

# ПОИСК ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СРЕДСТВ СРЕДИ НОВЫХ УГЛЕВОДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ МОЧЕВИН

Б. К. Эрнazarova<sup>1</sup>, А. З. Джуманазарова<sup>2</sup>, А. Е. Бармашов<sup>3</sup>, Г. Н. Апрышко<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Жалал-Абадский государственный университет; Кыргызская Республика, 715600 Жалал-Абад, ул. Ленина, 57;

<sup>2</sup>Институт химии и фитотехнологий НАН КР; Кыргызская Республика, 720071 Бишкек, проспект Чуй, 267;

<sup>3</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24

**Контакты:** Бактыгуль Кочкорбаевна Эрнazarova пауса\_07@mail.ru

**Введение.** В последние годы создание и использование препаратов для таргетной противоопухолевой терапии, улучшивших качество жизни и выживаемость онкологических пациентов, стало переломным событием в развитии онкологии. Известно, что производные мочевины входят в класс препаратов, обладающих антиангиогенными свойствами. Присоединение же углеводного остатка к производным мочевины способствует улучшению растворимости, адресной доставки лекарств в организме (таргетности), устранению побочных эффектов. С целью поиска новых соединений с антиангиогенными свойствами нами синтезирован ряд соединений, часть из которых — ранее неизвестные производные мочевины.

**Цель исследования** — синтез производных мочевины на основе переамидирования нитрозокарбамидов сахаров, а также оценка методами *in silico* и *in vitro* возможности создания новых противоопухолевых лекарств на основе новых гликозидных производных мочевины.

**Материалы и методы.** Доэкспериментальное прогнозирование биологической активности проводили с помощью компьютерной системы PASS. Цитотоксическую активность определяли методом МТТ. Для постановки МТТ-теста клетки раскладывали в 198 мкл полной среды RPMI-1640 в 96-луночные планшеты. Через сутки в каждую лунку добавляли исследуемые соединения в концентрации 100 мкМ. Через 72 ч в каждую лунку вносили по 20 мкл раствора МТТ. Интенсивность окрашивания среды измеряли на фотометрическом анализаторе иммуноферментных реакций Multiskan EX при  $\lambda = 540$  нм.

**Результаты.** Для 5 виртуальных соединений из ряда исследованных предсказаны высокая вероятность противоопухолевой активности и низкая вероятность цитотоксической активности *in silico*. Синтезированы соединения: N-( $\beta$ -D-галактопиранозилкарбомойл-1)-2-изоникотин-семикарбазид, 1-[(N- $\beta$ -D-галактопиранозил)карбомойл]-3,5-диметилпиразол, N-( $\beta$ -D-галактопиранозилкарбомойл)-п-бромфенилмочевина, N-( $\beta$ -D-галактопиранозил)-п-хлорфенилмочевина, N-( $\beta$ -D-глюкопиранозил)-п-хлорфенилмочевина. Соединения не проявляли цитотоксическую активность *in vitro*.

**Выводы.** Для исследованных соединений виртуально спрогнозированы низкая вероятность проявления цитостатической активности (что подтверждено экспериментально) и высокая вероятность проявления противоопухолевой активности.

**Ключевые слова:** противоопухолевое соединение, цитотоксический тест, производное мочевины

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-3-31-38

## SEARCH FOR NEW ANTICANCER DRUGS AMONG NEW CARBOHYDRATE DERIVATIVES UREA

B. K. Ernazarova<sup>1</sup>, A. Z. Dzhumanazarova<sup>2</sup>, A. E. Barmashov<sup>3</sup>, G. N. Apryshko<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Jalal-Abad State University; 57 Lenin St., Jalal-Abad 715600, Kyrgyz Republic;

<sup>2</sup>Institute of Chemistry and Phytotechnology of the NAS KR; 267 Chui Prospekt, Bishkek 720071, Kyrgyz Republic;

<sup>3</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia; 24 Kashyrskoe Sh., Moscow 115478, Russia

**Introduction.** In recent years, the creation and use of drugs for antitumor therapy, which have improved the quality of life and survival of cancer patients, has become a crucial event in the development of oncology. It is known that urea derivatives are included in the class of drugs with anti-angiogenic properties. The addition of a carbohydrate residue to urea derivatives helps to improve the solubility, targeted drug delivery in the body (targeting), and the elimination of side effects. In order to search for new compounds with anti-angiogenic properties, we have synthesized a number of compounds, some of which are previously unknown urea derivatives.

**Purpose of the study** — synthesis of urea derivatives based on sugary nitrosocarbamidetransamidation. To evaluate using *in silico* and *in vitro* methods, there is the ability to create new anticancer drugs based on new glycosidic urea derivatives.

**Materials and methods.** Pre-experimental prediction of biological activity was performed using a computer system PASS.

Cytotoxic activity was determined by the MTT method. For the MTT assay, cells were dropped into 198  $\mu$ l of RPMI-1640 complete medium in 96-well plates. After one day, the test compounds were added to each well in concentration 100  $\mu$ mol. After 72 hours, 20  $\mu$ l of MTT solution was added to each well. The intensity of the medium staining was measured on a Multiskan EX photometric immunoassay analyzer at  $\lambda = 540$  nm.

**Results.** From the number of virtual compounds studied, for 5 compounds a high probability of antineoplastic activity and a low probability of cytotoxic activity *in silico* are predicted. Compounds were synthesized: N-( $\beta$ -D-galactopyranosylcarbamoyl-1)-2-isonicotin-semicarbazide, 1-[(N- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-carbamoyl]-3,5-dimethylpyrazole, N-( $\beta$ -D-galactopyranosylcarbamoyl)-p-bromophenylurea, N-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-p-chlorophenylurea, N-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-p-chlorophenylurea. The compounds did not show cytotoxic activity *in vitro*.

**Conclusion.** For the studied compounds, a low probability of cytostatic activity manifestation (as confirmed experimentally) and a high probability of antitumor activity manifestation are virtually predicted.

**Key words:** anticancer drug, cytotoxic assay, derivatives urea

## Введение

В последние годы создание и использование препаратов для таргетной противоопухолевой терапии, улучшивших качество жизни и выживаемость онкологических пациентов, стало переломным событием в развитии онкологии.

Рост всех солидных опухолей зависит от ангиогенеза. В опухолевых тканях, особенно в тканях злокачественных опухолей, ангиогенез протекает постоянно и очень интенсивно [1, 2]. Это является одной из причин быстрого роста злокачественных опухолей, поскольку они активно снабжаются кровью и получают значительное количество питательных веществ. Кроме того, усиленный ангиогенез в опухоли является одним из механизмов ее быстрого метастазирования, так как опухолевые клетки имеют свойство располагаться вдоль стенок кровеносных сосудов или разносятся по всему организму с током крови. Антиангиогенная терапия по определению не направлена на излечение, так как не обладает способностью воздействовать на опухолевые клетки. Однако подавление опухолевого ангиогенеза и регрессия уже образованных опухолевых сосудов потенциально могут перевести опухоль в «спящее» состояние, при котором не происходит дальнейшего увеличения ее размеров (все вновь образованные клетки гибнут от гипоксии), и даже привести к уменьшению опухоли и ее метастазов до минимального размера. Подавление ангиогенеза может приводить и к «нормализации» внутриопухолевой сосудистой сети. В связи с этим создание антиангиогенных препаратов является одним из наиболее активно развиваемых и перспективных направлений в области лечения злокачественных новообразований.

Известно, что производные мочевины входят в класс препаратов, обладающих антиангиогенными свойствами [3]. Присоединение же углеводного остатка к производным мочевины способствует улучшению растворимости, адресной доставки лекарств в организме, устранению побочных эффектов [4, 5]. С целью поиска новых соединений с антиангиогенными свойствами нами синтезирован ряд новых соединений.

Для 5 синтезированных соединений предсказаны высокая вероятность противоопухолевой (antineo-

plastic) активности и низкая вероятность цитотоксической активности *in silico*. Соединения N-( $\beta$ -D-галактопиранозилкарбомойл)-п-бромфенилмочевина (III), N-( $\beta$ -D-галактопиранозил)-п-хлорфенилмочевина (II), N-( $\beta$ -D-глюкопиранозил)-п-хлорфенилмочевина описаны в ряде работ, тогда как соединения N-( $\beta$ -D-галактопиранозилкарбомойл-1)-2-изоникотин-семикарбазид (IV), 1-[(N- $\beta$ -D-галактопиранозил)-карбомойл]-3,5-диметилпиразол (VI) ранее были неизвестны [6, 7].

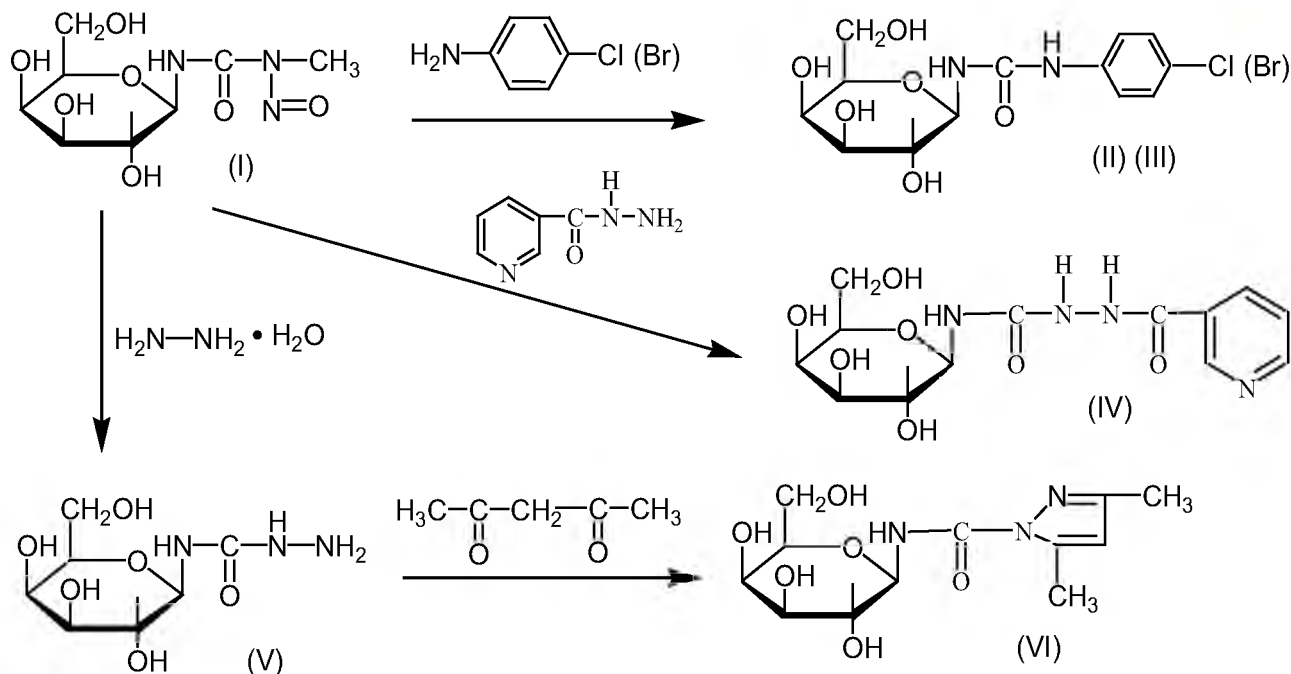
**Цель исследования** — синтез производных мочевины на основе переамидирования нитрозокарбамидов сахаров. Оценить методами *in silico* и *in vitro* возможность создания новых противоопухолевых лекарств на основе новых гликозидных производных мочевины.

## Материалы и методы

Гликозил-нитрозометилмочевина была избрана ключевым соединением для разработки методов получения новых углеводных аналогов медицинских препаратов. Этот класс соединений обладает высокой реакционной способностью, и на его основе нами были синтезированы углеводные производные мочевины. Установлено, что при непродолжительном нагревании эквимолекулярных количеств реагентов в водно-спиртовых средах гликозил-нитрозометилмочевина гладко вступают в реакцию конденсации с аминами (см. рисунок).

Результаты экспериментальных исследований показывают, что в ходе реакции образования промежуточных интермедиатов за счет присоединения амина и разрыва одной из связей группы, по-видимому, не происходит. Вероятнее всего, реакция протекает по синхронному механизму с одновременным разрывом старой и образованием новой связи C–N. Реакция нуклеофильного замещения для протекания процесса образования конечных продуктов не требует в большинстве случаев добавок катализирующих агентов. Это свидетельствует о том, что введение нитрозогруппы само по себе оказывает достаточно сильное активирующее действие, которое сводится главным образом к разрыхлению связи C–N (N0).

С целью облегчения поиска среди синтезированных нами соединений веществ с нужным эффектом



Реакция получения углеводовных производных мочевины

Synthesis of carbohydrate derivatives of urea

проведено доэкспериментальное прогнозирование биологической активности, для чего их структурные формулы сгенерированы с помощью компьютерной системы PASS, разработанной и постоянно совершенствуемой сотрудниками Института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича [8–11]. Используемая версия PASS 12.06.22 прогнозирует биологическую активность 6400 видов химических веществ на основе сравнения структурных формул исследуемых соединений со структурными формулами соединений из массива данных, содержащего формулы и сведения по биологической активности 313 345 химических соединений.

Структурные формулы исследуемых соединений вводятся в систему в виде файлов формата MOL или SDF. Средняя ошибка прогноза составляет 4,9 %. Результаты прогнозирования рассчитывают в виде вероятности проявления определенной биологической активности ( $p_a$ ) соединением и вероятности не проявлять эту активность ( $p$ ). Обычно для новых химических соединений порогом отбора перспективных соединений считают значение  $p_a > 0,5$ .

После контроля корректности сгенерированные структурные формулы исследуемых соединений вводили в базу данных формата ISISBASE, из которой экспортировали в файлы формата SDF для ввода в систему PASS. В качестве перспективных для экспериментального изучения потенциальных противоопухолевых веществ были квалифицированы соединения, для которых при компьютерном прогнозировании

получены значения вероятности проявления противоопухолевой активности  $p_a \geq 0,5$ .

Цитотоксическую активность определяли методом МТТ.

Для постановки МТТ-теста клетки раскапывали в 198 мкл полной среды RPMI-1640 в 96-луночные плоскодонные планшеты (Costar, USA).

Через сутки в каждую лунку добавляли исследуемые соединения в концентрации 100 мкМ и инкубировали с клетками в течение 72 ч в 5 %  $\text{CO}_2$  при 37 °С. Каждое соединение ставили в триplete. Соединения растворяли в диметилсульфоксиде так, чтобы концентрация диметилсульфоксида в лунке не превышала 1 %. В качестве контроля использовали лунки с клетками с 1 % диметилсульфоксидом в полной ростовой среде.

Через 72 ч в каждую лунку вносили по 20 мкл раствора МТТ [3-(4,5-диметилтиазолин-2)-2,5-дифенилтетразолий бромид] (маточный раствор 5 мг/мл, конечная концентрация 1 мг/мл) и инкубировали 4 ч при 37 °С в 5 %  $\text{CO}_2$ .

После образования формазана надосадочную жидкость удаляли, осадок растворяли в 150 мкл диметилсульфоксида. Далее планшеты помещали на 5–7 мин в термостат при температуре 37 °С, затем встряхивали на шейкере для равномерного растворения кристаллов формазана, после чего интенсивность окрашивания среды измеряли на фотометрическом анализаторе иммуноферментных реакций Multiskan EX при  $\lambda = 540$  нм. Величина поглощения прямо пропорциональна числу живых клеток.



Определяли процент ингибирования роста клеток (И, %) по формуле:

$$И = (1 - (O_o/O_k)) \times 100 \%,$$

где  $O_k$  — оптическая плотность в контрольных лунках,  $O_o$  — оптическая плотность в опытных лунках.

Соединение считали цитостатически активным, если оно вызывало подавление роста клеток  $>50 \%$ .

### Результаты

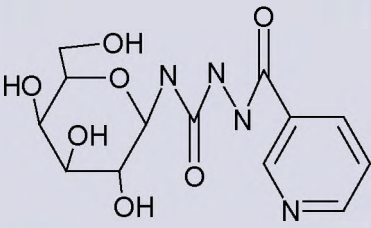
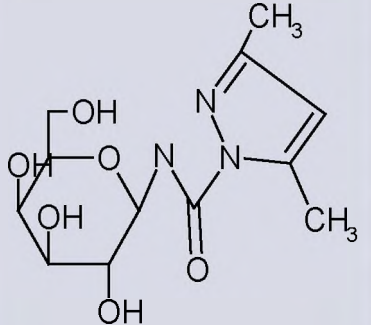
Для 5 из 57 исследованных виртуальных соединений (нумерация и названия которых приведены в табл. 1) предсказаны высокая вероятность проти-

воопухолевой (antineoplastic) активности и низкая вероятность цитотоксической активности. В табл. 1 для этих соединений представлены также результаты прогнозирования 9 видов биологической активности (противоопухолевой, цитотоксической, общей токсичности, антиметастатической активности и ряда механизмов действия противораковых лекарств) в виде значений вероятности наличия ( $p_a$ ) или отсутствия ( $p_i$ ) у соединения противоопухолевой активности.

Объект исследования — соединения, содержащие углеводные фрагменты (II–VI), формулы которых представлены на рисунке.

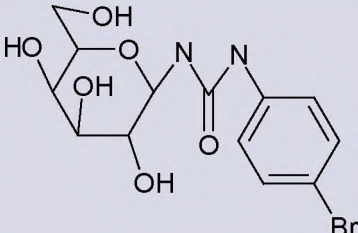
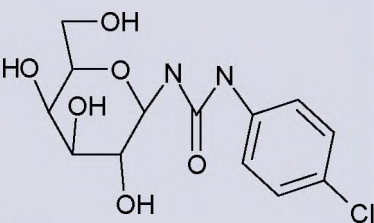
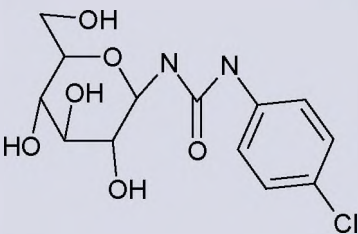
Реакция протекает гладко в спиртовой среде. Выход продуктов составляет  $\approx 55 \%$ . Идентификацию

**Таблица 1.** Результаты прогнозирования биологической активности гликозидов мочевины  
Table 1. Prediction results of the biological activity of urea glycosides

№ соединения	Название соединений	Химическая структура	Прогноз активности		Активность
			$P_a$	$P_i$	
1	N-(β-D-галакто-пиранозил-карбомойл-1)-2-изоникотин-семикарбазид N-(β-D-galactopyranosylcarbomoyl-1)-2-isonicotin-semicarbazide		0,779	0,014	Противоопухолевая Antineoplastic
			0,613	0,010	Ингибитор ангиогенеза Angiogenesis inhibitor
			0,384	0,051	Антиметастатическая Antimetastatic
			0,297	0,128	Агонисты апоптоза Apoptosis agonist
			0,162	0,099	Антилейкемическая Antileukemic
			0,173	0,156	Цитостатическая Cytostatic
			0,084	0,199	Цитотоксическая Cytotoxic
			0,078	0,384	Токсическая Toxic
			0,020	0,598	Антимитотическая Antimitotic
2	1-[(N-β-D-галактопиранозил) карбомойл-3,5-диметилпиразол] 1-[(N-β-D-galactopyranosyl) carbomoyl-3,5-dimethylpyrazole		0,622	0,040	Противоопухолевая Antineoplastic
			0,539	0,016	Ингибитор ангиогенеза Angiogenesis inhibitor
			0,502	0,019	Антиметастатическая Antimetastatic
			0,254	0,167	Токсическая Toxic
			0,245	0,168	Агонисты апоптоза Apoptosis agonist
			0,182	0,148	Цитостатическая Cytostatic
			0,148	0,130	Цитотоксическая Cytotoxic
			0,041	0,314	Антилейкемическая Antileukemic
			0,034	0,463	Антимитотическая Antimitotic

Окончание табл. 1

The end of the table 1

№ соединения Compound No	Название соединений Compound name	Химическая структура Chemical structure	Прогноз активности Predicted activity		Активность Activity
			$P_a$	$P_i$	
3	N-(β-D-галактопиранозилкарбомойл)-п-бром-фенилмочевина N-(β-D-galactopyranosyl-carbomoyl)-p-bromophenylurea		0,784	0,014	Противоопухолевая Antineoplastic
			0,750	0,005	Ингибиторы ангиогенеза Angiogenesis inhibitor
			0,422	0,040	Антиметастатическая Antimetastatic
			0,344	0,101	Агонисты апоптоза Apoptosis agonist
			0,241	0,100	Цитостатическая Cytostatic
			0,198	0,096	Цитотоксическая Cytotoxic
			0,149	0,108	Антилейкемическая Antileukemic
			0,208	0,198	Токсическая Toxic
4	N-(β-D-галактопиранозил)-п-хлор-фенилмочевина N-(β-D-galactopyranosyl)-p-chlorophenylurea		0,733	0,021	Противоопухолевая Antineoplastic
			0,689	0,006	Ингибиторы ангиогенеза Angiogenesis inhibitor
			0,459	0,030	Антиметастатическая Antimetastatic
			0,313	0,119	Агонисты апоптоза Apoptosis agonist
			0,233	0,105	Цитостатическая Cytostatic
			0,197	0,097	Цитотоксическая Cytotoxic
			0,243	0,174	Токсическая Toxic
			0,113	0,141	Антилейкемическая Antileukemic
5	N-(β-D-глюкопиранозил)-п-хлор-фенилмочевина N-(β-D-glucopyranosyl)-p-chlorophenylurea		0,733	0,021	Антинеопластическая Antineoplastic
			0,689	0,006	Ингибиторы ангиогенеза Angiogenesis inhibitor
			0,459	0,030	Антиметастатическая Antimetastatic
			0,313	0,119	Агонисты апоптоза Apoptosis agonist
			0,233	0,105	Цитостатическая Cytostatic
			0,197	0,097	Цитотоксическая Cytotoxic
			0,243	0,174	Токсическая Toxic
			0,113	0,141	Антилейкемическая Antileukemic
			0,017	0,657	Антимитотическая Antimitotic

синтезируемых соединений осуществляли с помощью методов тонкослойной хроматографии на пластинках Silufol, спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР), ИК-,  $^{13}\text{C}$ -,  $^1\text{H}$ -спектроскопии и элементного анализа.

Спектры  $^{13}\text{C}$  ЯМР были сняты на приборе Bruker AM-300, SF = 75,47 МГц с рабочей частотой 126 МГц при температуре 295 °К, где в качестве внутреннего стандарта использовался ТМС. Спектры сняты в дейтерированных растворителях – ДМСО- $d_6$ .  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектры были сняты на приборе Bruker AM-300, SF = 300,13 МГц с рабочей частотой 500 МГц при температуре 293 °К, где в качестве внутреннего стандарта использовали ТМС. Спектры сняты в дейтерированных растворителях ДМСО- $d_6$ .

Инфракрасные спектры исследуемых соединений были получены на спектрофотометрах Specord M-80 с программой Soft Spectra в области 500–4000  $\text{cm}^{-1}$  (прессование с KBr).

Температуру плавления синтезируемых соединений измеряли на микронагревательном столике Boetuis. Скорость подъема температуры на столике составляла 4 °С в минуту. Элементный состав полученных соединений определен кулонометрическим методом и методами Дюма–Прегля и Шёнигера на приборах BM-20.

#### Синтез N-(β-D-галактопиранозил-1)-2-изоникотиноил-семикарбазида (IV)

В колбу, снабженную магнитной мешалкой, помещают 3,568 г гидразида изоникотиновой кислоты, растворяют в 30 мл этилового спирта и охлаждают смесь до –2 °С, затем в течение 30 мин при перемешивании добавляют 7,136 г N-метил-N-(β-D-галактопиранозил)-N-нитрозомочевина (I). Помешивая, смесь нагревают на водяной бане при 55–60 °С в течение 1 ч, при этой температуре выпадают кристаллы. Выпавшие кристаллы перекристаллизовывают из водного спирта, отфильтровывают и высушивают на воздухе.

Выход: 5,377 г (58,38 %),  $T_{\text{пл}} = 212\text{--}213\text{ °C}$ , \*Rf = 0,3, \*\*Rf = 0,5 (\*хлороформ : этанол (1 : 1)), (\*\*этанол : хлороформ : ацетон (2 : 1 : 1)).

Инфракрасный спектр (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 892, 906, 1051, 1091, 1134  $\text{cm}^{-1}$  (колебания углеводного кольца), 3000–3500  $\text{cm}^{-1}$  (ОН-группы углеводного кольца), 1548  $\text{cm}^{-1}$  (амид I, N–H), 1601  $\text{cm}^{-1}$  (амид II, C = O), 473, 545, 583, 626, 675, 705  $\text{cm}^{-1}$  (валентные колебания изониазида).

ЯМР  $^1\text{H}$  (d, м. д.): 4,7 (уш. с., 8H, C–H), 3,55–4 (м., 4OH), 5,4 (с., 1H, N–H), 4,8 (д., 1H, NH–C–O), 7,5–8,8 (м., 4H, C–H аром.).

ЯМР  $^{13}\text{C}$  (d, м. д.): 81,34 ( $\text{C}_1$ ); 69,43 ( $\text{C}_2$ ); 73,39 ( $\text{C}_3$ ); 68,67 ( $\text{C}_4$ ); 76,43 ( $\text{C}_5$ ); 60,97 ( $\text{C}_6$ ); 159,15 (C = O); 152,1 ( $\text{C}_7$ ); 127,9 ( $\text{C}_8$ ); 136,4 ( $\text{C}_9$ ); 124,28 ( $\text{C}_{10}$ ); 147,5 ( $\text{C}_{11}$ ).

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_7$  342,30

Вычислено, %: C – 45,61; H – 5,30; N – 16,36.

Найдено, %: C – 45,90; H – 5,59; N – 16,65.

#### 1-[(N-β-D-галактопиранозил)карбоамил]-3,5-диметилпиразол (VI)

К 2,07 г (0,01 моль) галактопиранозилсемикарбазида (V) прибавили 1 мл (0,01 моль) ацетилацетона и 15 мл метанола. Реакционную смесь нагревали на кипящей водяной бане до полной гомогенизации. Выпавший осадок отфильтровали, промыли холодным спиртом, перекристаллизовали из водного спирта. Сушили на воздухе.

Выход: 1,8 г (60 %), т. пл. 180 °С, Rf = 0,5 TCX (хлороформ : метанол – 3 : 1),  $[\alpha]_D^{20} = +24,8^\circ$  (с 1,  $\text{H}_2\text{O}$ ).

Инфракрасный спектр (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 900, 950, 1030, 1080, 1110  $\text{cm}^{-1}$  (колебания углеводного кольца), 1130, 1168, 1220  $\text{cm}^{-1}$  (колебания пиразольного кольца), 1300–1360  $\text{cm}^{-1}$  (–N) 1545  $\text{cm}^{-1}$  (амид I, N–H), 1710  $\text{cm}^{-1}$  (амид II, C = O), 1260–1290  $\text{cm}^{-1}$  (–C–N=), 1350  $\text{cm}^{-1}$  (–CH–).

ЯМР  $^1\text{H}$  (d, м. д.,  $\text{Py-d}_3$ ): 2,04 (уш. с., 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2,4 (уш. с., 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,85–4,75 (м., 6H, CH-углеводные протоны), 5,45–5,9 (м., 1H, CH), 6,0–7,6 (м., 4H, OH), 9,13 (д., 1H, CONH).

$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_6$  301,28

Вычислено, %: C – 47,83; H – 6,36; N – 13,95.

Найдено, %: C – 47,95; H – 6,10; N – 13,80.

#### Экспериментальное изучение цитотоксической активности

Дальнейшее экспериментальное исследование цитостатической активности этих 5 соединений (N-(β-D-галактопиранозилкарбоамил)-п-бромфенилмочевина, N-(β-D-галактопиранозилкарбоамил-1)-2-изоникотинсемикарбазида, 1-[(N-β-D-галактопиранозил)карбоамил]-3,5-диметилпиразола, N-(β-D-галактопиранозил)-п-хлорфенилмочевина, N-(β-D-глюкопиранозил)-п-хлорфенилмочевина) проводили на базе лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина. Цитотоксическую активность исследовали на 5 клеточных линиях опухолей человека: аденокарциномы предстательной железы PC-3, карциномы толстой кишки HCT-116, T-клеточного лимфобластного лейкоза Jurkat, аденокарциномы молочной железы MCF-7, карциномы легкого A549.

Клеточные линии культивировали в среде RPMI-1640, содержащей 10 % телячьей эмбриональной сыворотки, 10 мМ HEPES (Sigma, США), 2 мМ L-глутамин (Sigma, США), 40 нг/мл гентамицина (ICN, США), аминокислоты и витамины (ПанЭко, Россия) при 37 °С в атмосфере 5 %  $\text{CO}_2$ . Клетки поддерживали в логарифмической фазе роста постоянным пересевом культуры через 3–4 дня. Для открепления с пластика адгезионных культур использовали раствор Версена.

Провели цитотоксическое исследование данных соединений методом МТТ. Ни одно из исследуемых



Таблица 2. Цитотоксическая активность исследуемых соединений в концентрации 100 мкМ (ингибирование роста клеток в %)

Table 2. Cytotoxic activity of the studied compounds at a concentration of 100  $\mu$ m (inhibition of cell growth in %)

№	Концентрация, 100 мкМ	A549	PC3	Jurkat	HCT-116	MCF-7
1	N-( $\beta$ -D-галактопиранозилкарбомойл-1)- 2-изоникотинсемикарбазид N-( $\beta$ -D-galactopyranosylcarbomoyl-1)- 2-isonicotinsemicarbazide	26	0	6	0	0
2	1-[(N- $\beta$ -D-галактопиранозил)карбомойл]- 3,5-диметилпиразола 1-[(N- $\beta$ -D-galactopyranosyl)carbomoyl]-3,5-dimethylpyrazole	0	17	16	0	0
3	N-( $\beta$ -D-галактопиранозилкарбомойл)- п-бромфенилмочевина N-( $\beta$ -D-galactopyranosylcarbomoyl)-p-bromophenylurea	31	0	10	0	0
4	N-( $\beta$ -D-галактопиранозил)-п-хлорфенилмочевина N-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-p-chlorophenylurea	0	2	20	0	0
5	N-( $\beta$ -D-глюкопиранозил)-п-хлорфенилмочевина N-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-p-chlorophenylurea	0	19	2	0	0

МТТ-тестом соединений не проявило цитотоксическую активность. Результаты представлены в табл. 2.

### Заключение

Для большинства исследованных виртуальных соединений получены низкая вероятность проявления цитостатической активности и высокая вероятность проявления противоопухолевой активности,

обусловленная согласно прогнозу, предположительными, антиангиогенными свойствами. Целесообразны их исследования на экспериментальных опухолях *in vivo* даже при отрицательных результатах анализа цитотоксичности на культурах клеток, а также дальнейший поиск потенциальных противоопухолевых соединений из класса гликозидных производных мочевины.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285(21):1182–6. DOI: 10.1056/NEJM197111182852108.
- Dvorak H.F. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med* 1986;315(26):1650–9. DOI: 10.1056/NEJM198612253152606.
- Производные мочевины и их применение в качестве ингибиторов белка, связывающего жирные кислоты. Доступно по: <http://www.findpatent.ru/patent/264/2642454.html>. [Derivatives of urea and their use as inhibitors of a protein that binds fatty acids. Available by: <http://www.findpatent.ru/patent/264/2642454.html>. (In Russ.)].
- Лурье С.И., Шемякин М.М. Глюкозиды сульфамидов. Журнал общей химии 1944;10(8):935–9. [Lurie S.I., Shemyakin M.M. Glucosides of sulfamides. *Zhurnal obshchey khimii* = Russian Journal of General Chemistry 1944;10(8):935–9. (In Russ.)].
- Прогресс химии углеводородов. М.: Наука, 1985. С.: 230. [Progress in the chemistry of carbohydrates. Moscow: Nauka, 1985. P.: 230. (In Russ.)].
- Бакирова А.А., Эрназарова Б.К. Синтез N-арилзамещенных гликозилмочевин. Известия НАН КР 2012;1:41–5. [Bakirova A.A., Ernazarova B.K. Synthesis of N-aryl substituted glycosyl urea. *Izvestiya NAN KR* = News NAN KR 2012;1:41–5. (In Russ.)].
- Эрназарова Б.К., Дермугин В.С., Джаманбаев Ж.А. Синтез сахаросодержащих производных пиразола. Сб. научных трудов. Проблемы и перспективы развития химии и химической технологий в Кыргызской Республике 2002. С. 271–5. [Ernazarova B.K., Dermugin V.S., Dzhamanbaev J.A. Synthesis of sugar-containing derivatives of pyrazole. *Sb. nauchnykh trudov. Problems and prospects of development of chemistry and chemical technologies in the Kyrgyz Republic* 2002. P.: 271–5. (In Russ.)].
- Аширматов М.А., Джаманбаев Ж.А., Садыбакасов Б.К., Афанасьев В.А. Расчет структуры и оценка реакционной способности N-метил-N<sup>1</sup>-( $\beta$ -D-ксилопиранозил)-нитрозо-мочевины в условиях кислотно-основного катализа. Теоретическая и экспериментальная химия 1985;5:596–9. [Ashirmatov M.A., Dzhamanbaev J.A., Sadybakasov B.K., Afanasyev V.A. Calculation of the structure and evaluation of the reactivity of N-methyl-N<sup>1</sup>-( $\beta$ -D-xylopyranosyl)-nitrosourea under acid-base catalysis. *Teoreticheskaya i eksperimentalnaya himia* = Theoretical and Experimental Chemistry 1985;5:596–9 (In Russ.)].
- Filimonov D.A., Poroikov V.V. Prediction of biological activity spectra for organic compounds. *Chem Heterocycl* 2006;50(2):66–75.
- Filimonov D.A., Poroikov V.V. In.: Chemoinformatics Approaches to Virtual Screening. Eds.: A. Varnek, A. Tropsha. Probabilistic approach in activity prediction 2008. С.: 182–216.
- Filimonov D.A., Lagunin A.A., Glorizova T.A. et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chem Heterocycl* 2014;50(3):444–57.

**Вклад авторов**

Б.К. Эрнazarова: постановка и проведение исследований по синтезу, получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

А.З. Джуманазарова: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, редактирование текста рукописи;

А.Е. Бармашов, Г.Н. Апрышко: постановка и проведение цитотоксической активности, получение данных и их анализ, интерпретация результатов.

**Authors' contributions**

B.K. Ernazarova: formulation and conduct of synthesis studies, obtaining data for analysis, article writing;

A.Z. Dzhumanazarova: reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data, manuscript text editing;

A.E. Barmashov, G.N. Apryshko: statement and carrying out cytotoxic activity, data acquisition and analysis, interpretation of results.

**ORCID авторов/ORCID of authors**

А.З. Джуманазарова/A.Z. Dzhumanazarova: <https://orcid.org/0000-0001-6966-4188>

Б.К. Эрнazarова/B.K. Ernazarova: <https://orcid.org/0000-0001-8154-0911>

А. Бармашов/A. Barmashov: <https://orcid.org/0000-0002-7440-6404>

**Конфликт интересов.** Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

Статья поступила: 26.02.2019. Принята в печать: 05.08.2019.

Article received: 26.02.2019. Accepted for publication: 05.08.2019.