

**Материалы и методы.** Работа проведена на 40 неинbredных беспородных крысах-самцах. Препарат вводили внутривенно ежедневно пятикратно в 3 суммарных дозах: 5, 15 и 30 мг/кг (максимальная суммарная доза превышает эквитерапевтическую дозу мышей (в пересчете на крыс) в 12 раз). ЛЛЛФ борхлорина растворяли в воде для инъекций до получения рекомендованной концентрации – 0,25 мг/мл. Срок наблюдения за животными после курса введения – 30 сут.

**Результаты.** ЛЛЛФ борхлорина не оказывала влияния на общее состояние животных, не вызывала их гибели и внешних проявлений токсичности, не изменяла поведенческие реакции животных. Препарат в суммарной дозе 30 мг/кг вызывал незначительное снижение количества эритроцитов, уровня гемоглобина, показателей гематокрита и увеличение количества тромбоцитов на 3-и сутки после окончания введения с последующим восстановлением к 7-м суткам наблюдения. ЛЛЛФ борхлорина во всех дозах вызывала умеренное дозозависимое нарушение как барьерной (изменение активности аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы), так и синтезирующей функции печени (изменение показателей общего белка). Морфологически в печени крыс (суммарная доза 30 мг/кг) на 3-и сутки обнаруживали очаги гепатоцитов с признаками вакуольной дистрофии, полностью исчезающие к 30-м суткам. Препарат в суммарных дозах 15 и 30 мг/кг оказывал влияние на функцию почек, вызывая на 3-и сутки наблюдения увеличение содержания креатинина примерно на 30 % и на 15-е – на 25–40 % суточного диуреза во всех изученных дозах. Морфологических изменений в почках крыс-самцов не отмечено. ЛЛЛФ борхлорина вызывала дозозависимое и обратимое к 30-м суткам изменение клеток ретикулоэндотелиальной системы (в селезенке и лимфатических узлах крыс), что выражалось в большом числе измененных увеличенных макрофагов, предположительно фагоцитировавших липосомы с борхлорином. Определены уровни токсических доз: суммарные дозы 5 и 10 мг/кг охарактеризованы как высокие нетоксические дозы, т. е. дозы, не вызывающие нарушений в органах и тканях животных; суммарная доза 30 мг/кг охарактеризована как низкая токсическая доза, вызывающая слабые изменения в органах и тканях животных, обратимые к концу наблюдения. Препарат во всех изученных дозах не вызывал функциональных и морфологических изменений в сердце и поджелудочной железе крыс.

**Заключение.** ЛЛЛФ борхлорина рекомендована для дальнейшего изучения.

*Г. Б. Лана, Н. И. Мусеева*

### **3-АМИНО-ИЗОХИНОЛИНЫ – НОВЫЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ ИНГИБИТОРЫ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 4В (PDE4B)**

*ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва*

**Введение.** Фосфодиэстераза 4В (PDE4B) является составной частью сигналысомы некоторых GPCR-рецепторов, например глюкагона, и участвует в регуляции уровня циклического аденозинмонофосфата. В линиях HCT116, HKE3, MOLT-4, в изолятах карцином толстого кишечника,

прямой кишки и некоторых форм лейкоемий наблюдается гиперэкспрессия изоформ PDE4 (A, B, D и др.), что влияет на дезрегуляцию уровня циклического гуаноциклофосфата, обусловленную KRAS- или NRAS-онкогенами. Ряд спазмолитиков – ингибиторов PDE показали слабый цитотоксический эффект (папаверин  $IC_{50}$  9,0  $\mu$ M на HCT116) и очень слабый противоопухолевый эффект на ксенографтах (силденафил). Нами ранее синтезирована первичная комбинаторная библиотека на основе виртуального скрининга на ингибирование PDE. Проведен ее первичный скрининг в МТТ-тесте на линиях HCT116 и K562.

**Цель исследования** – накопление информации по соотношению структура – активность (SAR) для 3-аминоизохинолинов (структурных аналогов папаверина) для того, чтобы синтезировать и скринировать лидерные соединения, активные в МТТ-тесте на линиях HCT116, K562 и в тестах *in vivo*; найти для лидерных соединений основную молекулярную мишень, определяющую цитотоксический эффект.

**Материалы и методы.** Виртуальный скрининг провели в PASS-online и докингом (AutoDockTools-Vina). Библиотека разработана на основе скаффолда – 1-метил-3-амино-6,7-диметокси-изохинолина синтезом амидов и уреидов. МТТ-тест проводили на линиях HCT116, K562. Соединения с  $IC_{50}$  менее 10  $\mu$ M передавали для фенотипического скрининга на 3DF-линиях Hke3-wt KRAS с PDE4A и Hke3-mt KRAS с PDE4B, а также для определения чувствительности к 60 клеточным линиям DTP (NCI).

**Результаты.** В виртуальном скрининге отбирались виртуальные соединения с вероятностью проявления ингибирующей PDE-активности выше 0,4, а также способные образовывать водородные связи между их метоксилами и Phe372, Gln369 активного центра PDE4D (3IAK. pdb). Синтезированные уреиды 3-амино-изохинолина имели плохую растворимость, а также низкую активность в МТТ-тесте:  $IC_{50}$  более 50  $\mu$ M. Амиды проявили лучшую растворимость в диметилсульфоксиде и большую активность на HCT116 в сравнении с K562. SAR показало, что паразамещенные амиды, в том числе и *p*-аминобензойной кислоты, были более активны по сравнению с мета-изомерами. В первичном МТТ-тесте были отобраны 3 лидерных соединения: LGB-012E, LGB-014E и LGB-086. Дальнейший скрининг выявил, что LGB-014E имело  $GI_{50}$  1,9  $\mu$ M на T-47D в тестах DTP (NCI), а LGB-086 имело  $IC_{50}$  0,9  $\mu$ M на HCT116. Все 3 соединения показали ингибирование роста только на 3DF Hke3-mt KRAS-линиях от 38 до 60 % при 50  $\mu$ M. Чтобы показать биоактивность скаффолда были синтезированы амиды, в которых 3-амино-изохинолин был заменен похожим по геометрии и размерам 2-аминонафталином. Амиды 2-аминонафталина проявили меньшую на 30 % активность в МТТ-тесте.

**Заключение.** На основании вторичного МТТ-скрининга были отобраны 2 лидерных соединения: LGB-014E и LGB-086. Поскольку эти соединения ингибируют рост только на 3DF Hke3-mt KRAS-линиях, то основной молекулярной мишенью является PDE4B. Активность соединений обусловлена именно присутствием 1-метил-3-амино-6,7-диметокси-изохинолинового фрагмента.