

УДК 615.017

Дизайн, синтез и оценка биологической активности гидроксамовых производных сорафениба

А. А. Клеймёнова¹, И. А. Абрамов¹, Я. В. Ткачев¹, П. С. Галеева¹, В. А. Клеймёнова²,
Н. Ф. Закирова¹, С. Н. Кочетков¹, М. В. Козлов^{1*}

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991 Россия

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, 119991 Россия

*E-mail: kozlovmail@gmail.com

Поступила в редакцию 26.11.2024

Принята к печати 13.05.2025

DOI: 10.32607/actanaturae.27566

РЕФЕРАТ Получены гидроксамовые производные ингибитора тирозиновых протеинкиназ сорафениба, в структуру которого были введены элементы фармакофора ингибиторов цинкзависимых гистондеацетилаз. Показано, что подавление пролиферации опухолевых клеток полученными гибридными ингибиторами критически зависит от структуры «деацетилазной» компоненты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА сорафениб, вориностат, тирозиновые протеинкиназы, цинкзависимые гистондеацетилазы, антипролиферативная активность, гибридные ингибиторы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ PTKs – тирозиновые протеинкиназы; HDACs – цинкзависимые гистондеацетилазы; B-RAF – сигнальная тирозинкиназа; SRF – сорафениб; DMSO-d⁶ – дейтерированный диметилсульфоксид; IC₅₀ – концентрация, вызывающая 50% снижение количества клеток; АМС – 7-амино-4-метилкумарин.

ВВЕДЕНИЕ

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) – одна из самых трудноизлечимых гетерогенных форм рака [1]. В качестве препарата первой линии для лечения поздних неоперабельных стадий заболевания хорошо зарекомендовал себя сорафениб (*SRF*, рис. 1) – мультипотентный ингибитор тирозиновых протеинкиназ (PTKs): сигнальной RAF, рецепторных тирозинкиназ VEGFR и PDGFR и некоторых других [2]. Однако длительное применение сорафениба неэффективно из-за приобретенной или наследственной резистентности у части трансформированных гепатоцитов [3].

Совместное применение сорафениба с мультипотентными ингибиторами цинкзависимых гистондеацетилаз (HDACs) является перспективным направлением лечения ГЦК, так как многие ингибиторы HDACs демонстрируют не только антипролиферативную активность сами по себе, но и синергичное действие в комбинации с сорафенибом [4]. Так, например, сочетание сорафениба с вориностатом (*SAHA*, рис. 1) эффективно инициирует апоптоз в клетках гепатомы [5], а комбинация с вальпроевой кислотой (VPA) сильно замедляет возникновение устойчивости [6]. По сравнению с сочетанным применением двух препаратов мономолекулярные гибриды

имеют более предсказуемые фармакокинетические и фармакодинамические параметры, включая метаболизм и биодоступность. Кроме того, их применение гарантирует одновременную активацию нескольких противоопухолевых механизмов в опухолевом очаге в необходимом оптимальном соотношении [7]. Таким образом, создание гибридных ингибиторов PTKs/HDACs представляется весьма перспективным и актуальным направлением исследований.

В фармакофоре ингибиторов гистондеацетилаз (HDACi) в совокупности выделяют четыре элемента: (а) цинк-связывающую группу (ZBG); (б) линкер (linker), занимающий «лизиновый канал» активного центра, который ведет к каталитическому иону цинка; (в) соединительный элемент (connecting unit, CU) и (г) ароматический/гетероциклический фрагмент (cap), отвечающий за распознавание поверхности активного центра фермента у входа в «лизиновый канал» [8]. Нами синтезированы новые гибридные ингибиторы – гидроксамовые производные сорафениба, в структуру которого введены элементы фармакофора ингибиторов цинкзависимых гистондеацетилаз. Изучена антипролиферативная активность полученных соединений, а также класс-селективность ингибирования HDACs.

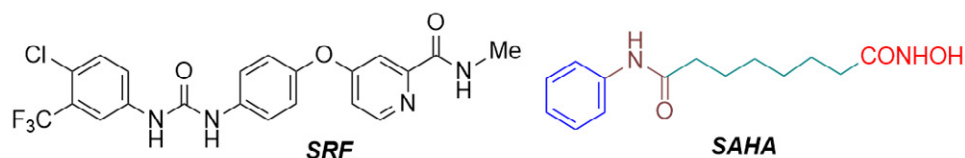
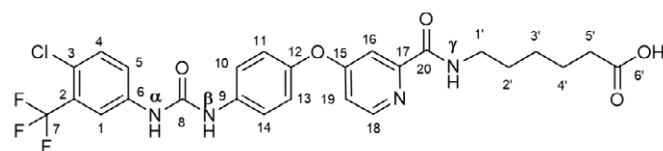


Рис. 1. Структура сорафениба (SRF) и вориноста (SAHA) с выделенными элементами фармакофора: кап (cap) – синий, соединительный элемент (CU) – коричневый, линкер (linker) – зеленый, цинк-связывающая группа (ZBG) – красный

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали: аминокaproновую кислоту, 4-(аминометил)-бензойную кислоту, диазабициклоундецен (DBU), 1,1'-карбонилдиимидазол (CDI), гидроксилламин гидрохлорид, гидроксилламин 50% водный раствор, гидразин гидрат – все фирмы Sigma-Aldrich (США); этиловый эфир 4-аминобензойной кислоты (Acros Organics, США) бис(2-оксо-3-оксазолидинил)фосфинхлорид (BOP-Cl) LEAPChem (КНР); 4-формил-N-гидроксibenзамид синтезирован согласно [9]. Колоночную хроматографию выполняли на силикагеле Kieselgel 0.060–0.200 мм фирмы Acros Organics, системы для элюции указаны в тексте. ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F254 (Supelco, США). Спектры ЯМР (δ , м.д.; J , Гц) регистрировали на спектрометре Avance III (Bruker, ФРГ) с рабочей частотой 300 МГц для ^1H -ЯМР (внутренний стандарт – Me_4Si , растворитель $\text{DMSO}-d_6$), 100.6 МГц для ^{13}C -ЯМР (с подавлением углерод-протонного взаимодействия, растворитель $\text{DMSO}-d_6$) и 282 МГц для ^{19}F -ЯМР (растворитель $\text{DMSO}-d_6$). Химические сдвиги приведены в миллионных долях, КССВ – в герцах. Спектры ^1H -ЯМР NOESY и ROESY записывали в сухом $\text{DMSO}-d_6$. Время смешивания, использованное при записи спектров NOESY, подбирали специально для максимизации интенсивности дипольных кросс-пиков (0.25 с).

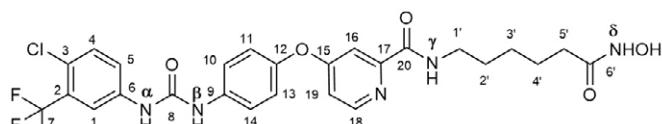
Синтез гидроксамовых производных сорафениба – SRF-CHA, SRF-BHA, SRF-THA и SRF-H-BHA



(i) SRF-CA

6-(4-(4-(3-(4-хлор-3-(трифторметил)фенил)уреидо)фенокси)пиколинамид)гексановая кислота (SRF-CA). Смесь 466 мг (1 ммоль) метилового эфира сорафенибкарбоновой кислоты (SRF-ME) [10], 262 мг (2 ммоль) аминокaproновой кислоты и 383 мг (2.5 ммоль) DBU в 10 мл MeOH перемешивали при кипячении в течение 6 ч. Охлаждали

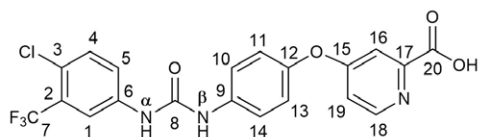
до комнатной температуры, разбавляли реакционную смесь 10 мл H_2O , нейтрализовали с помощью HCl (1:1) до pH 5–6 и охлаждали при 10°C в течение 18 ч. Выпавший осадок затирали, отфильтровывали, промывали H_2O и сушили на воздухе. Продукт выделяли хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь CHCl_3 –EtOH, 10 : 1. Отобранные фракции упаривали, остаток растворяли в 3 мл CHCl_3 и охлаждали при 10°C в течение 18 ч. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали CHCl_3 и после высушивания на воздухе получали 400 мг (71%) SRF-CA. Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 11.94 (1H, с, OH), 9.20 (1H, с, NH^α), 8.97 (1H, с, NH^β), 8.76 (1H, т, J 6.0, NH^γ), 8.51 (1H, д, J 5.6, H18), 8.12 (1H, д, J 2.1, H16), 7.73–7.53 (4H, м, H4, H10 и H14, H19), 7.40 (1H, д, J 2.5, H1), 7.24–7.08 (3H, м, H5, H11 и H13), 3.26 (2H, к, J 6.5, H1'), 2.19 (2H, т, J 7.3, H5'), 1.65–1.43 (4H, м, H2' и H4'), 1.36–1.20 (2H, м, H3'). Спектр ^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 174.87 (C6'), 166.46 (C15), 163.60 (C20), 152.96 (C8 или C17), 152.94 (C8 или C17), 150.77 (C18), 148.35 (C12), 139.80 (C9), 137.51 (C6), 132.44 (C4 или C5), 127.21 (к, J 30.3, C2), 123.57 (C4 или C5), 123.29 (к, J 273, C7), 122.85 (C3), 121.89 (C10 и C14), 121.00 (C11 и C13), 117.33 (к, J 5.5, C1), 114.53 (C19), 109.24 (C16), 39.17 (C1'), 34.04 (C5'), 29.30 (C2'), 26.41 (C3'), 24.68 (C4'). Сигнал ^{19}F -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ -61.47 (CF_3).



(ii) SRF-CHA

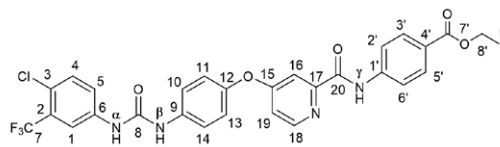
4-(4-(3-(4-хлор-3-(трифторметил)фенил)уреидо)фенокси)-N-(6-(гидроксиамино)-6-оксогексил)пиколинамид (SRF-CHA). К раствору 363 мг (0.643 ммоль) SRF-CA в 0.7 мл DMF добавляли 115 мг (0.71 ммоль) CDI. Через 1 ч 40 мин добавляли 70 мг (1.00 ммоль) гидроксилламина гидрохлорида, перемешивали до растворения в течение 10 мин и оставляли на 2 ч. Разбавляли реакционную смесь 3.5 мл H_2O и охлаждали при 10°C в течение 18 ч. Супернатант декантировали, а выпавшее масло за-

тирвали в 7 мл холодной воды до рыхлого осадка, отфильтровывали и подсушивали на воздухе. Продукт выделяли хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь CHCl_3 –EtOH, сначала 7.5 : 1, а затем 5 : 1. Отобранные фракции упаривали и получали 262 мг (70%) *SRF-CHA*. Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 10.30 (1H, с, NH^δ), 9.23 (1H, с, NH^α), 9.01 (1H, с, NH^β), 8.75 (1H, т, J 5.9, NH^γ), 8.63 (1H, с, OH), 8.51 (1H, д, J 5.5, H18), 8.13 (1H, с, H16), 7.74–7.54 (4H, м, H4, H10 и H14, H19), 7.39 (1H, д, J 2.3, H1), 7.22–7.12 (3H, м, H5, H11 и H13), 3.25 (2H, к, J 6.6, H1'), 1.94 (2H, т, J 7.3, H5'), 1.61–1.41 (4H, м, H2' и H4'), 1.34–1.17 (2H, м, H3'). Спектр ^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 169.57 (C6'), 166.47 (C15), 163.60 (C20), 152.95 (C8 и C17), 150.77 (C18), 148.35 (C12), 139.79 (C9), 137.51 (C6), 132.44 (C4 или C5), 127.21 (к, J 30.7, C2), 123.58 (C4 или C5), 123.29 (к, J 273, C7), 122.85 (C3), 121.89 (C10 и C14), 121.00 (C11 и C13), 117.33 (к, J 5.5, C1), 114.54 (C19), 109.24 (C16), 39.21 (C1'), 32.67 (C5'), 29.34 (C2'), 26.49 (C3'), 25.33 (C4'). Сигнал ^{19}F -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ -61.47 (CF_3).



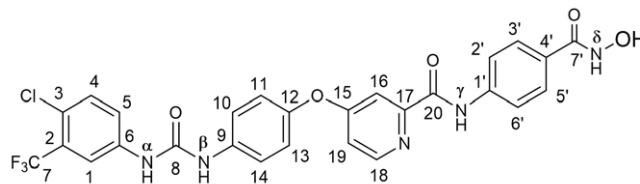
(iii) *SRF-A*

4-(4-(3-(4-хлор-3-(трифторметил)фенил)уреидо)фенокси)пиколиновая кислота (SRF-A). В 12 мл смеси THF–MeOH– H_2O , 1 : 1 : 1, растворяли 0.67 г (12 ммоль) KOH и добавляли при перемешивании 2.32 г (5 ммоль) *SRF-ME* двумя равными порциями с интервалом 10 мин и после растворения исходного соединения оставляли при комнатной температуре на 1 ч. Разбавляли реакционную смесь 12 мл H_2O , нейтрализовали с помощью HCl (1 : 1) до pH $\approx$ 1.5, затирали выпавший осадок, добавляли еще 12 мл H_2O и охлаждали при 10°C в течение 1 ч. Осадок отфильтровывали, промывали H_2O и после высушивания на воздухе получали 2.20 г (97%) *SRF-A*. Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 9.29 (1H, с, NH^α), 9.06 (1H, с, NH^β), 8.58 (1H, д, J 5.7, H18), 8.13 (1H, д, J 2.4, H16), 7.70–7.56 (4H, м, H4, H10 и H14, H19), 7.44 (1H, д, J 2.5, H1), 7.24–7.13 (3H, м, H5, H11 и H13). Спектр ^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 166.47 (C20), 165.85 (C15), 152.96 (C8), 151.19 (C18), 150.86 (C17), 148.20 (C12), 139.81 (C9), 137.65 (C6), 132.44 (C4 или C5), 127.21 (к, J 30.5, C2), 123.54 (C4 или C5), 123.28 (к, J 273, C7), 122.83 (C3), 121.84 (C10 и C14), 120.99 (C11 и C13), 117.30 (к, J 5.5, C1), 115.12 (C19), 112.32 (C16). Сигнал ^{19}F -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ -61.46 (CF_3).



(iv) *SRF-BEE*

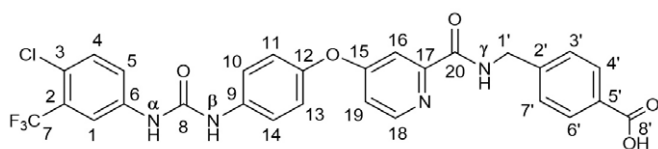
Этил 4-(4-(4-(3-(4-хлор-3-(трифторметил)фенил)уреидо)фенокси)пиколината бензоат (SRF-BEE). К суспензии 452 мг (1 ммоль) *SRF-A* в 10 мл смеси пиридин–THF, 1 : 1, добавляли 300 мг (1.18 ммоль) BOP-Cl и перемешивали в течение 10 мин, после чего добавляли 230 мг (1.39 ммоль) этилового эфира *n*-аминобензойной кислоты (АБКЭ). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1.5 ч, после чего добавляли еще 300 мг (1.18 ммоль) BOP-Cl и через 10 мин – 230 мг (1.39 ммоль) АБКЭ, продолжали перемешивание в течение 1.5 ч при комнатной температуре. Добавляли 30 мл воды и перемешивали в течение 1–1.5 ч до формирования гомогенного осадка, после чего отфильтровывали, промывая водой (3 раза по 20 мл). После высушивания на воздухе осадок суспендировали в 10 мл метанола, фильтровали, промывали 5 мл метанола, фильтровали и после высушивания на воздухе получали 442 мг (74%) *SRF-BEE*. Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 10.93 (1H, с, NH^γ), δ 9.22 (1H, с, NH^α), 9.01 (1H, с, NH^β), 8.64 (1H, д, J 5.6, H18), 8.13 (1H, д, J 1.9, H16), 8.05 (2H, д, J 8.8, H3' и H5'), 7.95 (2H, д, J 8.7, H2' и H6'), 7.71–7.59 (4H, м, H4, H10 и H14, H19), 7.54 (1H, д, J 2.5 H1), 7.29–7.16 (3H, м, H5, H11 и H13), 4.30 (2H, к, J 7.1, H8'), 1.32 (3H, т, J 7.1, H9'). Спектр ^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 166.70 (C7'), 165.75 (C15), 162.86 (C20), 152.94 (C8), 152.29 (C17), 150.94 (C18), 148.25 (C12), 142.97 (C1'), 139.78 (C9), 137.62 (C6), 132.43 (C4 или C5), 130.46 (C3' и C5'), 127.20 (к, J 30.5, C2), 125.48 (C4'), 123.57 (C4 или C5), 123.28 (к, J 273, C7), 122.85 (C3), 121.88 (C10 и C14), 121.02 (C11 и C13), 120.20 (C2' и C6'), 117.31 (к, J 5.4, C1), 115.19 (C19), 110.02 (C16), 60.93 (C8'), 14.63 (C9'). Сигнал ^{19}F -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ -61.44 (CF_3).



(v) *SRF-BHA*

4-(4-(3-(4-хлор-3-(трифторметил)фенил)уреидо)фенокси)-N-(4-(гидроксикарбамоил)-фенил)пиколинамид (SRF-BHA). К раствору 300 мг (0.50 ммоль) *SRF-BEE* в 7.5 мл смеси MeOH–THF, 1 : 2, добавляли

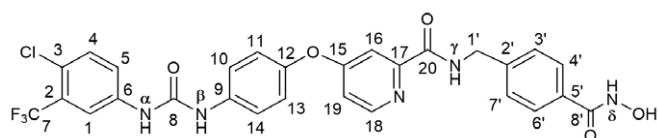
500 мг (7.58 ммоль) NH_2OH (50%), охлаждали до 0°C и добавляли 56 мг (1.00 ммоль) KOH , растворенного в 1 мл MeOH . Через 30 мин убирали охлаждение и оставляли на 18 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и добавляли 28 мг (0.5 ммоль) KOH , растворенного в 0.5 мл MeOH . Через 30 мин убирали охлаждение и оставляли на 3 ч, после чего добавляли 0.5 мл (8.75 ммоль) AcOH и упаривали до половины исходного объема, добавляли 4 мл MeOH и упаривали также до половины объема. Добавляли к остатку 5 мл MeOH , выпавший осадок затирали, отфильтровывали, высушивали на фильтре и последовательно промывали два раза по 3 мл 2% раствора триэтиламина в MeCN , 3 мл MeCN и 3 мл CH_2Cl_2 , высушивали на воздухе и получали 230 мг (71%) *SRF-BHA*. Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 11.13 (1H, с, NH^δ), δ 10.82 (1H, с, NH^γ), δ 9.28 (1H, с, NH^α), δ 9.07 (1H, с, NH^β), δ 8.96 (1H, с, OH), 8.63 (1H, д, J 5.6, H18), 8.13 (1H, д, J 2.0, H16), 7.96 (2H, д, J 8.7, H3' и H5'), 7.75 (2H, д, J 8.7, H2' и H6'), 7.71–7.58 (4H, м, H4, H10 и H14, H19), 7.53 (1H, д, J 2.5, H1), 7.29–7.16 (3H, м, H5, H11 и H13). Спектр ^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 166.73 (C7'), 164.35 (C15), 162.86 (C20), 152.97 (C8), 152.43 (C17), 150.94 (C18), 148.26 (C12), 141.18 (C1'), 139.82 (C9), 137.65 (C6), 132.45 (C4 или C5), 128.51 (C4'), 128.03 (C3' и C5'), 127.21 (к, J 30.8, C2), 123.59 (C4 или C5), 123.29 (к, J 273, C7), 122.84 (д, J 1.5, C3), 121.91 (C10 и C14), 121.03 (C11 и C13), 120.16 (C2' и C6'), 117.33 (к, J 5.4, C1), 115.16 (C19), 109.93 (C16). Сигнал ^{19}F -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ -61.44 (CF_3).



(vi) *SRF-TA*

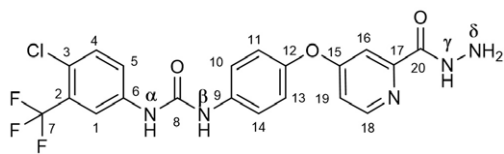
4-(4-(4-(3-(4-хлор-3-(трифторметил)фенил)уреидо)фенокси)пиколинамид)метилбензойная кислота (SRF-TA). Смесь 466 мг (1 ммоль) *SRF-ME*, 302 мг (2 ммоль) 4-(аминометил)бензойной кислоты и 383 мг (2.5 ммоль) DBU в 6 мл MeOH перемешивали при кипячении в течение 14 ч. Охлаждали до комнатной температуры, разбавляли реакционную смесь 15 мл H_2O , нейтрализовали с помощью AcOH до $\text{pH} \approx 5$ –6, затирали выпавший осадок и охлаждали при 10°C в течение 4 ч. Осадок отфильтровывали, промывали H_2O и высушивали на воздухе. Продукт выделяли хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь CHCl_3 – EtOH (5 : 1), с добавлением AcOH (1% от общего объема). Отобранные фракции упаривали, остаток затирали

в 10 мл MeOH , отфильтровывали, промывали 4 мл MeOH и после высушивания на воздухе получали 269 мг (46%) *SRF-TA*. Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 12.82 (1H, с, OH), 9.44 (1H, т, J 6.4, NH^γ), 9.20 (1H, с, NH^α), 8.98 (1H, с, NH^β), 8.54 (1H, д, J 5.6, H18), 8.12 (1H, д, J 2.4, H16), 7.89 (2H, д, J 8.3, H4' и H6'), 7.70–7.57 (4H, м, H4, H10 и H14, H19), 7.45–7.37 (3H, м, H1, H3' и H7'), 7.24–7.13 (3H, м, H5, H11 и H13), 4.54 (2H, д, J 6.3, H1'). Спектр ^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 167.64 (C8'), 166.51 (C15), 164.06 (C20), 152.94 (C8 или C17), 152.67 (C8 или C17), 150.93 (C18), 148.31 (C12), 145.00 (C2'), 139.79 (C9), 137.55 (C6), 132.44 (C4 или C5), 129.83 (C4' и C6'), 129.78 (C5'), 127.75 (C3' и C7'), 127.21 (к, J 30.6, C2), 123.58 (C4 или C5), 123.29 (к, J 273, C7), 122.83 (C3), 121.91 (C10 и C14), 121.01 (C11 и C13), 117.33 (к, J 5.6, C1), 114.78 (C19), 109.46 (C16), 42.78 (C1'). Сигнал ^{19}F -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ -61.45 (CF_3).



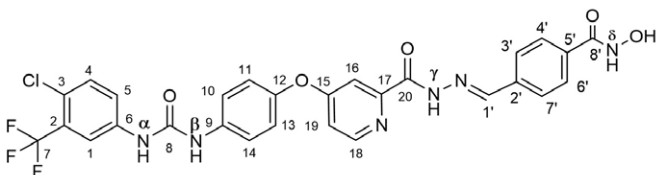
(vii) *SRF-TA*

4-(4-(4-(3-(4-хлор-3-(трифторметил)фенил)уреидо)фенокси)N-(4-(гидроксикарбамоил)-бензил)-пиколинамид (SRF-TA). К раствору 275 мг (0.47 ммоль) *SRF-TA* в 0.55 мл DMF добавляли 120 мг (0.74 ммоль) CDI . Через 1 ч 30 мин добавляли 120 мг (1.73 ммоль) гидроксиламингидрохлорида, перемешивали до растворения в течение 10 мин и оставляли на 18 ч. Разбавляли реакционную смесь 7 мл H_2O , тщательно затирали осадок, через 30 мин отфильтровывали, промывали на фильтре 7 мл H_2O , высушивали на воздухе. Продукт выделяли хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь CHCl_3 – EtOH , 7 : 1. Отобранные фракции упаривали и получали 125 мг (44%) *SRF-TA*. Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 11.14 (1H, с, NH^δ), 9.41 (1H, т, J 6.3, NH^γ), 9.23 (1H, с, OH), 9.01 (1H, с, NH^α), 8.96 (1H, с, NH^β), 8.54 (1H, д, J 5.6, H18), 8.12 (1H, д, J 1.8, H16), 7.76–7.55 (6H, м, H4, H10 и H14, H19, H4' и H6'), 7.41 (1H, д, J 2.5, H1), 7.36 (2H, д, J 8.2, H3' и H7'), 7.26–7.12 (3H, м, H5, H11 и H13), 4.50 (2H, д, J 6.3, H1'). Спектр ^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 166.50 (C15), 164.63 (C8'), 164.01 (C20), 152.94 (C8 или C17), 152.70 (C8 или C17), 150.93 (C18), 148.32 (C12), 143.12 (C2'), 139.79 (C9), 137.54 (C6), 132.45 (C4 или C5), 131.81 (C5'), 127.66 (C2, C4' и C6'), 127.37 (C2, C3' и C7'), 127.01 (C2), 123.58 (C4 или C5), 123.29 (к, J 273, C7), 122.84 (C3), 121.91 (C10 и C14), 121.01 (C11 и C13), 117.33 (к, J 5.4, C1), 114.77 (C19), 109.44 (C16), 42.72 (C1'). Сигнал ^{19}F -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ -61.44 (CF_3).



(viii) SRF-H

1-(4-хлор-3-(трифторметил)фенил)-3-(4-((2-(гидразинкарбонил)пиридин-4-ил)окси)-фенил)мочевина (SRF-H). К суспензии 466 мг (1 ммоль) SRF-ME в 3 мл смеси MeOH–CH₂Cl₂, 2 : 1, добавляли 250 мг (5 ммоль) гидразин гидрата и перемешивали в течение 10 мин до растворения исходного соединения. Через 2 ч добавляли 2 мл MeOH и упаривали до густого сиропа, добавляли 10 мл H₂O, затирали до формирования гомогенного осадка, охлаждали при 0°C в течение 1.5 ч, отфильтровывали, промывали водой (2 раза по 3 мл), после высушивания на воздухе получали 404 мг (87%) SRF-H. Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-*d*₆): δ 9.86 (1H, с, NH^γ), 9.19 (1H, с, NH^α), 8.97 (1H, с, NH^β), 8.48 (1H, д, *J* 5.6, H18), 8.12 (1H, д, *J* 2.3, H16), 7.72–7.55 (4H, м, H4, H10 и H14, H19), 7.38 (1H, д, *J* 2.5, H1), 7.17 (2H, д, *J* 8.9, H11 и H13), 7.12 (1H, дд, *J* 5.6 и 2.6, H5), 4.56 (2H, с, NH^δ). Спектр ¹³C-ЯМР (DMSO-*d*₆): δ 166.31 (C15), 162.45 (C20), 152.94 (C8), 152.60 (C17), 150.96 (C18), 148.36 (C12), 139.79 (C9), 137.51 (C6), 132.43 (C4 или C5), 127.22 (к, *J* 30.8, C2), 123.58 (C4 или C5), 123.29 (к, *J* 273, C7), 122.86 (д, *J* 1.7, C3), 121.86 (C10 и C14), 121.01 (C11 и C13), 117.34 (к, *J* 5.7, C1), 114.33 (C19), 109.25 (C16). Сигнал ¹⁹F-ЯМР (DMSO-*d*₆): δ -61.45 (CF₃).



(ix) SRF-H-BHA

(E)-4-((2-(4-(4-(3-(4-хлор-3-(трифторметил)фенил)уреидо)фенокси)пиколиноил)гидразиноилиден)-метил)-N-гидроксibenзамид (SRF-H-BHA). К суспензии 233 мг (0.50 ммоль) SRF-H в 3 мл смеси MeOH–CH₂Cl₂, 2 : 1, добавляли раствор 85 мг (0.515 ммоль) 4-формил-N-гидроксibenзамида [9] в 3.5 мл смеси MeOH–CH₂Cl₂, 5 : 2, и 30 мкл AcOH_{кат} и перемешивали в течение 5 мин до растворения исходного соединения. Через 4 ч выпавший осадок отфильтровывали, последовательно промыва-

ли на фильтре 10 мл EtOH и 5 мл MeOH и после высушивания на воздухе получали 258 мг (84%) SRF-H-BHA. Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-*d*₆): δ 12.23 (1H, с, NH^γ), 11.27 (1H, с, NH^δ), 9.25 (1H, с, NH^α), 9.08 (1H, с, OH), 9.04 (1H, с, NH^β), 8.69 (1H, с, H1'), 8.60 (1H, д, *J* 5.6, H18), 8.13 (1H, д, *J* 2.2, H16), 7.84 (2H, д, *J* 8.4, H3' и H7'), 7.71 (2H, д, *J* 8.4, H4' и H6'), 7.71–7.59 (4H, м, H4, H10 и H14, H19), 7.50 (1H, д, *J* 2.5, H1), 7.25–7.18 (3H, м, H5, H11 и H13). Спектр ¹³C-ЯМР (DMSO-*d*₆): δ 166.56 (C15), 164.14 (C8'), 160.49 (C20), 152.96 (C8), 152.23 (C17), 151.04 (C18), 148.98 (C1'), 148.27 (C12), 139.80 (C9), 137.62 (C6), 137.23 (C2'), 134.46 (C5'), 132.48 (C4 или C5), 127.93 (C3' и C7'), 127.47 (C4' и C6'), 127.21 (к, *J* 30.7, C2), 123.63 (C4 или C5), 123.30 (к, *J* 273, C7), 122.86 (д, *J* 1.3, C3), 121.94 (C10 и C14), 121.05 (C11 и C13), 117.35 (к, *J* 5.7, C1), 115.16 (C19), 110.14 (C16). Сигнал ¹⁹F-ЯМР (DMSO-*d*₆): δ -61.43 (CF₃).

Клетки, среды и реагенты

В работе использовали линии клеток гепатоцеллюлярной карциномы Huh7, Huh7.5, HepG2, PLC/PRF/5, колоректального рака HCT116, нейробластомы SH-SY5Y, промиелоцитарного лейкоза HL60 и хронического миелоидного лейкоза K562. Дифференцированные клетки линии НераRG получены согласно [11]. Сорафениб и вориностат приобретены в Selleck Chemicals, флуорогенные субстраты Boc-Lys(Асy1)-АМС получены как описано ранее [12].

Определение жизнеспособности адгезионных клеток

Линии адгезионных клеток переседали в 96-луночные культуральные планшеты так, чтобы через 24 ч после посева конфлюентность клеток составляла 50–60%. Клетки инкубировали с исследуемыми ингибиторами в различных концентрациях в течение 48 ч и определяли жизнеспособность клеток с помощью набора Cell Proliferation Kit I (MTT-тест) в соответствии с указаниями производителя (Sigma-Aldrich, США). Оптическую плотность продукта восстановления, формазана, измеряли с помощью многофункционального ридера Spark (Tecan Trading, Швейцария) на длине волны 544 нм. Проводили не менее шести повторов с каждой концентрацией ингибиторов.

Определение жизнеспособности дифференцированных клеток НераRG

Недифференцированные клетки линии НераRG переседали в 96-луночные культуральные планшеты (~ 5 × 10⁴ клеток на лунку) и инкубировали как описано ранее [11]. По достижении клетками 100% кон-

флюоентности осуществляли их дифференцировку, для чего планшеты с клетками выдерживали в течение 14 дней со сменой среды 1 раз в 7 дней, затем выдерживали в течение 14 дней в среде, содержащей 1.8% DMSO (Sigma), со сменой среды 1 раз в 7 дней. По завершении дифференцировки (28 дней) заменяли среду на среду, содержащую 1.8% DMSO и тестируемые вещества в исследуемых концентрациях, и инкубировали в течение 72 ч. Жизнеспособность клеток определяли с помощью МТТ-теста как описано выше. С каждой концентрацией ингибиторов проводили не менее восьми повторов.

Определение жизнеспособности клеток в суспензионной культуре

Суспензию клеток пересевали в 96-луночные культуральные планшеты ($\sim 1.5 \times 10^4$ клеток на лунку). Через 24 ч после посева клетки инкубировали с различными концентрациями исследуемых ингибиторов в течение 48 ч, после чего добавляли 10 мкл раствора резазурина в PBS (2 мг/мл) и выдерживали в CO_2 -инкубаторе в течение 4 ч. Флуоресценцию продукта восстановления, резазурина, измеряли с помощью многофункционального ридера Spark (Tecan Trading, Швейцария) на длинах волн $571_{\text{ex}}/584_{\text{em}}$ нм. Для каждой концентрации ингибиторов делали не менее шести повторов.

Клеточная система тестирования силы и селективности ингибирования HDAC

Клетки НСТ116 пересевали в 96-луночные культуральные планшеты так, чтобы через 24 ч после посева конfluence клеток составляла 70–80%. Клетки инкубировали с различными концентрациями исследуемых ингибиторов в течение 24 ч. Затем три четверти объема из каждой лунки удаляли и заменяли тем же объемом клеточной среды, содержащим как ингибитор в той же концентрации, так и один из трех субстратов, т.е. $\text{Sub}^{\text{Ac/Pro/Tfa}}$, в концентрации 30 мкМ. После дополнительной 4-часовой инкубации аликвоты культуральной жидкости переносили в планшет для измерения флуоресценции (SPL Life Sciences, Республика Корея), разбавляли в 2 раза раствором трипсина (2 мг/мл в буфере Трис-НСl pH 8.0) и инкубировали в течение 60 мин при 37°C. Флуоресценцию измеряли с помощью многофункционального ридера Spark (Tecan Trading) на длинах волн $360_{\text{ex}}/470_{\text{em}}$ нм. Интенсивность флуоресценции в каждой лунке нормализовали на значения цитотоксичности, полученные для той же лунки. Величину флуоресцентного сигнала (RFU) для каждой концентрации испытуемого соединения рассчитывали по приведенной ниже формуле:

$$\text{RFU} = \frac{\sum_n (F_i - F_0)}{C_v \cdot n};$$

где F_i — величина флуоресценции в лунке с пробой, F_0 — величина флуоресценции в лунке с растворенным в среде субстратом без клеток, C_v — жизнеспособность клеток, а n — количество повторов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Дизайн структуры гидроксамовых производных сорафениба

При конструировании гибридных ингибиторов (ГИ) мы руководствовались желанием максимально сохранить структуру сорафениба в качестве заведомо сильной «киназной» компоненты и использовать в составе «деацетилазной» компоненты остатки гидроксамовых кислот, n -гексановой и бензойной, характерных для высокоэффективных HDACi (рис. 2). Чтобы выполнить оба требования, местом стыковки «киназной» и «деацетилазной» компонент был выбран пиколинамидный остаток сорафениба, по данным кристаллографии экспонированный к выходу из сайта связывания сорафениба с активным центром киназы B-RAF [13]. Мы рассчитывали, что «деацетилазный» фрагмент гибридного ингибитора — линкер-ZBG — не создаст стерических препятствий для взаимодействия с B-RAF.

Синтез гидроксамовых производных сорафениба

В соответствии со схемой синтеза (рис. 2) для получения всех ГИ в качестве исходного соединения использовали метиловый эфир сорафенибкарбоновой кислоты *SRF-ME*, получение которого описано ранее [10]. Этот пиколиновый эфир оказался существенно активированным, так что образование амидной связи с аминогруппой ϵ -аминокапроновой и 4-(аминометил)бензойной кислот достигалось кипячением в метаноле в присутствии сильного основания (DBU). Конверсию полученных карбоновых кислот *SRF-CA* и *SRF-TA* в соответствующие гидроксаматы *SRF-CHA* и *SRF-THA* осуществляли обработкой CDI и гидроксидом гидроксилamina как описано ранее [14].

Высокая реакционная способность *SRF-ME* позволила нам в ходе мягкого щелочного гидролиза получить сорафенибкарбоновую кислоту *SRF-A* с практически количественным выходом по аналогии с [15], однако процедура выделения была нами существенно упрощена. Амидирование *SRF-A* этил n -аминобензоатом в присутствии конденсирующего реагента BOP-Cl дало промежуточный сложный эфир *SRF-BEE*, из которого путем гидроксамидолиза был приготовлен целевой гидроксамат *SRF-BHA* (рис. 2).

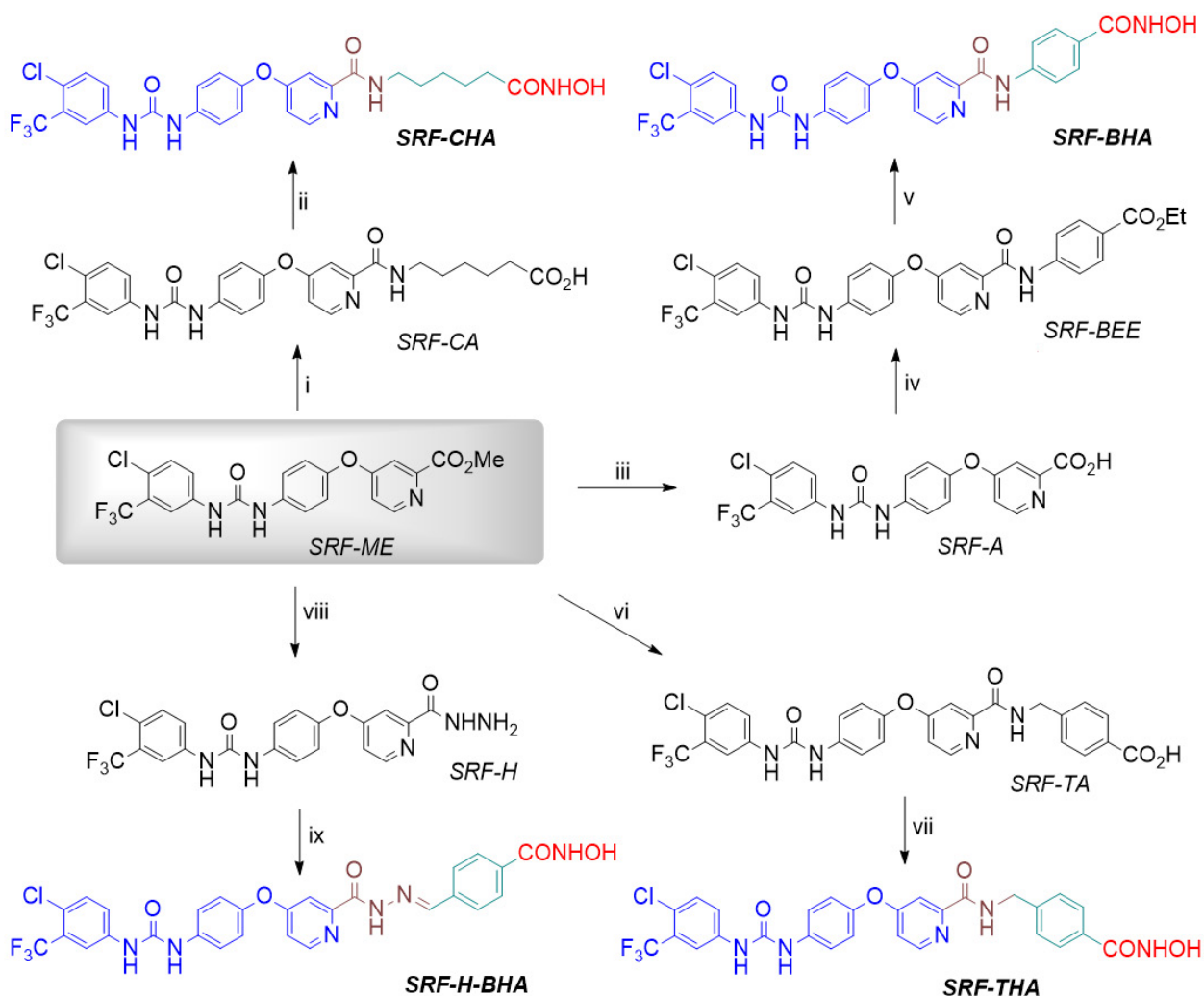


Рис. 2. Схема синтеза гидроксамовых производных сорафениба: **SRF-CHA**, **SRF-BHA**, **SRF-TA** и **SRF-H-BHA** (кеп – синий, соединительный элемент (CU) – коричневый, линкер (linker) – зеленый, цинк-связывающая группа (ZBG) – красный). Реагенты, условия и выход (%): (i) $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CO}_2\text{H}$, DBU, MeOH, D, 6 ч (71%); (ii) CDI, DMF, 2 ч, затем $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, 18 ч (70%); (iii) KOH, THF/MeOH/ H_2O , 1 ч (97%); (iv) $p\text{-NH}_2\text{PhCO}_2\text{Et}$, BOP-Cl, THF/ Py , 3 ч (74%); (v) NH_2OH , MeOH/THF, 0°C , 0.5 ч, затем 18 ч (71%); (vi) $p\text{-NH}_2\text{CH}_2\text{PhCO}_2\text{H}$, DBU, MeOH, D, 14 ч (46%); (vii) CDI, DMF, 1.5 ч, затем $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, 18 ч (44%); (viii) $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$, MeOH/ CH_2Cl_2 , 2 ч (87%); (ix) $p\text{-(CHO)-PhCONHOH}$, $\text{AcOH}_{\text{кат}}$, MeOH/ CH_2Cl_2 , 4 ч (84%)

Так же гладко, как и в [10], но несколько быстрее протекал гидролиз **SRF-ME**, а полученный гидразид сорафенибкарбоновой кислоты **SRF-H** в ходе клик-реакции с 4-формил-N-гидроксibenзамидом [9] давал требуемый **SRF-H-BHA** в виде (*E*)-изомерного пиколиноилгидразона (рис. 2 и 3). Заметим, что в структуре всех синтезированных нами гибридных ингибиторов был сохранен N-монозамещенный пиколинамидный фрагмент сорафениба (PyCONHR), который, по данным кристаллографии, в составе комплекса взаимодействует с пептидным остовом Cys532 киназы B-Raf [13].

Определение конфигурации пиколиноилгидразона

Для подтверждения того, что полученное вещество **SRF-H-BHA** представляет собой (*E*)-изомер, были записаны двумерные корреляционные спектры NOESY [16] (рис. 3А), в которых наблюдался интенсивный положительный кросс-пик на (12.23, 8.69), что соответствует взаимодействию протонов $\text{H1}'$ и NH^x . Ввиду того, что молекулярная масса вещества лежит в области от 0.5 до 1.0 кДа, где ЯЭО (ядерный эффект Оверхаузера) меняет знак ($\omega\tau_c \sim 1$), и по знаку наблюдаемые диполь-диполь-

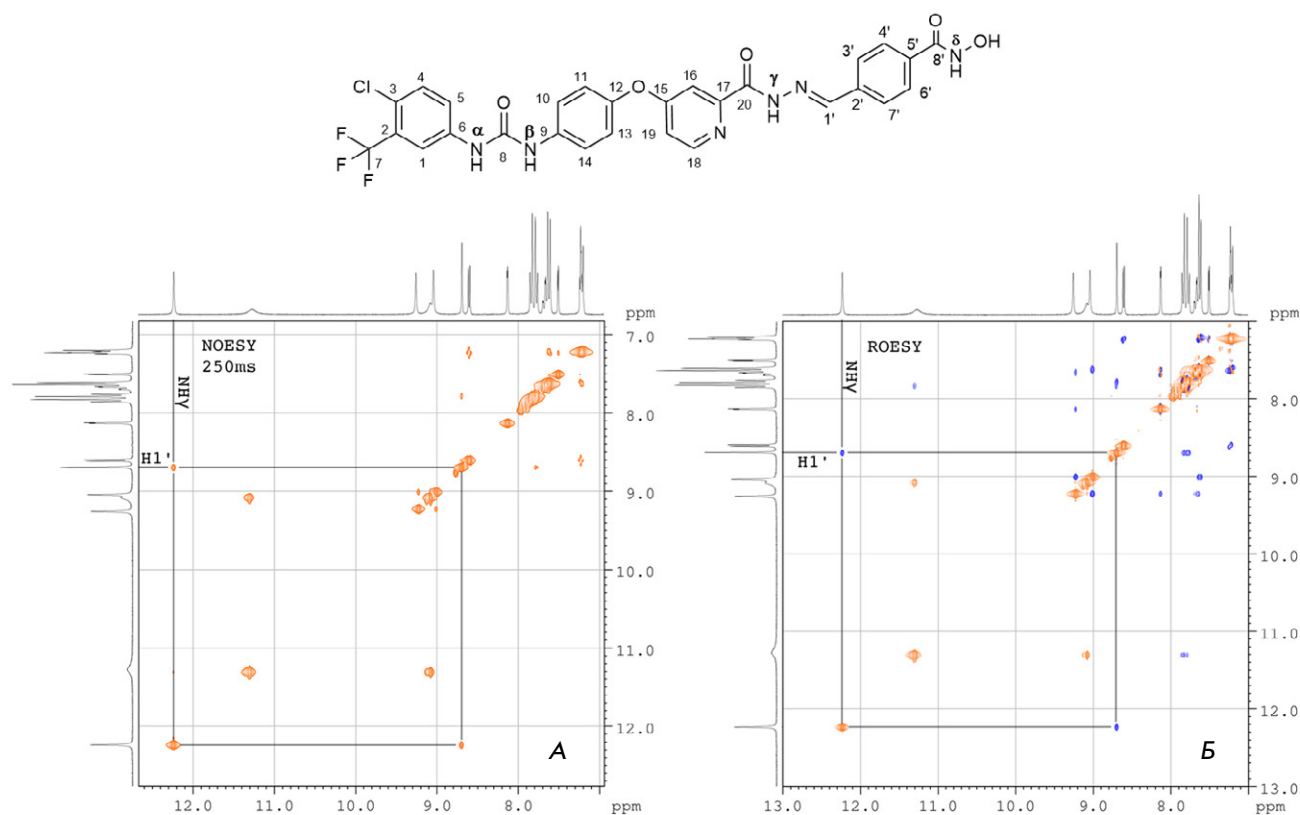


Рис. 3. Структура (*E*)-изомера *SRF-H-BHA* с нумерацией атомов и двумерные ^1H -спектры NOESY при времени смешивания 0.25 с (А) и ROESY (Б) 8 мг вещества *SRF-H-BHA* в DMSO-d_6 . Отмечены кросс-пики между пиколиноилгидразоновым протоном NH^γ и протоном $\text{H1}'$ при двойной связи. NOESY – Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy, ROESY – Rotating frame Overhauser Effect Spectroscopy

ные кросс-пики нельзя, в общем случае, отличить от обменных, был записан спектр ROESY [17] (ЯЭО во вращающейся системе координат, рис. 3Б), где также наблюдался интенсивный кросс-пик на (12.23, 8.69) отрицательной интенсивности, что однозначно подтверждало его диполь-дипольную природу. Молекулярные модели соединения ***SRF-H-BHA*** (данные не приведены) показывают, что в (*E*)-изомере расстояние между протонами $\text{H1}'$ и NH^γ составляет приблизительно 0.25 нм, что соответствует сильному ЯЭО, наблюдавшемуся в двумерных корреляционных спектрах. В то же время в (*Z*)-изомере это расстояние составляет 0.37 нм и лежит вблизи границы возможности экспериментального обнаружения ЯЭО, следовательно, вероятность детекции интенсивных кросс-пигов ничтожна.

Оценка цитотоксичности гидроксамовых производных сорафениба

Цитотоксическое действие полученных ингибиторов сначала тестировали на панели из четырех линий клеток гепатомы человека: Huh7, Huh7.5, HepG2

и PLC/PRF/5 (табл. 1). С этой же целью использовали дифференцированные клетки линии HepaRG, которые, являясь суррогатом первичных гепатоцитов человека, широко применяются для изучения цитотоксического действия ксенобиотиков [11]. В качестве соединений сравнения использовали сорафениб (***SRF***) и вориностат – ингибитор HDACs класса I/IIb (***SAHA***) (рис. 1).

Как видно из результатов, представленных на табл. 1, антипролиферативная активность ГИ против клеточных линий гепатомы критически зависела от структуры линкера «деацетилазной» компоненты. По сравнению с сорафенибом протяженный алкильный линкер в молекуле ***SRF-CHA*** ассоциировался с ослаблением антипролиферативного действия в 3–4 раза и, наоборот, ***SRF-BHA*** и ***SRF-H-BHA***, несущие фенильный линкер, действовали в 1.5–2 раза сильнее. Значения IC_{50} у ингибитора ***SRF-THA***, в составе которого присутствовал бензильный линкер, были близки к значениям у сорафениба с отклонениями в ту или иную сторону не более чем в 1.5 раза.

Таблица 1. Антипролиферативное/цитотоксическое действие гибридных ингибиторов в культурах клеток гепатомы [■], нейробластомы [■], промиелоцитарного и хронического миелоидного лейкоза [■]; время инкубации 48 ч, клеток HeparG – 72 ч

Клетки	Huh7	Huh7.5	HepG2	PLC/PRF/5	HeparG	SH-SY5Y	HL60	K562
IC ₅₀ , мкМ								
<i>SRF Sorafenib</i>	3.87±1.14	4.54±0.59	16.6±2.4	18.0±0.9	13.7±2.6	9.19±2.61	6.34±0.21	9.33±0.02
<i>SRF-BHA</i>	3.63±1.42	2.86±1.09	12.9±6.1	7.69±0.81	12.4±4.8	4.00±0.21	5.08±1.50	4.17±0.27
<i>SRF-THA</i>	5.60±0.40	5.27±0.46	8.80±2.21	12.4±3.4	11.3±3.1	7.15±0.27	8.45±3.15	13.1±1.9
<i>SRF-H-BHA</i>	1.80±0.10	2.47±0.82	9.87±1.34	8.33±2.82	12.4±3.9	3.41±0.85	6.97±2.31	9.08±1.23
<i>SRF-CHA</i>	18.1±2.2	14.6±3.5	77.9±4.1	61.3±2.5	69.5±4.8	39.5±9.9	54.5±1.7	51.6±4.6
<i>SAHA Vorinostat</i>	1.73±0.18	1.89±0.22	1.88±0.19	11.4±2.6	14.3±0.6	1.90±0.08	9.43±2.98	8.74±3.06
1–3 мкМ	3–10 мкМ	10–30 мкМ	30–100 мкМ					

Поскольку дифференцированные клетки линии HeparG не пролиферируют, то очевидно, что снижение MTT-сигнала в этом случае вызвано цитотоксическим действием ингибиторов. Гидроксамовые производные, **SRF-BHA**, **SRF-THA** и **SRF-H-BHA**, и соединения сравнения, **SRF** и **SAHA**, имели приблизительно равную цитотоксичность в узком диапазоне значений IC₅₀ = 11.3–14.3 мкМ, а ингибитор **SRF-CHA** был примерно в 5 раз менее токсичен. Интересно, что полученный профиль значений IC₅₀ для всего набора соединений во многом повторял результаты тестирования на пролиферирующих клетках линии PLC/PRF/5, что позволяет предположить схожие механизмы ингибирования в обоих случаях.

Цитотоксическое действие полученных ингибиторов дополнительно изучали на клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y, а также на двух суспензионных линиях клеток лейкоза HL60 и K562 (табл. 1). Показано, что производное **SRF-CHA** гораздо менее активно в отношении и нейробластомы, и лейкоза, чем сорафениб, тогда как активность **SRF-BHA**, **SRF-THA** и **SRF-H-BHA** была приблизительно такой же, как у сорафениба. Таким образом, в клеточных линиях нейробластомы и лейкоза зависимость антипролиферативной активности ГИ от структуры «деацетилазной» компоненты была такой же, как и в случае клеточных линий гепатомы.

Тестирование силы и селективности ингибирования гистондеацетилаз

Ингибитор гистондеацетилаз **SAHA**, взятый в качестве контроля, оказывал сильное цитотоксическое действие на большинство изученных нами клеточных линий (табл. 1). Чтобы оценить связь противоопухолевой активности гидроксамовых производных сорафениба с подавлением активности гистондеацетилаз *in cell*, определили остаточную активность HDAC в присутствии ГИ с помощью клеточной

тест-системы s³CTS как описано ранее [12]. Сигнал s³CTS отражал уровень деацилирования *in cell* трех класс-селективных флуорогенных субстратов гистондеацетилаз общей структуры Boc-Lys(Acyl)-AMC, где Acyl = пропионил (Sub^{Pro}, HDACs класс I), ацетил (Sub^{Ac}, HDACs класс I и IIb) и трифторацетил (Sub^{Tfa}, HDACs класс IIa). В качестве отрицательного и положительного контроля работы тест-системы использованы сорафениб и вориностат соответственно.

Оказалось, что вплоть до концентрации 3 мкМ соединения **SRF**, **SRF-BHA** и **SRF-H-BHA** не ингибировали активность гистондеацетилаз *in cell* (рис. 4). В то же время **SRF-CHA** и **SAHA**, при существенном превосходстве последнего в силе ингибирования, демонстрировали одинаковую селективность ингибирования HDACs классов I и IIb. И наконец, в присутствии **SRF-THA** зафиксировано панингибирование гистондеацетилазной активности. Однако наблюдаемое в этом случае одновременное падение трех флуоресцентных сигналов могло говорить о сбое в работе тест-системы s³CTS за счет дополнительного ингибирования цинкзависимой пальмитоил-КоА-тиоэстеразы MBLAC2. Стоит заметить, что этот эффект часто наблюдается как раз в случае толуилгидроксамовых селективных ингибиторов HDAC6 класса IIb, включая тубастатин А и некстурастат А [12, 18].

Таким образом, по результатам тестирования из четырех полученных гидроксамовых производных сорафениба только **SRF-CHA** и **SRF-THA** являлись ингибиторами гистондеацетилаз (рис. 4). Учитывая данные по антипролиферативной активности (табл. 1), сделан вывод, что алкильный линкер в составе **SRF-CHA** препятствовал ингибированию тирозиновых протеинкиназ, и данный эффект лишь отчасти компенсировался ингибированием гистондеацетилаз. Сильное негативное влияние на активность производных сорафениба с протяженными

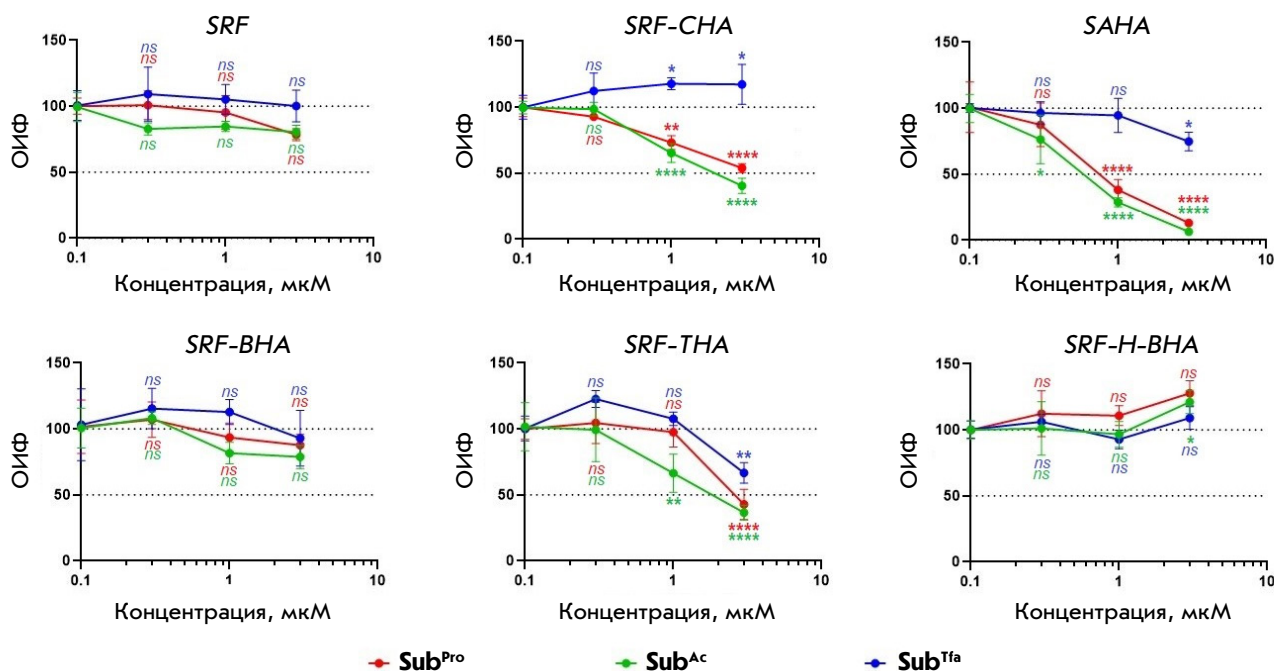


Рис. 4. Результаты *in cell* тестирования селективности и силы ингибирования HDACs в присутствии сорафениба (SRF), гибридных ингибиторов (SRF-CHA, SRF-BHA, SRF-THA и SRF-H-BHA) и вориностата (SAHA). Флуорогенные субстраты гистондеацетилаз – Sub^{Pro} (HDACs класс I), Sub^{Ac} (HDACs класс I и IIb) и Sub^{Tfa} (HDACs класс IIa); ОИФ – относительная интенсивность флуоресценции. Статистическая значимость рассчитана с помощью теста ANOVA (GraphPad Prism 8): **** $p < 0.001$, ** $0.01 < p < 0.05$, * $0.05 < p < 0.1$, ns – не существенно

ми алкильными заместителями в пиколинамидном остатке отмечали и ранее [10, 19]. То обстоятельство, что сила противоопухолевого действия **SRF-THA** и сорафениба на все исследованные клеточные линии была примерно одинаковой, не противоречит опубликованным ранее данным о близких значениях антипролиферативной активности сорафениба и его N-бензильного производного [20]. Исходя из этого, мы полагаем, что структуру **SRF-THA** вполне можно использовать для дизайна производных, несущих в своем составе более эффективную «деацетилазную» компоненту.

Интересно, что антипролиферативное действие и **SRF-BHA**, и **SRF-H-BHA** в подавляющем числе случаев заметно превосходило действие сорафениба, хотя эти соединения и не являются ингибиторами гистондеацетилаз (табл. 1 и рис. 4), что косвенно указывало на усиление «киназной» компоненты в этих соединениях. Нами уже отмечалось, что сорафениб взаимодействует с пептидным остовом Cys532 киназы B-RAF у выхода из сайта связывания, при этом пиколинамидный фрагмент ингибитора и остаток индола Trp530 располагаются параллельно и расстояние между ними составляет около 4.3 Å [10, 13]. Исходя из этого, можно предположить существование стекинг-взаимодействия между индольным остатком Trp530 и фенильным линкером

SRF-BHA или **SRF-H-BHA** благодаря взаимной компланарности обеих кольцевых систем и их пространственной сближенности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе путем модификаций пиколинамидного остатка ингибитора разработан дизайн и осуществлен синтез четырех гидроксамовых производных сорафениба. Структура всех полученных соединений подтверждена методами ЯМР. Методом тестирования *in cell* показано, что только два производных – **SRF-CHA** и **SRF-THA** – обладали способностью ингибировать HDACs в низких микромолярных концентрациях. Тестирование антипролиферативного действия целевых соединений на панели клеток гепатомы, нейробластомы и лейкоза показало высокую активность трех соединений – **SRF-BHA**, **SRF-THA** и **SRF-H-BHA**, сравнимую или превосходящую активность сорафениба. Используя **SRF-THA** в качестве базовой молекулы, представляется возможным получить новые гибридные ингибиторы PTKs/HDACs с высокой токсичностью в отношении опухолевых клеток. ●

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда – грант № 23-24-00542.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fan G., Wei X., Xu X. // *Ther. Adv. Med. Oncol.* 2020. V. 12. P. 1–21. doi: 10.1177/1758835920927602.
2. Wilhelm S.M., Adnane L., Newell P., Villanueva A., Llovet J.M., Lynch M. // *Mol. Cancer Ther.* 2008. V. 7. № 10. P. 3129–3140. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0013.
3. Cabral L.K.D., Tiribelli C., Sukowati C.H.C. // *Cancers.* 2020. V. 12. P. 1576. doi: 10.3390/cancers12061576.
4. Chang Y., Lee Y.B., Cho E.J., Lee J.-H., Yu S.J., Kim Y.J., Yoon J.-H. // *BMC Cancer.* 2020. V. 20. P. 1001. doi: 10.1186/s12885-020-07471-3.
5. Hsu F.-T., Liu Y.-C., Chiang I.-T., Liu R.-S., Wang H.-E., Lin W.-J., Hwang J.-J. // *Int. J. Oncol.* 2014. V. 45. P. 177–188. doi: 10.3892/ijo.2014.2423.
6. Liu J., Yang X., Liang Q., Yu Y., Shen X., Sun G. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2020. V. 126. P. 105820. doi: 10.1016/j.biocel.2020.105820.
7. Bass A.K.A., El-Zoghbi M.S., Nageeb E.M., Mohamed M.F.A., Badr M., Abuo-Rahma G.E.A. // *Eur. J. Med. Chem.* 2021. V. 209. P. 112904. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112904.
8. Melesina J., Simoben C.V., Praetorius L., Bülbül E.F., Robaa D., Sippl W. // *ChemMedChem.* 2021. V. 16. P. 1336–1359. doi: 10.1002/cmdc.202000934.
9. Rodrigues D.A., Ferreira-Silva G.À., Ferreira A.C.S., Fernandes R.A., Kwee J.K., Sant'Anna C.M.R., Ionta M., Fraga C.A.M. // *J. Med. Chem.* 2016. V. 59. № 2. P. 655–670. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01525.
10. Wang K., Kuerbana K., Wan Q., Yu Z., Ye L., Chen Y. // *Molecules.* 2020. V. 25. P. 573. doi: 10.3390/molecules25030573.
11. Gutmann M., Stimpfl E., Langmann G., Koudelka H., Mir-Karner B., Grasl-Kraupp B. // *Toxicol. Lett.* 2023. V. 390. P. 15–24. doi: 10.1016/j.toxlet.2023.10.014.
12. Kleymenova A., Zemskaya A., Kochetkov S., Kozlov M. // *Biomedicines.* 2024. V. 12. P. 1203. doi: 10.3390/biomedicines12061203.
13. Wan P.T., Garnett M.J., Roe S.M., Lee S., Niculescu-Duvaz D., Good V.M., Jones C.M., Marshall C.J., Springer C.J., Barford D., et al. // *Cell.* 2004. V. 116. P. 855–867. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00215-6.
14. Kozlov M.V., Konduktorov K.A., Malikova A.Z., Kamarova K.A., Shcherbakova A.S., Solyev P.N., Kochetkov S.N. // *Eur. J. Med. Chem.* 2019. V. 183. P. 111723. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.111723.
15. Le P., Kunold E., Macsics R., Rox K., Jennings M.C., Ugur I., Reinecke M., Chaves-Moreno D., Hackl M.W., Fetzter C., et al. // *Nat. Chem.* 2019. V. 12. P. 145–158. doi: 10.1038/s41557-019-0378-7.
16. Jeener J., Meier B.H., Bachmann P., Ernst R.R. // *J. Chem. Phys.* 1979. V. 71. P. 4546–4553. doi: 10.1063/1.438208.
17. Bax A., Davis D.G. // *J. Magn. Reson.* 1985. V. 63. P. 207–213. doi: 10.1016/0022-2364(85)90171-4.
18. Lechner S., Malgapo M.I.P., Grätz C., Steimbach R.R., Baron A., Rüther P., Nadal S., Stumpf C., Loos C., Ku X., et al. // *Nat. Chem. Biol.* 2022. V. 18. P. 812–820. doi: 10.1038/s41589-022-01015-5.
19. Khire U.R., Bankston D., Barbosa J., Brittelli D.R., Caringal Y., Carlson R., Dumas J., Gane T., Heald S.L., Hibner B., et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004. V. 14. P. 783–786. doi: 10.1016/j.bmcl.2003.11.041.
20. Babić Ž., Crkvenčić M., Rajić Z., Mikecin A.-M., Kralj M., Balzarini J., Petrova M., Vanderleyden J., Zorc B. // *Molecules.* 2012. V. 17. P. 1124–1137. doi: 10.3390/molecules17011124.