

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ ИНДОЛОКАРБАЗОЛОВ *IN SILICO И IN VITRO*

Г.Н. Апрышко, О.С. Жукова, Л.В. Фетисова, Н.К. Власенкова, Р.Б. Пугачева, О.В. Горюнова

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24

Контакты: Ольга Васильевна Горюнова o.goryunova@mail.ru

Цель работы — оценка перспективности производных гликозидов индолокарбазола, содержащих аминокислотные остатки, как потенциальных противоопухолевых соединений.

Материалы и методы. Для 32 соединений по структурным формулам с использованием методов хемоинформатики рассчитали ряд молекулярных дескрипторов и вероятность проявления различных видов биологической активности, в экспериментах *in vitro* оценили цитотоксическую активность с помощью МТТ-теста на 5 линиях клеток.

Результаты. Для изученных аминокислотных производных гликозидов индолокарбазола компьютерным методом предсказана высокая вероятность противоопухолевой активности при низкой вероятности цитотоксической активности *in vitro*. Низкая цитотоксическая активность подтверждена в МТТ-тесте на 5 линиях клеток. Компьютерными методами получен прогноз механизмов возможной противоопухолевой активности и рассчитан ряд молекулярных дескрипторов, имеющих значение для квалификации веществ как потенциальных лекарств.

Заключение. Целесообразно дальнейшее исследование противоопухолевой активности аминокислотных производных гликозидов индолокарбазола в опытах на животных с перевиваемыми опухолями.

Ключевые слова: гликозид индолокарбазолов, аминокислотное производное, противоопухолевая активность, цитотоксичность, прогнозирование биологической активности

DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-4-46-54

IN SILICO AND IN VITRO RESEARCH OF POTENTIAL ANTINEOPLASTIC AMINO ACID DERIVATIVES OF INDOLOCARBAZOL GLYCOSIDES PROPERTIES

G.N. Apryshko, O.S. Zhukova, L.V. Fetisova, N.K. Vlasenkova, R.B. Pugacheva, O.V. Goryunova

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology;
24 Kashirskoe Sh., Moscow 115478, Russia

Objective: to evaluate the prospects of the glycosides of indolocarbazole containing amino acid residues as potential antitumor compounds.

Materials and methods. For 32 compounds by structural formulas using the methods of chemoinformatics, a number of molecular descriptors and the probability of manifestation of various types of biological activity were calculated, the cytotoxic activity was evaluated *in vitro* by methylthiazole tetrazolium (MTT) assay using five human tumor cell lines.

Results. For the studied amino acid derivatives of glycosides of indolocarbazole, a high probability of antitumor activity with a low probability of cytotoxic activity *in vitro* is predicted by computer method. Low cytotoxic activity was confirmed in the MTT test on 5 cell lines. Computer methods were used to predict the mechanisms of possible antitumor activity and to calculate a number of molecular descriptors that are important for the qualification of substances as potential drugs.

Conclusion. It is expedient to study the antitumor activity of amino-acid derivatives of glycosides of indolocarbazole in experiments on animals with transplanted tumors.

Key words: glycoside of indolocarbazoles, amino acid derivative, antitumor activity, cytotoxicity, prediction of biological activity

Введение

В связи с неудовлетворительной эффективностью химиотерапии злокачественных опухолей

лекарствами, имеющимися в настоящее время в арсенале врачей, продолжается поиск новых активных потенциальных противоопухолевых веществ. Один

из химических классов, изучающихся в этом отношении, — производные индолокарбазола с различными заместителями.

В этом классе молекулы, содержащие гетероциклическое ядро индола [2,3-а] пирроло [3,4-с] карбазола, обладают, наряду с антибактериальным, противопаразитарным и прочими видами биологической активности, наиболее выраженным противоопухолевым действием [1]. Оно обусловлено их способностью интеркалировать в ДНК, ингибировать топоизомеразы 1 и 2 [2, 3], протеинкиназы C и A [2, 4], циклинзависимые киназы [5]. В настоящее время проходят II–III фазы клинических испытаний разработанные на основе соединений этого класса производные противоопухолевого антибиотика ребеккамицина эдотекарин и бекатекарин, производное алкалоида стауроспорина мидостаурин [6]. Тем не менее продолжается поиск новых противоопухолевых агентов класса индолокарбазолов путем выделения из природных источников методами химического синтеза [7–9]. Введение различных заместителей в молекулу индолокарбазола, в первую очередь к атомам азота индола и/или имидного атома азота 5-членного цикла, позволяет модулировать физико-химические и биологические свойства полученных соединений [10]. Наличие углеводного остатка у азота индола — ключевой элемент как для взаимодействия с ДНК, так и для ингибирования топоизомеразы 1 [10, 11]. Метильная группа при атоме азота индола [11] или при имидном азоте [10] усиливает в ряде случаев цитотоксическую активность соединения. Следует отметить, что в структурах описанных производных индола [2,3-а] пирроло [3,4-с] карбазола преобладают низкомолекулярные группы заместителей, а, например, молекулы, содержащие пептидные остатки или аминокислоты, представлены лишь в некоторых публикациях [11–14].

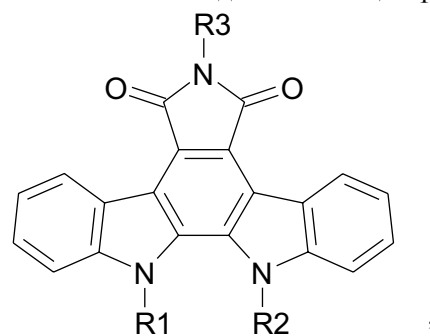
Важным качеством биологически активного препарата является его растворимость. К сожалению, даже N-гликозиды индолопирролокарбазолов, например ребеккамицин и стауроспорин, трудно растворимы [2, 15]. Одна из задач при синтезе новых производных гликозидов индолокарбазолов — ввести заместители, способные улучшить растворимость целевых соединений. Нами предположено, что включение в молекулу индолокарбазола при имидном атоме азота аминокислотного остатка с открытой карбоксильной группой как активного метаболита способно изменить путь продвижения лекарственного препарата в опухоль и действие на нее. Кроме того, наличие открытой карбоксильной группы в молекуле способно привести к значительному улучшению растворимости полученных соединений.

Цель работы — компьютерное прогнозирование биологической активности и расчет ряда молекуляр-

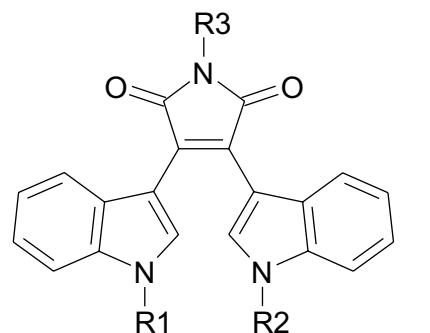
ных дескрипторов, используемых при отнесении химических соединений к потенциальным лекарственным, а также исследование цитотоксической активности *in vitro* производных гликозидов индолокарбазола, содержащих аминокислотные остатки при имидном атоме азота, по сравнению с гликозидами индолопирролокарбазола без заместителей у этого атома. Соединения были синтезированы в лаборатории химического синтеза НИИ ЭДнТО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Материалы и методы

Объект исследования — содержащие аминокислотные остатки 28 соединений общей формулы:



имеющие шифры ЛХС-1046, ЛХС-1047, ЛХС-1156, ЛХС-1166, ЛХС-1167, ЛХС-1171, ЛХС-1174, ЛХС-1176, ЛХС-1179, ЛХС-1196, ЛХС-1203, ЛХС-1204, ЛХС-1205, ЛХС-1206, ЛХС-1224, ЛХС-1225, ЛХС-1226, ЛХС-1227, ЛХС-1228, ЛХС-1229, ЛХС-1230, ЛХС-1231, ЛХС-1233, ЛХС-1234, ЛХС-1235, ЛХС-1243, ЛХС-1244, ЛХС-1245, и 2 соединения общей формулы:

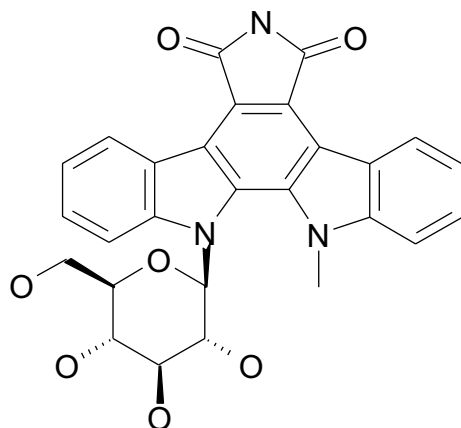


имеющие шифры ЛХС-1172 и ЛХС-1173, где R1 — гликозидный остаток; R2 — CH₃; R3 — остаток L- или D-аминокислоты.

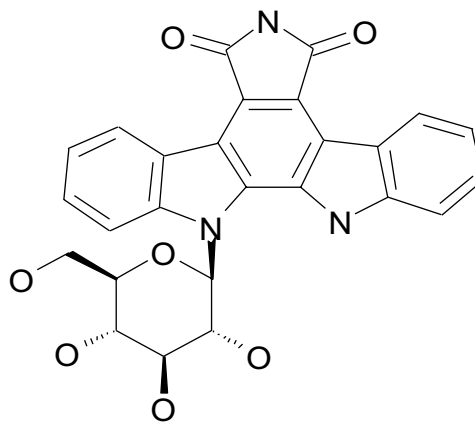
Изучены также ЛХС-1177 и ЛХС-1207 в качестве сравнительных, не содержащих аминокислотных остатков соединений (см. рисунок).

Исследования *in silico*. Для 32 исследованных соединений класса индолокарбазолов из формул,

а



б



Не содержащие аминокислотные остатки соединения ЛХС-1177 (а) и ЛХС-1207 (б)

содержащихся в бумажных паспортах на эти соединения, с помощью программы ISIS Draw генерировали структурные формулы в электронном виде, которые затем сохраняли в базе данных формата ISIS Base [16].

Компьютерное прогнозирование биологической активности проводили с помощью системы PASS, разработанной и постоянно совершенствуемой сотрудниками ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича» [17–19]. Использованная версия PASS 12.06.22 прогнозирует 6400 видов биологической активности на основе анализа обучающего массива, содержащего структурные формулы и данные 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 соединения проявлять определенную биологическую активность (Pa) и не проявлять ее (Pi). Обычно для новых химических соединений порогом отбора перспективных соединений считают значение $Pa > 0,5$.

С использованием программного комплекса CheD [20], предоставленного ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» разработчиками в лице С.В. Трепалина, по структурным формулам соединений рассчитаны следующие молекулярные дескрипторы: N_O (суммарное число атомов азота и кислорода с неподеленными электронными парами), H_Donors (число групп, являющихся донорами атомов водорода, которые могут участвовать в образовании водородных связей), H_Accept (число групп, являющихся акцепторами атомов водорода, которые участвуют в образовании водородных связей), PSA (площадь полярной поверхности в квадратных ангстремах). С помощью свободно доступного online программного комплекса ALOGPS [21] рассчитывали коэффициент распределения октанол – вода LogP, характеризующий липофильность соединений.

Значения молекулярной массы извлекали из базы данных формата ISIS Base, в которой они автоматически рассчитываются при вводе структурных формул соединений.

Исследования *in vitro*. Цитотоксическую активность *in vitro* изучали в соответствии с методикой [22] на клетках линий рака яичников SKOV3, карциномы молочной железы MCF7 и SKBR3, рака толстой кишки LS174T и HCT116.

Цитотоксическую активность оценивали по выживаемости клеток в присутствии соединений в определенных концентрациях. Для этого клетки рассевали в плоскодонные 96-луночные микропланшеты (Nunc) и инкубировали в течение 24 ч. Затем в лунки добавляли исследуемые соединения и инкубировали в течение 48 ч. Выживаемость клеток оценивали с помощью МТТ-теста, основанного на способности дегидрогеназ живых клеток восстанавливать бесцветную форму МТТ-реагента (3,4,5-диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтетразолиум бромид) до голубых кристаллов формазана, растворимых в диметилсульфоксиде [23].

Оптическое поглощение растворов диметилсульфоксида измеряли на счетчике Multiskan MS (Lab-sistem, Финляндия) при длине волны $\lambda = 540$ нм. Выживаемость клеток для соответствующей концентрации вычисляли (в процентах) по формуле:

$$(\text{опыт/контроль}) \times 100.$$

Соединение считали активным, если при концентрации 10 мкМ хотя бы на одной из линий выживаемость клеток ≤ 50 % ($IC_{50} \leq 10$ мкМ). Ошибка измерений не превышала 5 %.

Результаты и обсуждение

При прогнозировании спектра биологической активности извлеченные из базы данных ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» структурные формулы конвертировали в файлы формата SDF

для ввода в систему PASS. Результаты прогнозирования, полученные в виде разностей вероятности проявлять ту или иную активность и вероятности не проявлять эту активность $Pa - Pi$, представлены в табл. 1–3.

Таблица 1. Результаты прогнозирования цитостатической и противоопухолевой активности ($Pa - Pi$)

Шифр соединения	Цитостатическая активность	Противоопухолевая активность
ЛХС-1177 (R3 = H)	0,5763	0,8077
ЛХС-1207 (R3 = H)	0,6107	0,8245
ЛХС-1046	0,4992	0,7129
ЛХС-1047	0,2391	0,7362
ЛХС-1156	0,3570	0,7236
ЛХС-1166	0,3002	0,7191
ЛХС-1167	0,3570	0,7236
ЛХС-1171	0,4889	0,5162
ЛХС-1172	0,2248	0,5715
ЛХС-1173	0,3243	0,6314
ЛХС-1174	0,2050	0,7130
ЛХС-1176	–0,0135	0,7190
ЛХС-1179	0,2868	0,7271
ЛХС-1196	0,2570	0,7176
ЛХС-1203	0,3773	0,6417
ЛХС-1204	0,3001	0,7396
ЛХС-1205	0,5325	0,7182
ЛХС-1206	0,4119	0,6942
ЛХС-1224	0,2314	0,5663
ЛХС-1225	–0,0315	0,6239
ЛХС-1226	0,3094	0,7422
ЛХС-1227	0,2325	0,7516
ЛХС-1228	–0,0332	0,6308
ЛХС-1229	0,160	0,6771
ЛХС-1230	0,2452	0,7270
ЛХС-1231	0,4247	0,6998
ЛХС-1233	0,3460	0,7312
ЛХС-1234	0,3570	0,7236
ЛХС-1235	0,3570	0,7236
ЛХС-1243	0,3001	0,7396
ЛХС-1244	0,2452	0,7270
ЛХС-1245	0,2325	0,7516

В табл. 1 приведены результаты прогнозирования цитостатической и противоопухолевой активности соединений. Видно, что для всех изученных аминокислотных производных гликозидов индолокарбазола прогнозируется невысокая цитостатическая активность или ее полное отсутствие (только для соединения ЛХС-1205 значение $Pa - Pi > 0,5$ (0,5325), для остальных аминокислотных производных значения $Pa - Pi$ составляли от –0,0332 до 0,4992), в то время как для не содержащих аминокислотных остатков соединений ЛХС-1177 и ЛХС-1207 получены более значимые величины $Pa - Pi$ – 0,5763 и 0,6107 соответственно. Для всех аминокислотных производных получены значительные вероятности проявления противоопухолевой активности: $Pa - Pi$ от 0,5162 до 0,7516. Для не содержащих аминокислотных остатков ЛХС-1177 и ЛХС-1207 эти значения были больше и составляли 0,8245 и 0,8077 соответственно.

Сравнение результатов прогнозирования цитостатической и противоопухолевой активности позволяет предположить, что введение в молекулу гликозидов индолокарбазолов аминокислотных остатков, снижая вероятность цитостатической активности, не препятствует высокой вероятности наличия у этих соединений противоопухолевой активности.

Проведено прогнозирование наличия у изученных соединений 243 биологических эффектов, определяющих клеточные и молекулярные механизмы действия противоопухолевых лекарств. Значимые результаты представлены в табл. 2 в виде $Pa - Pi$.

С наибольшей вероятностью для изученных соединений прогнозируется способность ингибировать циклинзависимую киназу 3: $Pa - Pi$ для всех исследуемых соединений колеблется в области 0,65–0,74, а для ЛХС-1206 ее значение достигает 0,85. Для препаратов сравнения ЛХС-1177 и ЛХС-1207 $Pa - Pi$ этой активности равна 0,70.

Вероятность взаимодействия с ДНК (ингибирование синтеза ДНК и активности топоизомеразы 1) несколько больше выражена у препаратов сравнения. Оценено значение $Pa - Pi$ для способности стимулировать образование микротрубочек: для изучаемого ряда соединений оно колеблется в широких пределах от 0,10 до 0,50; при этом для большинства исследуемых соединений его величина почти в 2 раза выше, чем для препаратов сравнения (0,26).

Значение разности вероятностей $Pa - Pi$ стимулировать транскрипционный фактор NF-κB как для соединений, содержащих аминокислотные остатки, так и для соединений сравнения, не превышало 0,44 (см. табл. 2).

Следует отметить, что для соединений ЛХС-1156, ЛХС-1167, ЛХС-1206, ЛХС-1234 и ЛХС-1235

Таблица 2. Результаты прогнозирования механизмов действия ($P_a - P_i$)

Шифр соединения	Ингибирование циклинзависимой киназы 3	Ингибирование топоизомеразы 1	Ингибирование синтеза ДНК	Стимуляция образования микротрубочек	Стимуляция транскрипционного фактора NF-κB	Иммуностимулирующее действие
ЛХС-1177 (R3 = H)	0,7008	0,5348	0,5464	0,2561	0,4095	0,5271
ЛХС-1207 (R3 = H)	0,7018	0,5639	0,5309	0,2620	0,4390	0,5620
ЛХС-1046	0,7411	0,4726	0,2801	0,4967	0,4192	0,3404
ЛХС-1047	0,7193	0,4370	0,1603	0,4891	0,4145	0,146
ЛХС-1156	0,6695	0,4534	0,4385	0,2739	0,4186	0,5889
ЛХС-1166	0,6447	0,4170	0,2139	0,5012	0,4421	0,380
ЛХС-1167	0,7008	0,4534	0,4385	0,2739	0,4186	0,5889
ЛХС-1171	0,6479	0,2789	0,1997	0,4897	0,4006	0,1339
ЛХС-1172	0,7063	0,2271	0,0679	0,4826	0,3967	−0,0939
ЛХС-1173	0,7179	0,3614	−0,1342	0,4354	0,3750	0,2161
ЛХС-1174	0,6843	0,4052	0,0208	0,4642	0,4031	0,0259
ЛХС-1176	0,7162	0,3877	0,0096	0,4447	0,3508	−0,0308
ЛХС-1179	0,7051	0,4302	0,1812	0,4786	0,4201	0,1430
ЛХС-1196	0,6493	0,4430	0,3050	0,1989	0,3805	0,2959
ЛХС-1203	0,7173	0,4090	0,2179	0,1185	0,3526	0,4702
ЛХС-1204	0,7381	0,470	0,3959	0,2255	0,3894	0,4062
ЛХС-1205	0,7160	0,5037	0,4833	0,2207	0,3930	0,5632
ЛХС-1206	0,8528	0,4920	0,4892	0,2049	0,3982	0,6146
ЛХС-1224	0,6067	0,3535	0,3465	0,0955	0,2821	0,5072
ЛХС-1225	0,6189	0,3748	0,2628	0,1964	0,2911	0,3482
ЛХС-1226	0,7004	0,4504	0,4010	0,1891	0,4028	0,4982
ЛХС-1227	0,6922	0,4451	0,3689	0,2410	0,3972	0,4013
ЛХС-1228	0,6323	0,3620	0,1214	0,0938	0,3309	0,4849
ЛХС-1229	0,6770	0,4160	0,2917	0,1524	0,3123	0,3672
ЛХС-1230	0,7037	0,4503	0,3399	0,2216	0,3742	0,3301
ЛХС-1231	0,7077	0,4809	0,5134	0,1917	0,4069	0,6267
ЛХС-1233	0,7143	0,4645	0,4123	0,1917	0,3955	0,4031
ЛХС-1234	0,7008	0,4534	0,4385	0,2739	0,4186	0,5889
ЛХС-1235	0,7008	0,4534	0,4385	0,2739	0,4186	0,5889
ЛХС-1243	0,7381	0,470	0,3959	0,2255	0,3894	0,4062
ЛХС-1244	0,7037	0,4503	0,3399	0,2216	0,3742	0,3301
ЛХС-1245	0,6922	0,4451	0,3689	0,2410	0,3972	0,4013

значения $P_a - P_i$ для иммуностимулирующего действия (0,59–0,61) несколько превышают соответствующие значения для соединений сравнения ЛХС-1177 и ЛХС-1207 (не более 0,56). Эти данные указывают

на высокую вероятность взаимодействия перечисленных аминокислотных производных гликозидов индолокарбазола с надклеточными системами организма.

Таблица 3. Результаты прогнозирования общей токсичности ($Pa - Pi$)

Шифр соединения	Общая токсичность
ЛХС-1177 ($R_3 = H$)	0,2164
ЛХС-1207 ($R_3 = H$)	0,1634
ЛХС-1046	0,0055
ЛХС-1047	0,1593
ЛХС-1156	0,462
ЛХС-1166	0,3687
ЛХС-1167	0,462
ЛХС-1171	0,0036
ЛХС-1172	0,1575
ЛХС-1173	0,1852
ЛХС-1174	0,1114
ЛХС-1176	-0,2208
ЛХС-1179	0,1262
ЛХС-1196	0,1969
ЛХС-1203	0,2730
ЛХС-1204	0,2495
ЛХС-1205	0,0876
ЛХС-1206	0,1423
ЛХС-1224	0,3153
ЛХС-1225	0,1999
ЛХС-1226	0,4789
ЛХС-1227	0,2839
ЛХС-1228	0,5554
ЛХС-1229	-0,0588
ЛХС-1230	0,1396
ЛХС-1231	0,1514
ЛХС-1233	0,2108
ЛХС-1234	0,4620
ЛХС-1235	0,4620
ЛХС-1243	0,2495
ЛХС-1244	0,1396
ЛХС-1245	0,2839

В табл. 3 представлены результаты прогнозирования общей токсичности в виде $Pa - Pi$. Для большинства соединений прогнозируется невысокая общая токсичность, что свидетельствует в пользу рассматриваемых соединений как потенциальных лекарств.

Расчет молекулярных дескрипторов проведен для предварительной характеристики «лекарствоподобия» (drug-likeness) изучаемых соединений.

При разработке лекарств широко применяется «правило пяти» Липинского, согласно которому для химических соединений — кандидатов в лекарства — для удовлетворительной биодоступности должны выполняться хотя бы 2–3 из следующих требований: молекулярная масса не более 500, LogP не более 5, в молекуле должно быть не больше 5 доноров водородной связи (H_Donors), не более 10 атомов азота и кислорода суммарно (N_O), что рассматривается как приблизительное число акцепторов водородной связи. Дополнительно предложено также оценивать площадь полярной поверхности молекулы (PSA), которая для большинства лекарственных соединений $\leq 140 \text{ \AA}^2$, и число связей, вокруг которых возможно вращение (Rot_Band), оптимальное его значение оценено как ≤ 10 . И хотя эти эмпирические величины молекулярных дескрипторов химических соединений первоначально определены как существенные для пероральной биодоступности разработанных на их основе лекарств, есть указание на значение этих параметров для способности соединений проникать через биологические мембраны и, вследствие этого, для фармакокинетических свойств, в том числе и биодоступности при других способах введения [24–26]. В работе [27] обсуждается сходство между проблемами биодоступности химических соединений и их проникновения внутрь злокачественных клеток, что свидетельствует об особой роли соответствия физико-химических дескрипторов описанным выше правилам для соединений — кандидатов в противораковые лекарства. С учетом этого были рассчитаны молекулярные дескрипторы, позволяющие проводить предварительную оценку соединений по их предполагаемой растворимости, биодоступности и фармакокинетическим свойствам. Результаты расчетов представлены в табл. 4.

Все изученные соединения удовлетворяют «правилу пяти» Липинского по коэффициенту распределения в системе октанол–вода ($\text{LogP} < 5$), имея значение от 0,36 до 3,43, причем 15 аминокислотных производных имеют лучшие значения LogP , чем не содержащие аминокислотных остатков соединения сравнения ЛХС-1177 и ЛХС-1207, для которых экспериментально показана очень низкая растворимость в воде ($< 1 \text{ мг/мл}$).

Соединения ЛХС-1177 и ЛХС-1207 имеют меньшие по сравнению с аминокислотными производными значения молекулярной массы, Rot_Band , N_O , при этом 2 из этих показателей соответствуют целевым значениям ($Rot_Band = 1$, $N_O = 10$), молекулярная масса их незначительно превышает 500.

Таблица 4. Молекулярные дескрипторы, рассчитанные по структурным формулам

Шифр соединения	Молекулярная масса	N_O	H_Donors	LogP	Rot_Band	PSA, Å ²
ЛХС-1177 (R3 = H)	501,50026	10	5	1,49	1	146,18
ЛХС-1207 (R3 = H)	487,47317	10	6	1,13	1	157,04
ЛХС-1046	529,51	11	4	1,49	3	154,46
ЛХС-1047	543,53	11	4	1,70	3	154,46
ЛХС-1156	603,59088	13	6	0,76	4	194,92
ЛХС-1166	573,56439	12	5	1,08	3	174,69
ЛХС-1167	603,59	13	6	0,76	4	194,92
ЛХС-1171	531,52675	11	4	1,73	5	154,46
ЛХС-1172	545,55384	11	4	1,84	5	154,46
ЛХС-1173	603,65608	11	4	1,72	5	179,76
ЛХС-1174	635,63608	12	5	2,72	4	174,69
ЛХС-1176	658,67365	12	5	3,43	4	170,25
ЛХС-1179	559,5373	12	5	0,96	5	174,69
ЛХС-1196	665,66257	13	6	2,25	5	194,92
ЛХС-1203	633,68257	12	5	1,37	6	199,99
ЛХС-1204	573,56439	12	5	1,11	4	174,69
ЛХС-1205	559,5373	12	5	0,95	4	174,69
ЛХС-1206	573,56439	12	5	1,15	5	174,69
ЛХС-1224	688,65659	17	7	0,93	7	256,39
ЛХС-1225	764,79615	15	6	2,64	10	213,02
ЛХС-1226	631,60143	14	6	0,58	7	211,99
ЛХС-1227	601,61857	12	5	1,73	4	174,69
ЛХС-1228	649,68197	13	5	0,89	6	210,97
ЛХС-1229	688,70014	13	6	3,01	5	190,48
ЛХС-1230	649,66317	12	5	2,33	4	174,69
ЛХС-1231	587,59148	12	5	1,55	6	174,69
ЛХС-1233	589,56379	13	6	0,36	5	194,92
ЛХС-1234	603,59088	13	6	0,76	5	194,92
ЛХС-1235	603,59088	13	6	0,76	4	194,92
ЛХС-1243	573,5644	12	5	1,11	4	174,69
ЛХС-1244	649,6632	12	5	2,33	4	174,69
ЛХС-1245	601,6186	12	5	1,73	4	174,69

Молекулярная масса всех вышеприведенных аминокислотных производных >500.

Значения Rot_Band для всех 30 аминокислотных соединений соответствуют целевым значениям ≤10.

Значения H_Donors у соединений сравнения ЛХС-1177 и ЛХС-1207 составляют 5 и 6 соответственно. Для 20 из 30 изученных, содержащих аминокислотные остатки соединений значения H_Donors укладываются в целевые значения ≤5,

у 9 из 30 они равны 6 и у 1 соединения значение H_Donors равно 7.

Для всех содержащих аминокислотные остатки соединений значения N_O превышают целевое значение 10. Значения PSA для всех изученных соединений больше целевого значения 140 \AA^2 .

Полученные расчетные значения молекулярных дескрипторов указывают на то, что среди аминокислотных производных гликозидов индолакарбазолов могут быть соединения, пригодные по физико-химическим параметрам для разработки на их основе лекарств.

Исследование цитотоксической активности на всех клеточных линиях, перечисленных выше, не выявило активности ни у одного из 28 изученных соединений (значение IC_{50} превышало заданный критерий активности 10 мкМ). Результаты экспериментального изучения цитотоксической активности коррели-

руют с полученными с помощью системы PASS результатами прогнозирования цитостатической активности.

Заключение

Исследованные аминокислотные производные гликозидов индолакарбазола по прогнозируемым физико-химическим свойствам могут быть кандидатами для разработки на их основе лекарств. Полученные результаты прогнозирования противоопухолевой активности и механизмов действия указывают на их потенциальную противоопухолевую активность, предположительно не связанную с цитотоксическим действием. Целесообразно продолжить исследование противоопухолевой активности содержащих аминокислотные остатки гликозидов индолакарбазола на животных с экспериментальными опухолями.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Konlker H.J., Reddy K.R. Isolation and synthesis of biologically active carbazole alkaloids. *Chem Rev* 2002;102(11):4303–427. PMID: 12428991.
- Prudhomme M. Recent developments of rebeccamycin analogues as topoisomerase I inhibitors and antitumor agents. *Med Chem* 2000;7(12):1189–212. PMID: 11032967.
- Meng L.H., Liao Z.Y., Pommier Y. Non-camptothecin DNA topoisomerase I inhibitors in cancer therapy. *Curr Top Med Chem* 2003;3(3):305–20. PMID: 12570765.
- Pereira E.R., Fabre S., Sanselme M. et al. Antimicrobial activities of indolo-carbazole and bis-indole protein kinase C inhibitors. II. Substitution on maleimide nitrogen with functional groups bearing a labile hydrogen. *J Antibiot (Tokyo)* 1995;48(8):863–8. PMID: 7592032.
- Sielecki T.M., Boylan J.F., Benfield P.A., Trainor G.L. Cyclin-dependent kinase inhibitors: useful targets in cell cycle regulation. *J Med Chem* 2000;43(1):1–18. PMID: 10633033.
- Butler M.S. Natural products to drugs: natural product derived compounds in clinical trials. *Nat Prod Rep* 2005;22(2):162–95. DOI: 10.1039/b402985m. PMID: 15806196.
- Civenni G., Longoni N., Costales P. et al. EC-70124, a novel glycosylated indolo-carbazole multitargeted kinase inhibitor, reverts tumorigenic and stem cell properties in prostate cancer by inhibiting STAT3 and NF- κ B. *Mol Cancer Ther* 2016;15(5):806–18. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0791. PMID: 26826115.
- Shaban K.A., Elshahawi S.I., Wang X. et al. Cytotoxic indolo-carbazoles from *Actinomadura melliaura* ATCC 39691. *J Nat Prod* 2015;78(7):1723–9. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00429. PMID: 26091285.
- Steinert G., Taylor M.W., Schup P.J. Diversity of Actinobacteria associated with the marine Ascidian *Eudistoma toaeleensis*. *Mar Biotechnol* 2015;17(4):377–85. DOI: 10.1007/s10126-015-9622-3. PMID: 25678260.
- Prudhomme M. Biological targets of anti-tumor indolo-carbazoles bearing a sugar moiety. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2004;4(6):509–21. PMID: 15579016.
- Pindur U., Kim Y.-S., Mehrabani F. Advances in indolo[2,3-a]carbazole chemistry: design and synthesis of protein kinase C and topoisomerase I inhibitors. *Curr Med Chem* 1999;6(1):29–69. PMID: 9873114.
- Trostmann U., Hartenstein J., Barth H. et al. Патент Германии Ger. Offen DE 4243321 A1, June 23, 1994.
- Trostmann U., Schaechtele C., Hartenstein J. et al. Патент США 5750555, May 12, 1998.
- Горюнова О.В., Захарчук Г.М., Жукова О.С. и др. N6-дипептидные производные N12-рибозил-индоло[2,3-a]карбазола. *Биоорганическая химия* 2014;40(1):12–9. DOI: 10.7868/S0132342314010047.
- Omura S., Sasaki Y., Iwai Y., Takeshima H. Staurosporine, a potentially important gift from a microorganism. *J Antibiot* 1995;48(7):535–48. PMID: 7649849.
- Апрышко Г.Н. Свидетельство о государственной регистрации базы данных «Противоопухолевые отечественные вещества, изученные в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН» № 2013620860. М.: Федеральная служба по интеллектуальной собственности, 29 июля 2013 г.
- Филимонов Д.А., Пороиков В.В. Прогноз спектра биологической активности органических соединений. *Российский химический журнал* 2006;50(2):66–75.
- Filimonov D.A., Poroikov V.V. Probabilistic approach in activity prediction. In book: *Chemoinformatics approaches to virtual screening*. Eds.: A. Varnek, A. Tropsha. Cambridge (UK): RSC Publishing, 2008. Pp. 182–216.
- Филимонов Д.А., Лагуни А.А., Глоризова Т.А. и др. Предсказание спектров биологической активности органических соединений с помощью веб-ресурса PASS Online. *Химия гетероциклических соединений* 2014;3:483–99.
- Trepalin S.V., Yarkov A.V. CheD: chemical database compilation tool, internet server, and client for sql servers. *J Chem Inf Comput Sci* 2001;41(1):100–7. PMID: 11206361. <http://www.vclab.org/lab/alogps>.
- Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности

- лекарственных средств. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. С. 642–656.
22. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65(1–2):55–63. PMID: 6606682.
23. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Delivery Rev* 2001;46(1–3):3–26. PMID: 11259830.
24. Кубиньи Г. В поисках новых соединений-лидеров для создания лекарств. *Российский химический журнал* 2006;50(2):5–17.
25. Veber D.F., Johnson S.R., Cheng H.Y. et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem* 2002;45(12):2615–23. DOI: 10.1021/jm020017n. PMID: 12036371.
26. Omran Z., Rauch C. Acid-mediated Lipinski's second rule: application to drug design and targeting in cancer. *Eur Biophys J* 2014;43(4–5):199–206. DOI: 10.1007/s00249-014-0953-1. PMID: 24687685.