,3	0,015 $\pm$ 0,0005*	214,3
А 5	0,022 $\pm$ 0,001	95,7	0,009 $\pm$ 0,0002*	128,6	0,012 $\pm$ 0,001*	171,4
А 6	0,034 $\pm$ 0,001*	147,8	0,019 $\pm$ 0,0004*	237,5	0,0002 $\pm$ 0,00001*	3,8
А 7	0,022 $\pm$ 0,001	95,7	0,013 $\pm$ 0,0007*	162,5	0,003 $\pm$ 0,0001*	66,0
А 8	0,03 $\pm$ 0,0002*	130,4	0,01 $\pm$ 0,0004*	125,0	0,0005 $\pm$ 0,0001*	9,0
А 9	0,035 $\pm$ 0,001*	152,2	0,017 $\pm$ 0,0005*	212,5	0,0002 $\pm$ 0,00003*	3,3
А 10	0,029 $\pm$ 0,001*	126,1	0,014 $\pm$ 0,0012*	175,0	0,0003 $\pm$ 0,0001*	5,2
А 11	0,025 $\pm$ 0,0004*	108,7	0,014 $\pm$ 0,0004*	175,0	0,0001 $\pm$ 0,00001*	1,9
А 12	0,029 $\pm$ 0,0001*	126,1	0,01 $\pm$ 0,0014*	142,9	0,004 $\pm$ 0,0012*	78,4
А 13	0,026 $\pm$ 0,001*	113,0	0,011 $\pm$ 0,0008*	157,1	0,0024 $\pm$ 0,0003*	47,0
А 14	0,026 $\pm$ 0,002	113,0	0,006 $\pm$ 0,0003*	85,7	0,00014 $\pm$ 0,0001*	2,8
А 15	0,026 $\pm$ 0,002	113,0	0,008 $\pm$ 0,0009	114,3	0,008 $\pm$ 0,0001*	16,0
А 16	0,03 $\pm$ 0,001*	130,4	0,025 $\pm$ 0,0003*	357,1	0,027 $\pm$ 0,0005*	549,9

Примечание. Результаты представлены для 10 параллельных измерений удельной активности ферментов в каждой из 5 проб. Δ , % – измерение удельной активности от контроля. * – отличие достоверно при $p \leq 0,05$. % отличия от контроля: $> 100\%$ – активация, $< 100\%$ – ингибирование. ДАО – диаминооксидаза, ПАО – полиаминооксидаза, СМО – сперминооксидаза.

Что касается, СМО, то отмечается достоверное снижение её активности под действием агентов А6, А7, А8, А9, А10, А11, А12, А13, А14 и А15. Полученные данные позволяют предположить наличие канцерогенных свойств у тестируемых соединений. Во всех остальных случаях наблюдается преимущественно значимая активация ДАО, ПАО и СМО.

Каждому веществу был присвоен ранг в порядке убывания степени активации катаболизма того или иного ПА, а затем ранги, относящиеся к одному веществу, но к разным ПА, были просуммированы (таблица 3).

Таблица 3.

Ранжирование тестируемых соединений по влиянию на активность окислительного дезаминирования ПА.

Индекс вещества	Активность распада Пут, %	Ранг	Активность распада Спд, %	Ранг	Активность распада Спм, %	Ранг	Сумма рангов
A1	125	2	117	7	134	3	12
A2	117	3	104	14	134	4	21
A3	128	1	121	4	139	2	7
A4	105	12	102	15	124	5	32
A5	113	4	105	12	116	6	22
A6	109	8	135	2	76	14	24
A7	87	16	117	8	81	10	34
A8	103	13	106	11	81	9	33
A9	111	7	128	3	69	16	26
A10	100	14	120	6	78	11	31
A11	93	15	120	5	76	13	33
A12	111	6	107	10	95	7	23
A13	106	9	109	9	89	8	26
A14	106	11	97	16	77	12	39
A15	106	10	104	13	72	15	38
A16	113	5	147	1	184	1	7

Для тестируемых веществ можно выстроить ряды в порядке снижения активирующего действия на катаболизм ПА, наиболее активные: A3 = A16>> A1>>> A2> A5.

Анализ влияния гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на активность ферментов синтеза ПА на бесклеточной тест-системе.

Результаты измерения активности ферментов синтеза ПА (ОДК – орнитиндекарбоксилазы, СДС – спермидинсинтазы, СМС – сперминсинтазы) представлены в таблице 4.

Согласно полученным данным, достоверное и выраженное ингибирование активности ОДК, СДС и СМС продемонстрировало соединение A16, в меньшей степени данный эффект проявило вещество A5 и в незначительной степени – вещество A2.

Выраженный активирующий эффект в отношении фермента СДС показало лишь соединение A10. В остальных случаях наблюдалась либо достоверная незначительная активация ферментов синтеза ПА, либо повышение активности было даже недостоверным.

Таблица 4.

Влияние тестируемых веществ на активность ферментов синтеза ПА из регенерирующей печени крыс.

Индекс вещества	ОДК нкатал/мг белка	Δ, %	СДС нкатал/мг белка	Δ, %	СМС нкатал/мг белка	Δ, %
Конт роль	0,083 ± 0,001	0	0,054 ± 0,0005	0	0,027 ± 0,002	0
A 1	0,086 ± 0,0004*	3,6	0,056 ± 0,0005*	3,7	0,028 ± 0,0003	3,7
A 2	0,080 ± 0,0004*	−3,6	0,052 ± 0,0003*	−3,7	0,026 ± 0,0001	−3,7
A 3	0,082 ± 0,0008	−1,2	0,054 ± 0,009	0,0	0,027 ± 0,006	0,0
A 4	0,084 ± 0,0008	1,2	0,055 ± 0,0007	1,9	0,028 ± 0,0003	3,7
A 5	0,067 ± 0,0006*	−19,3	0,038 ± 0,0004*	−29,6	0,012 ± 0,0001*	−55,6
A 6	0,087 ± 0,0005*	4,8	0,058 ± 0,0003*	7,4	0,029 ± 0,0003	7,4
A 7	0,088 ± 0,0012*	6,0	0,058 ± 0,0011*	7,4	0,029 ± 0,007	7,4
A 8	0,086 ± 0,0011*	3,6	0,057 ± 0,008	5,6	0,029 ± 0,001	7,4
A 9	0,085 ± 0,0010	2,4	0,056 ± 0,009	3,7	0,028 ± 0,008	3,7
A 10	0,084 ± 0,0013	1,2	0,088 ± 0,0011*	63,0	0,027 ± 0,007	0,0
A 11	0,087 ± 0,0016*	4,8	0,057 ± 0,0015	5,6	0,029 ± 0,0011	7,4
A 12	0,083 ± 0,001	0,0	0,055 ± 0,001	1,9	0,027 ± 0,001	0,0
A 13	0,085 ± 0,001	2,4	0,056 ± 0,001	3,7	0,028 ± 0,001	3,7
A 14	0,084 ± 0,001	1,2	0,055 ± 0,001	1,9	0,028 ± 0,0005	3,7
A 15	0,084 ± 0,0006	1,2	0,056 ± 0,0006*	3,7	0,028 ± 0,0003	3,7
A 16	0,012 ± 0,0002*	−85,5	0,008 ± 0,0002*	−85,2	0,004 ± 0,0002*	−85,2

Примечание. Результаты представлены для 10 параллельных измерений удельной активности ферментов. * – отличие достоверно при $p \leq 0,05$. % отличия от контроля: > 100% – активация, < 100% – ингибирование. ОДК – орнитиндекарбоксилаза, СДС – спермидинсинтаза, СМС – сперминсинтаза.

По аналогии с данными, отражающими ранги тестируемых веществ в зависимости от степени активации катаболизма ПА, ранжирование было проведено для данных соединений по их влиянию на активность ферментов синтеза ПА (таблица 5).

Как следует из представленных данных, минимальная величина ранга была присвоена веществу с наибольшей ингибирующей активностью в отношении синтеза

ПА. В данном случае вещества, наиболее активные по способности ингибировать синтеза ПА, выстроились в следующей последовательности: A16 > A5 > A2 > A3.

Таблица 5.

Ранжирование тестируемых соединений по влиянию на активность синтеза ПА.

Индекс вещества	Активность ОДК, %	Ранг	Активность СДС, %	Ранг	Активность СМС, %	Ранг	Сумма рангов
A1	3,6	12	3,7	8	3,7	7	27
A2	-3,6	3	-3,7	3	-3,7	3	9
A3	-1,2	4	0	4	0	4	12
A4	1,2	6	1,9	5	3,7	8	19
A5	-19,3	2	-29,6	2	-55,6	2	6
A6	4,8	14	7,4	14	7,4	13	41
A7	6	16	7,4	15	7,4	14	45
A8	3,6	13	5,6	12	7,4	15	40
A9	2,4	10	3,7	9	3,7	9	28
A10	1,2	7	63	16	0	5	28
A11	4,8	15	5,6	13	7,4	16	44
A12	0	5	1,9	6	0	6	17
A13	2,4	11	3,7	10	3,7	10	31
A14	1,2	8	1,9	7	3,7	11	26
A15	1,2	9	3,7	11	3,7	12	32
A16	-85,5	1	-85,2	1	-85,2	1	3

Таким образом, тестируемые соединения в целом оказывали незначительное влияние на активность ферментов синтеза ПА в бесклеточной тест-системе, за исключением вещества A16 и в меньшей степени A5 и A2, которые ингибировали активность ферментов синтеза ПА.

Результаты исследования концентрации ПА на фоне действия тестируемых гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на бесклеточной тест-системе. В таблице 6 представлены результаты измерения содержания ПА в бесклеточной тест-системе, полученной из печени крыс, при инкубировании с соответствующими субстратами (Пут, Спд и Спм) и тестируемыми соединениями.

Согласно полученным данным, под влиянием соединения A16 произошло достоверное и выраженное уменьшение по сравнению с контролем концентрации всех исследованных ПА: Пут, Спд и Спм. Под действием соединений A10 и A11 наблюдалось также снижение содержания путресцина, но не других ПА. В присутствии вещества A5 имело место уменьшение концентрации Спм относительно контрольного уровня.

Также необходимо отметить, что содержание Спм достоверно увеличивалась при инкубации тест-системы с большинством тестируемых соединений, однако, эти изменения были несущественными.

Таблица 6.

Концентрации ПА в бесклеточной тест-системе при инкубации с исследуемыми соединениями.

Индекс вещества	Пут нмоль/мл	Спд нмоль/мл	Спм нмоль/мл	Спд/Спм
Контроль	104.4 ± 6.2	98.796 ± 6.2	97.2 ± 1.2	1.0
A 1	108 ± 1.1	97.2 ± 105	104.4 ± 1.7*	0.9
A 2	108 ± 2.7	93.6 ± 3.0	93.6 ± 1.6	1.0
A 3	104.4 ± 3.0	97.2 ± 4.9	97.2 ± 5.2	1.0
A 4	122.4 ± 3.6*	97.2 ± 2.4	100.8 ± 2.7	1.0
A 5	104.4 ± 2.6	93.6 ± 2.7	43.2 ± 1.5*	2.2
A 6	104.4 ± 4.7	104.4 ± 4.0	104.4 ± 1.9*	1.0
A 7	109 ± 2.6	108 ± 3.4	104.4 ± 1.5*	1.0
A 8	103.4 ± 3.2	93.6 ± 1.3	111.6 ± 1.0*	0.8
A 9	115 ± 3.4	90 ± 2.6	100.8 ± 2.1*	0.9
A 10	57.6 ± 3.2*	151.2 ± 2.2*	93.6 ± 3.2	1.6
A 11	90 ± 2.0*	118.8 ± 3.4*	104.4 ± 1.1*	1.1
A 12	100 ± 3.2	108 ± 4.0	90 ± 1.7*	1.2
A 13	104.4 ± 3.0	93.6 ± 3.4	108 ± 1.3*	0.9
A 14	108 ± 1.4	93.6 ± 3.0	100.8 ± 1.7*	0.9
A 15	100.8 ± 2.8	100.8 ± 3.0	100.8 ± 0.7*	1.0
A 16	15.3 ± 2.4*	14.4 ± 5.6*	14.4 ± 4.5*	1.1

Примечание. Результаты представлены для 5 параллельных измерений. * – отличие достоверно при $p < 0,05$. Пут – путресцин, Спд – спермидин, Спм – спермин.

Суммируя данные таблиц 2 – 6, можно сделать вывод о том, что наиболее перспективными агентами с точки зрения влияния на обмен ПА являются вещества A16, A2 и A5.

Количественная оценка особенностей действия каждого из тестируемых соединений на основные показатели обмена ПА в указанных условиях позволит сделать заключение о канцерогенных, канцеростатических или пролиферативных

свойствах этих веществ.

Результаты исследования антипролиферативного эффекта тестируемых гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на клетки карциномы лёгкого линии A549. На рисунке 1 представлены данные оценки влияния тестируемых соединений на скорость пролиферации клеток рака лёгкого линии A549.

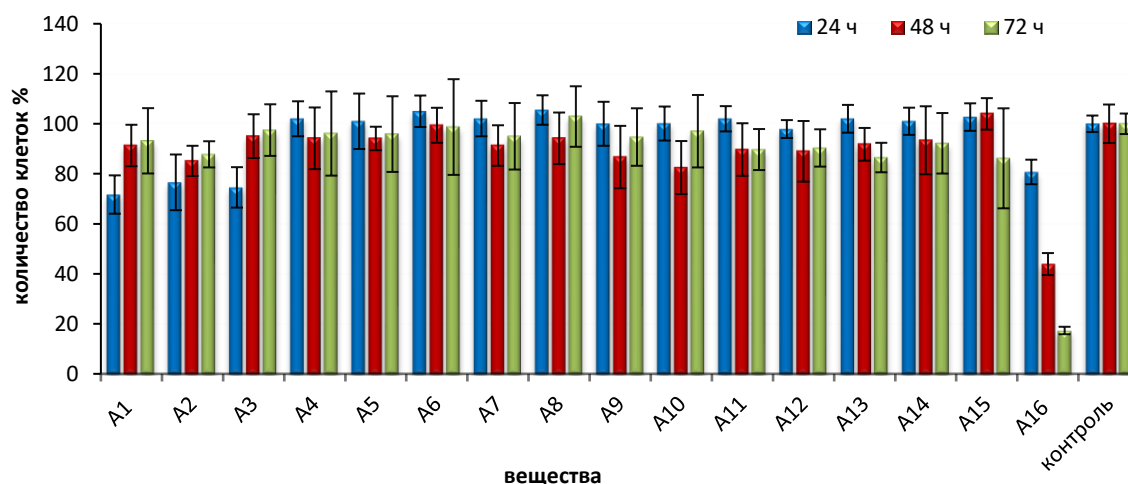


Рисунок 1. Влияние тестируемых веществ на интенсивность деления клеток карциномы лёгкого линии A549 в зависимости от времени инкубации.

Результаты оценки влияния исследуемых соединений на пролиферацию опухолевых клеток линии A549 показывают, что в основном они оказывают ингибирующее действие. Активация наблюдалась на сроке 24 час при инкубации с веществами A4, A5, A6, A7, A8, A11, A13, A14 и A15. Однако отличие от контроля было весьма незначительным: от 1 до 6%.

На сроке 48 час все вещества (кроме A15) проявили ингибирующее действие в отношении пролиферативной активности клеток. При этом наиболее выраженный эффект (снижение скорости пролиферации 10% и более) характерен для соединений A2, A10, A11, A12 и A16.

Через 72 часа от начала инкубации также в основном все вещества показали ингибирующий эффект (за исключением A8). Наиболее активными соединениями оказались A2, A11, A12, A13, A15 и A16.

В целом можно отметить, что значимое снижение данного показателя на всех трёх сроках исследования наблюдается под действием соединений A2 и A16. Наиболее выраженный эффект характерен для A16.

Влияние тестируемых гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на пролиферативную активность клеток рака молочной железы линии SkBr3

Результаты оценки эффекта исследуемых гетероциклических, циклических и

азотсодержащих соединений на интенсивность пролиферации клеток рака молочной железы линии SkBr3 приведены на рисунке 2.

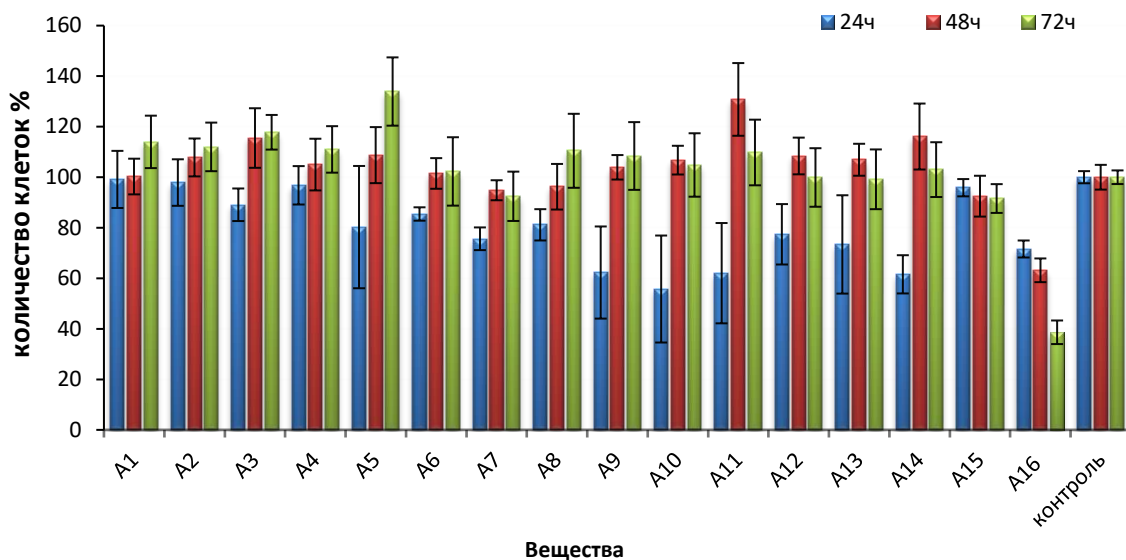


Рисунок 2. Влияние тестируемых веществ на рост клеток рака молочной железы линии SkBr3 в зависимости от времени инкубации.

Под действием всех исследованных соединений на сроке 24 часа от начала инкубации происходит заметное замедление деления опухолевых клеток линии SkBr3. Однако через 48 и 72 часа антипролиферативное действие продемонстрировали только вещества A7, A15 и A16. При этом опять же наиболее значимый эффект показало соединение A16.

Следует также отметить, что некоторые из исследованных соединений на отдельных сроках продемонстрировали значимый активирующий эффект в отношении пролиферации клеток. Так, в присутствии соединения A3 через 48 час активность пролиферации увеличилась на 16%, а через 72 час – на 18%. Аналогичные данные на тех же сроках получены для веществ A5, A11 и A14. При этом данные соединения на сроке 24 часа показали выраженный ингибирующий эффект: снижение скорости пролиферации на 20, 38 и 38%, соответственно.

Исследование антипролиферативного эффекта тестируемых гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на пролиферативную активность клеток рака шейки матки линии HeLa

Результаты оценки влияния тестируемых соединений на скорость пролиферации опухолевых клеток рака шейки матки линии HeLa представлены на рисунке 3.

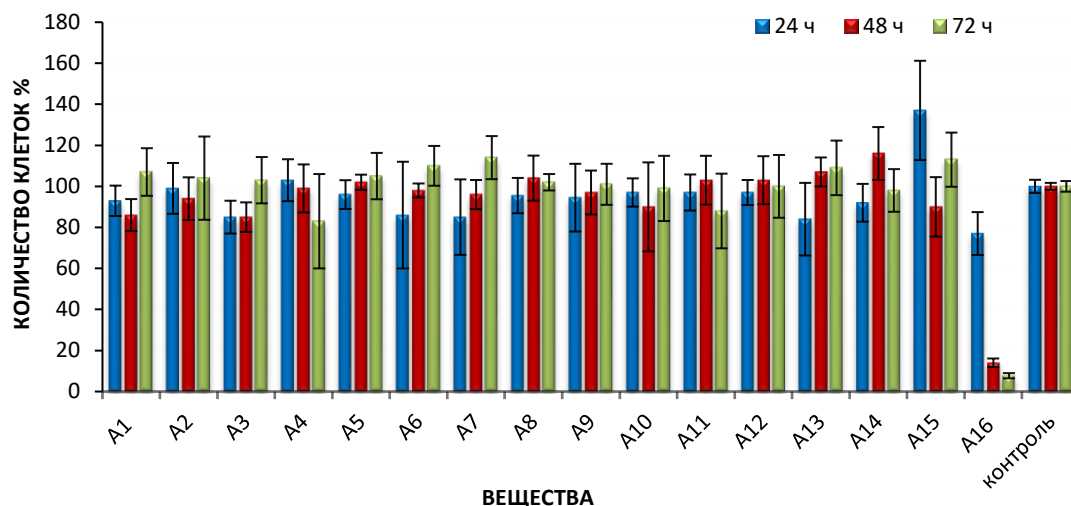


Рисунок 3. Влияние тестируемых веществ на рост клеток рака шейки матки линии HeLa в зависимости от времени инкубации.

В отношении клеток опухолевой линии HeLa на 1-е сутки исследования определённый ингибирующий эффект показали все тестируемые соединения, за исключением A4 и A15.

В последующие сроки некоторые вещества также продемонстрировали аналогичный эффект. Так, через 48 час инкубации характерно выраженное ингибирование пролиферации клеток под действием соединений A1, A3, A10, A15 и A16. На сроке 72 час торможение деления клеток отмечено при инкубации с веществами A4, A11 и A16.

Наиболее выраженное торможение клеточной пролиферации на всех трёх сроках исследования наблюдалось лишь под действием соединения A16.

Как и в экспериментах с культурой клеток линии SkBr, на отдельных сроках наблюдалась активация пролиферации.

Сравнительная характеристика антипролиферативного эффекта исследованных гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на культурах опухолевых клеток линий A549, SkBr и HeLa

На рисунке 4 представлены результаты оценки влияния тестируемых соединений на скорость пролиферации опухолевых клеток трёх исследуемых линий – A549, SkBr-3 и HeLa при 72-часовом культивировании.

Согласно приведённым результатам, наиболее активным соединением, проявляющим способность ингибировать пролиферацию опухолевых клеток, оказалось A16 (рисунок 5). В этой связи для данного вещества были определены значения IC₅₀ (концентрация полумаксимального ингибирования) во всех исследуемых линиях опухолевых клеток после 72 часов инкубации (таблица 7).

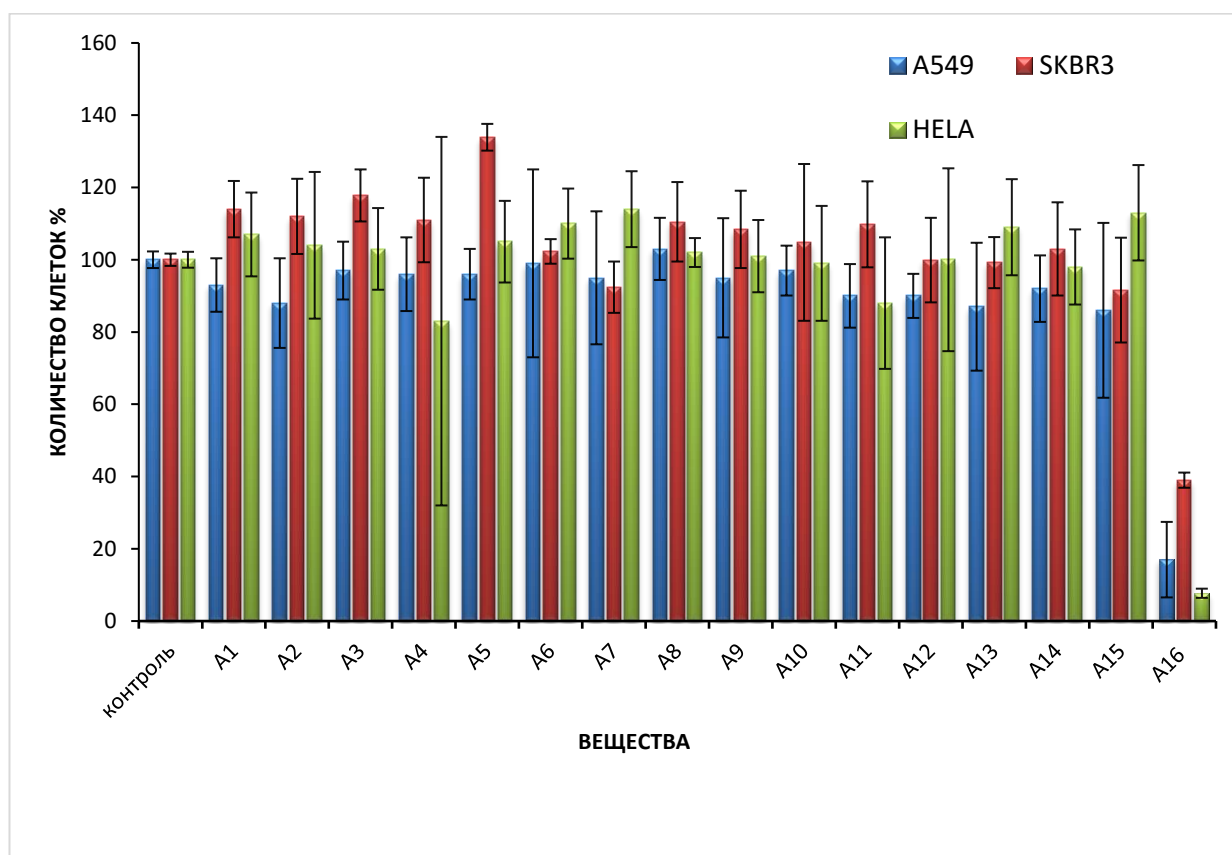


Рисунок 4. Влияние тестируемых веществ на рост опухолевых клеток линий A549, SkBr3 и HeLa при 72-часовом культивировании.

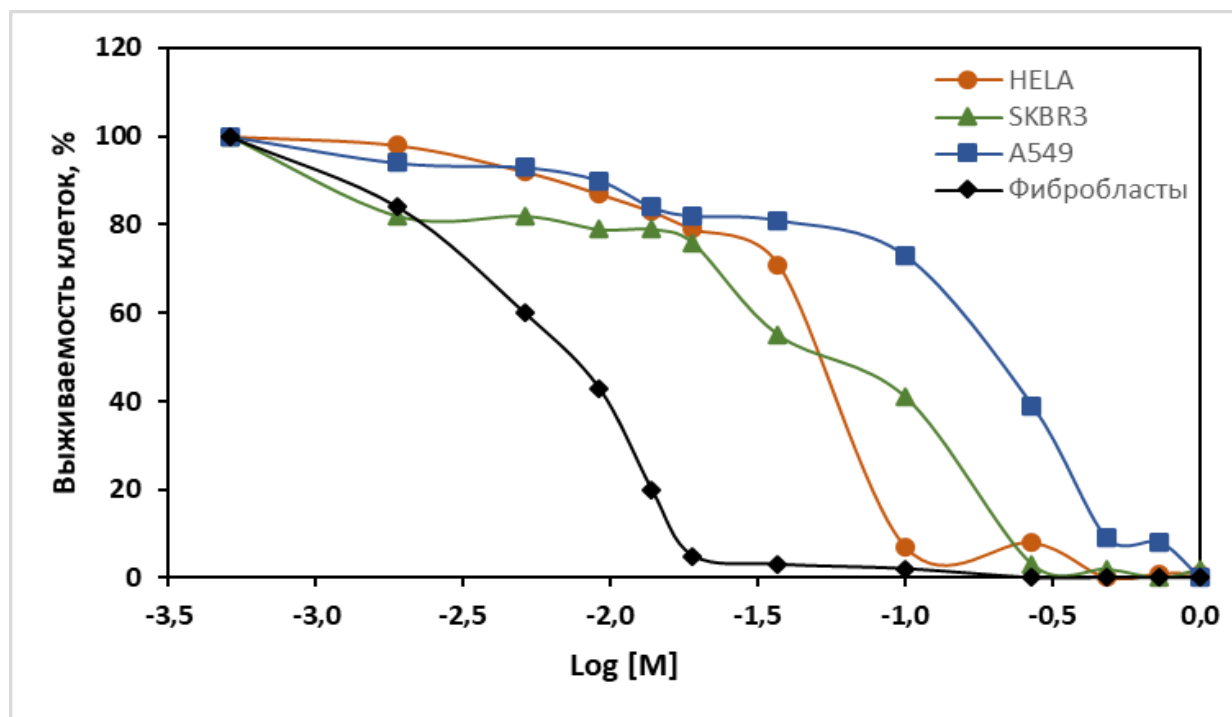


Рисунок 5. Действие вещества A16 на пролиферацию опухолевых клеток линий A549, SkBr3 и HeLa.

Таблица 7.

IC50 (концентрация полумаксимального ингибирования) в опухолевых линиях A549, SkBr и HeLa для вещества A16 после 72 часов инкубации.

Клеточная линия	IC50
A549	$0.381 \pm 0.078 * 10^{-6} \text{M}$
SkBr	$0.176 \pm 0.021 * 10^{-6} \text{M}$
HeLa	$0.126 \pm 0.011 * 10^{-6} \text{M}$

Как следует из данных таблицы 7, индекс IC50 для соединения A16 после 72 часов инкубации был значительным при исследовании во всех трёх опухолевых линиях.

Количественные корреляции «структура-активность» (ККСА). В настоящее время создание новых химиотерапевтических агентов с заранее заданными свойствам может осуществляться гораздо более эффективно благодаря применению компьютерных методов, в частности, ККСА-анализа [Khlebnikov A. I. et al., 2008].

Выбор соединений-кандидатов с использованием компьютерной программы «Chemic Descript» [Попов П. И., 2003] необходимо осуществлять на основе корректного определения дескриптора, который несёт информацию о значимых параметрах для соответствующего типа веществ и их активности (геометрии, топологии, распределение заряда и т.д.).

Для активности ДАО, ПАО и СМО были рассчитаны корреляционные зависимости с топологическими индексами.

Результаты расчёта корреляционных зависимостей для ферментов катаболизма ПА оказались следующими.

Для ДАО:

Индекс электропии практически не зависит, $R \sim 0,11$. Это очень мало.

Индекс Винера и обхода мало зависят, R 0,3 – 0,4.

Индекс Балабана имеет наиболее яркую зависимость, $R \sim 0,55$.

Для ПАО (в целом гораздо сильнее коррелирует с дескрипторами):

Индекс Балабана -0,44.

Индекс обхода наиболее сильно коррелирует. Он равен 0,78.

Индекс электропии равен 0,4.

Индекс Винера равен 0,55.

Для СМО (на уровне ДАО):

Индекс Балабана менее всех коррелирует и составляет 0,2.

Наиболее сильно зависит Индекс электропии. Он равен 0,55.

Индексы обхода и Винера малозависимы. Они равны 0,36.

Зависимость для индекса Балабана и активности ДАО оказалась равной -0,55, для ПАО и индекса обхода 0,78, для СМО и индекса электропии 0,53. Остальные зависимости проявили незначительную силу корреляции. Количественные

корреляции топологических индексов с активностью аминоксидаз для тестируемых соединений показали значимость индекса Балабана. Таким образом, для дальнейшего анализа целесообразно использовать индекс Балабана, а также индекс обхода для ПАО.

Молекулярный докинг [Neborak E. V., Syatkin S. P. et al., 2021]. Результаты обработки данных, полученных при проведении докинга, показали, что статистически значимыми были различия в связывании с АМК Val206. Данная аминокислота находится в непосредственной близости от Tyr204, как видно на рисунке 6, представленном в качестве примера.

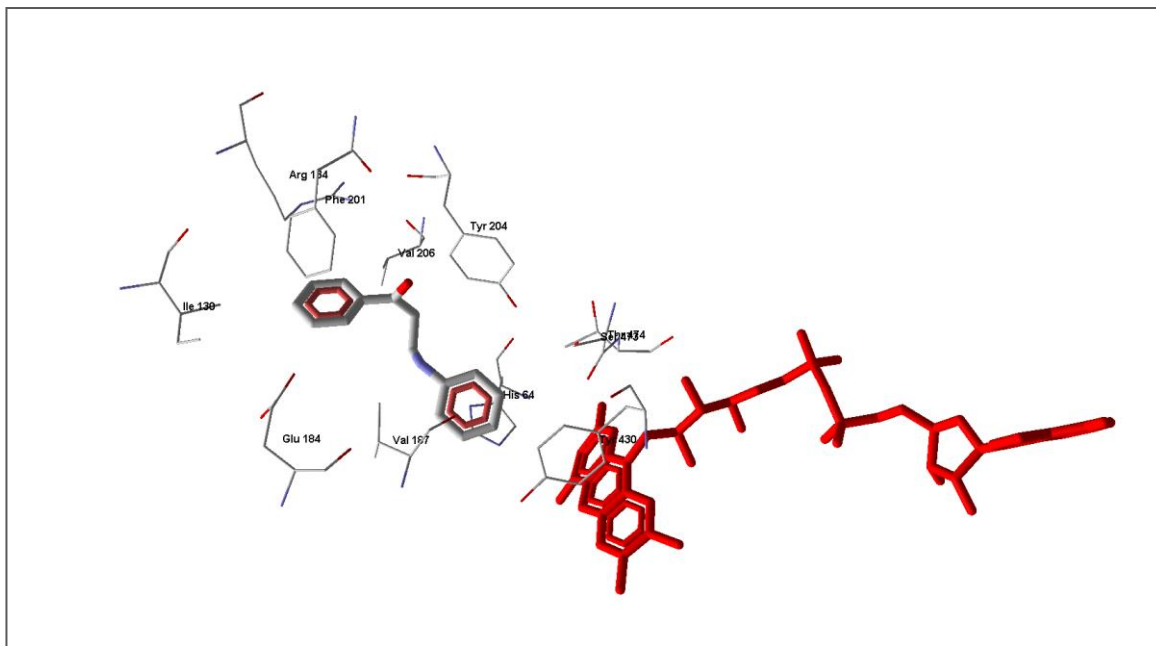


Рисунок 6. Положение вещества A15 в активном центре 5LFO.

Предшествующие исследования показали значимость силы взаимодействия с Tyr204 для разделения веществ на активаторы и ингибиторы [Syatkin S. P. et al., 2020]. Поскольку в тестируемой группе оказались в основном вещества с амбивалентным действием, возможно, такую амбивалентность обеспечивает их взаимодействие с аминокислотой, соседствующей с Tyr204.

Как следует из результатов докинга взаимодействие амбивалентных агентов с Val206 выражено сильнее, значит это сильное гидрофобное взаимодействие играет решающую роль для торможения окисления Спм, но не приводит к торможению окисления Спд, напротив, в отношении Спд сохраняется активация его окисления, как и для веществ, не столь активно взаимодействующих с Val206. Экранирование этой гидрофобной аминокислоты, таким образом, приводит к более активному окислению более заряженного Спм (4+) по сравнению со Спд (3+), тогда как отсутствие взаимодействия с этой АМК приводит к торможению окисления Спм.

С точки зрения влияния на обмен ПА вещества могут быть классифицированы на 2 группы – активаторы и ингибиторы по их влиянию на окисление Пут, и на 3 группы – активаторы, ингибиторы и вещества с амбивалентным действием – по их

влиянию на окисление высших ПА. Такое деление обусловлено тем, что Пут окисляется ДАО, тогда как на ацетилированные ПА действует другой фермент – АПАО.

В нашем эксперименте использовались свободные ПА, поэтому можно предположить изменение субстратной специфичности при воздействии исследуемых соединений. Результаты классификации представлены в таблице 8.

Таблица 8.

Классификация веществ по характеру их действия на окисление ПА.

Код	Изменение активность по сравнению с контролем, %				
	Субстрат Пут	Категория	Субстрат Спд	Субстрат Спм	Категория
A1	124,6	Активатор	116,8	134,2	Активатор
A2	116,9	Активатор	103,5	133,6	Активатор
A3	128,2	Активатор	120,8	139,5	Активатор
A4	105,1	Активатор	102,0	124,4	Активатор
A5	113,5	Активатор	104,8	115,6	Активатор
A6	109,0	Активатор	134,7	75,8	Амбивалент
A7	87,5	Ингибитор	116,5	81,2	Амбивалент
A8	102,8	Активатор	106,4	81,5	Амбивалент
A9	111,0	Активатор	127,9	68,9	Амбивалент
A10	99,8	Активатор	120,0	78,3	Амбивалент
A11	93,2	Ингибитор	120,2	76,4	Амбивалент
A12	111,4	Активатор	107,4	94,6	Амбивалент
A13	105,8	Активатор	109,4	88,7	Амбивалент
A14	105,7	Активатор	97,2	76,5	Ингибитор
A15	105,7	Активатор	103,7	71,7	Амбивалент
A16	130,2	Активатор	357,6	550,7	Активатор

Примечание. Коричневый цвет ячейки – активирующее действие на окисление субстрата, синий цвет ячейки – ингибирующее действие на окисление субстрата, желтый цвет ячейки – отличие от контроля в пределах 5%. Пут – путресцин, Спд – спермидин, Спм – спермин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоги выполненного исследования

1. Исследованные органические соединения преимущественно активируют распад ПА в бесклеточной тест-системе на основе ткани печени, тем самым демонстрируя потенциальную противоопухолевую активность. Наиболее активными в отношении аминоксидаз являются вещества: A3 = A16 >> A1 >>> A2 > A5.

2. Тестируемые соединения не оказывали существенного влияния на активность ферментов синтеза ПА в бесклеточной тест-системе, за исключением вещества A16, которое значительно ингибировало синтез ПА. Вещества, наиболее активные по способности ингибировать синтез ПА, можно выстроить в следующей последовательности: A16 > A5 > A2 > A3.

3. Выраженный ингибирующий эффект в отношении скорости пролиферации опухолевых клеток линии A549 при 24-, 48- и 72-часовом культивировании продемонстрировали соединения A16 (2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он) и A2 (5,5-диметил имидазолидин-2,4-дион).

4. Значимое антипролиферативное действие в отношении клеток опухолевых линий SkBr-3 и HeLa на всех сроках культивирования показало соединение A16 (2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он).

5. Наиболее активным соединением, проявляющим способность ингибировать пролиферацию опухолевых клеток, оказалось вещество A16 (2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он), для которого IC₅₀ при 72-часовой инкубации с опухолевыми клетками линий A549, SkBr3 и HeLa был значительным.

6. Вещества A2 и A16 показали потенциальный противоопухолевый эффект как на модели усиленной физиологической пролиферации (посредством влияния на метаболизм ПА), так и на отдельных культурах опухолевых клеток (за счёт подавления скорости их деления).

Практические рекомендации

Результаты проведённого исследования могут быть использованы для совершенствования методов химиотерапевтического лечения онкологических заболеваний. Полученные данные следует учитывать при исследовании биологических свойств вновь синтезированных органических соединений, являющихся аналогами ПА. Необходимо также принять во внимание тот факт, что отдельные гетероциклические, циклические и азотсодержащие соединения способны проявлять потенциальный канцерогенный эффект, что связано с их способностью к угнетению катаболизма ПА.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Описание свойств и характеристик исследованных гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений расширяет базу данных для последующего прогнозирования эффектов новых химических агентов с использованием методов компьютерного моделирования, включая молекулярный докинг. Вещества, которые продемонстрировали наиболее значимый эффект в отношении метаболизма ПА, могут рассматриваться в качестве кандидатов для создания новых противоопухолевых препаратов направленного действия.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Sungrapova, K. Polyamine analogues are capable to inhibit the prostate cancer cells proliferation / K. Sungrapova, M. Ploskonos, A. Hilal, S. Syatkin, E. Neborak, G. I. Myandina, Z. Kaitova, T. Lobaeva, S. Chibisov // **FEBS Open Bio**, Vol. 9 (Suppl. 1) (2019), Abstract number P-35-132, P. 359-360. DOI: 10.1002/2211-5463.12675.
2. Ploskonos, M. V. Polyamine analogues of propanediamine series inhibit prostate tumor cell growth and activate the polyamine catabolic pathway / M. V. Ploskonos, S. P. Syatkin, E. V. Neborak, **A. Hilal**, K. Y. Sungrapova, R. I. Sokuyev, M. L. Blagonravov, A. Y. Korshunova, A. A. Terentyev // **Anticancer Research**. – 2020. – Vol. 40. – N 3. – P. 1437-1441. DOI: 10.21873/anticancer.14085.
3. Plyasova, A. A. Penetration into cancer cells via clathrin-dependent mechanism allows L-asparaginase from *Rhodospirillum rubrum* to inhibit telomerase / A. A. Plyasova, M. V. Pokrovskaya, O. M. Lisitsyna, V. S. Pokrovsky, S. S. Alexandrova, **A. Hilal**, N. N. Sokolov, D. D. Zhdanov // **Pharmaceuticals** (Basel). – 2020. – Vol. 13. – N 10. DOI: 10.3390/ph13100286.
4. Neborak, E. V. The use of computational methods for design of polyamine-targeted synthetic compounds with antitumor activity / E. V. Neborak, S. P. Syatkin, Y. S. Gushchina, A. Y. Korshunova, **A. Hilal**, A. S. Tveritinova, A. V. Protasov, T. A. Lobaeva, I. P. Smirnova // **FEBS Open Bio**, Vol. 11 (Suppl. S1) (2021), Abstract number P-06.2-06, P. 300-301. DOI: 10.1002/2211-5463.13205.
5. **Hilal, A.** Inhibition of tumor cell growth by novel synthetic polyamine analogues / A. Hilal, M. Ploskonos, S. Syatkin, M. Blagonravov, A. Terentyev, E. Kharlitskaya, Z. Kaitova, E. Dobina, D. Zhdanov // **FEBS Open Bio**, Vol. 11 (Suppl. 1) (2021), Abstract number P-06.2-26, P. 308. DOI: 10.1002/2211-5463.13205.
6. Korzun, I. The brain glioma patients lymphocytes excrete polyamine oxidase after phytohemagglutinin stimulation / I. Korzun, S. P. Syatkin, N. Y. Gridina, M. L. Blagonravov, **A. Hilal**, Z. Kaitova, E. Kharlitskaya, V. I. Kuznetsov, L. Varekha // **FEBS Open Bio**, Vol. 11 (Suppl. 1) (2021), Abstract number P-08.2-32, P. 423-424. DOI: 10.1002/2211-5463.13205.
7. Neborak, E. V. Anticancer cytotoxic activity of bispidine derivatives associated with the increasing catabolism of polyamines / E. V. Neborak, A. B. Kaldybayeva, L. Bey, A. Y. Malmakova, A. S. Tveritinova, **A. Hilal**, V. K. Yu, M. V. Ploskonos, M. V. Komarova, E. Agostinelli, D. D. Zhdanov // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. – N 12.: 3872. DOI: 10.3390/molecules27123872.
8. Сяткин, С. П. Влияние некоторых гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на окислительное дезаминирование полиаминов в бесклеточной тест-системе / С. П. Сяткин, М. Л. Благовраов, **А. Хиляль**, К. Ю. Сунграпова, Р. И. Сокуев, И. А. Корзун, В. А. Горячев // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины**. – 2024. – Том 177. – № 3. – С. 291-297. DOI: 10.47056/0365-9615-2024-177-3-291-297.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
 ДАО – диаминооксидаза
 ККСА – количественные корреляции «структура-активность»
 ОДК – орнитиндекарбоксилаза
 ПА – полиамины
 ПАО – полиаминооксидаза
 Пут – путресцин
 СДС – спермидинсинтаза
 СМО – сперминоксидаза
 СМС – сперминсинтаза
 Спд – спермидин
 Спм – спермин

БЛАГОДАРНОСТИ

- Покровскому В.С. (д.м.н.) – за содействие в проведении исследований и поддержку в период освоения программы аспирантуры;
- Жданову Д.Д. (д.б.н.) – за организацию и содействие в проведении исследований на клеточных линиях;
- Хлебникову А.И. (д.х.н.) – за помощь в применении методики докинга;
- Комаровой М.В. (д.ф.-м.н.) – за помощь в проведении статистической обработки полученных результатов;
- Солдатенкову А.Т. (д.х.н.) и Левову А.Н. (к.х.н.) – за синтез и предоставление химических соединений для тестирования, а также ценные рекомендации;
- Попову П.И. (к.б.н.) – за консультации по ККСА;
- Плосконос М.В. (д.б.н.), Неборак Е.В. (к.б.н.) – за помощь в подготовке публикаций и обмен опытом.

АННОТАЦИЯ

кандидатской диссертации Хиляль Абдуллы «Влияние некоторых гетероциклических, циклических и азотсодержащих соединений на пролиферацию клеток отдельных опухолевых линий»

Оценивалось влияние ряда соединений оригинального синтеза на метаболизм ПА в бесклеточной тест-системе, а также их антипролиферативный эффект на клетках карциномы лёгкого линии A549, рака молочной железы линии SkBr3 и рака шейки матки линии HeLa. Было установлено, что метил-2-(5-формилфуран-2-ил) бензоат, 2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он, диэтил-2-(4-(4-пентилейклогексифенил)-4,5-дигидро-1,2,4-триазол-4,5-дикарбоксилат, 5,5-диметилимидазо-лидин-2,4-дион и 4-бутил-2,3,5,6-тетрафтор-бензойная кислота активируют распад ПА. 2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он и 5,5-диметилимидазо-лидин-2,4-дион проявляют способность к ингибированию пролиферации клеток линии A549. 2,7-Бис-[2-(диэтиламино)этокси]-9Н-флуорен-9-он также проявляет выраженное антипролиферативное действие в отношении клеток линий SkBr-3 и HeLa.

SUMMARY

of the PhD thesis «The effect of some heterocyclic, cyclic and nitrogen-containing compounds on cell proliferation of individual tumor lines» by Abdullah Hilal

We assessed the effect of some compounds of original synthesis on the metabolism of polyamines in a cell-free test-system, as well as their antiproliferative effect on the cells of lung carcinoma of line A549, breast cancer of line SkBr3 and cervical cancer of line HeLa. It was found that methyl 2-(5-formylfuran-2-yl) benzoate, 2,7-Bis-[2-diethylamino)ethoxy]-9H-fluoren-9-one, diethyl-2-(4-(4-pentyleuclogoxyphenyl)-4,5-dihydrothiazol-4,5-dicarboxylate, 5,5-dimethylimidazolidine-2,4-dione and 4-butyl-2,3,5,6-tetrafluorobenzoic acid activate the cleavage of PAs. 2,7-Bis-[2-diethylamino)ethoxy]-9H-fluoren-9-one and 5,5-dimethylimidazolidine-2,4-dione inhibit the proliferation of A549 cells. 2,7-Bis-[2-diethylamino)ethoxy]-9H-fluoren-9-one also exhibits a pronounced antiproliferative effect against SkBr3 and HeLa cells.