

На правах рукописи

КУДРЯВЦЕВ
Михаил Юрьевич

**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДИНКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ**
(in vitro и in vivo исследование)

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» и федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук, доцент

Дерябина Ольга Николаевна

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Блинова Екатерина Валериевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **Покровский Михаил Владимирович**
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», кафедра фармакологии и клинической фармакологии, заведующий кафедрой

доктор медицинских наук, доцент **Заборовский Андрей Владимирович**
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакологии, заведующий кафедрой

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «_____» _____ 20____ года в _____ час. на заседании Диссертационного совета 21.2.058.01 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1; и на сайте www.rsmu.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 20____ года

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор



Духанин Александр Сергеевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Онкологические заболевания сохраняют высокую социальную значимость и занимают лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности на планете [Butler et al., 2021]. Глобальный демографический и медико-социальный анализ, проведенный GLOBOCAN, сделал неутешительные выводы о ежегодном росте новых случаев патологии с вероятностью регистрации 20 млн. к 2025 году [Zugazagoitia et al., 2016]. При этом, на момент проведения расчетов в 2012 году в мире было выявлено 14,1 новых случаев и 8,2 млн. смертей от злокачественных новообразований (ЗНО) [Zugazagoitia et al., 2016]. На Европейском континенте наиболее распространены рак молочной железы, колоректальный рак, рак предстательной железы и легкого. При этом, рак легкого сохраняет ведущее место в структуре онкологической заболеваемости и смертности [Ferlay et al., 2015; Zugazagoitia et al., 2016].

Растущие знания о молекулярной природе ЗНО в значительной степени трансформировали парадигму лечения опухолевых состояний за последние 15-20 лет. Если ранее неоплазии классифицировали и лечили исходя из анатомической локализации злокачественного процесса и гистологической структуры опухоли, фундаментальные труды Schiller и соавт., опубликованные в 2002 году, на примере применения четырех курсов полихимиотерапии, основанной на использовании препаратов платины третьего поколения, у пациентов с немелкоклеточным раком легкого, показали, что применение только цитотоксических химиотерапевтических средств не в силах преодолеть плато эффективности [Ferlay et al., 2013]. Также стало понятно, что для повышения эффективности и безопасности противоопухолевой терапии необходимо основываться на идентификации молекулярно-обусловленных механизмах опухолевой прогрессии, а терапевтические целевые группы пациентов могут формироваться только на основе анализа выявленных молекулярных дефектов [Schiller et al., 2002]. С тех пор два ключевых направления развития современной молекулярной онкологии и онкофармакологии были окончательно сформированы: развитие новых технологий молекулярной диагностики причин и механизмов опухолевой трансформации и прогрессии; поиск молекулярных таргетов для потенциальных лекарственных средств [Schiller et al., 2002]. Материализацией этих направлений в молекулярной биологии были и революционные изменения в онкофармакологии, заключающиеся также в двух принципиальных процессах: во-первых, прецизионной гено-направленной фармакологии в виде разработки персонализированных молекул, направленных на модуляцию геномных нарушений, общих для нескольких типов опухолей [Roychowdhury et al., 2014]; и, во-вторых, таргетирование компонентов опухолевого

микроокружения, в особенности, компоненты иммунной системы, в частности, противоопухолевый иммунитет [Bhullar et al., 2018]. Описанные подходы позволили существенным образом повысить эффективность противоопухолевой терапии, однако, проблема лекарственного лечения ЗНО сохраняет свою высокую актуальность. Она обусловлена тем, что и к новым молекулам формируется резистентность, идентифицируются неизвестные ранее внутриклеточные сигнальные пути, активируемые клетками опухоли в результате непрекращающегося мутационного процесса [Жданов, 2020]. Все это диктует необходимость изыскания новых возможностей лекарственной терапии опухолевых заболеваний.

Степень разработанности темы исследования

Учеными Мордовского госуниверситета и Сеченовского Университета в течение нескольких лет ведутся исследования по поиску новых путей повышения эффективности противоопухолевой химиотерапии. В частности, были установлены фундаментальные закономерности, связанные с ответом PD-L1-экспрессирующих эпителиальных опухолей на иммунобиологическую терапию и вовлеченности компонентов иммунного микроокружения [Blinova et al., 2019, 2020, 2021; Самышина и др. 2019; Samishina et al., 2019].

Также проведена большая работа по определению противоопухолевого потенциала целого ряда новых оригинальных соединений [Блинова и др., 2020; Дудина и др., 2019, 2020; Скачилова и др. 2019; Blinova et al., 2018; Dudina et al., 2018]. Так, в частности, для производного 4Н-аминохромена 2-аминия-7-(диэтиламино)-4-(4-метокси-бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-4Н-хромен-3-карбонитрила N-ацетил-аминоэтаноата (соединения АХ-554) проведены доклинические токсикологические исследования, установлено отсутствие канцерогенных, гено- и эмбриотоксических, алергизирующих и иммунотоксических свойств вещества. Наряду с высоким противоопухолевым потенциалом, доказанным как на сингенных, так и на ксенографтных моделях опухолей, вещество обладает оптимальным профилем безопасности, хорошо всасывается при приеме внутрь и создает действующие концентрации в целевых органах [Блинова и др., 2020; Дудина и др., 2019; Скачилова и др. 2019]. В то же время, производные пиридинкарбоновых кислот представляют собой чрезвычайно разнообразный тип химических соединений, многие из которых могут рассматриваться в аспекте поиска перспективных молекул с противоопухолевой активностью, что и обуславливает несомненную актуальность настоящего исследования.

Цель работы

На основании комплексного прогнозирования структура – активность и экспериментального исследования определить соединение с наибольшим противоопухолевым потенциалом

в ряду производных пиридинкарбоновых кислот.

Задачи исследования

1. Провести количественный фармакологический анализ структура – токсичность и структура – активность с определением коэффициентов прогнозирования взаимодействия с потенциальными мишенями и наличия биологических эффектов в ряду производных пиридинкарбоновых кислот.

2. Провести эксперименты по молекулярному докингу пространственной структуры отобранной молекулы с киназными центрами внутриклеточных макромолекул, участвующих в опухолевой прогрессии – киназами BCR-ABL, dCK, CSF1, EGFR и FOLR2 с определением степени аффинитета и энергий связывания.

3. Разработать метод и осуществить синтез 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она 2-гидроксипутандиоата с лабораторным шифром ЛХТ-17-19 в количестве и с чистотой, достаточными для проведения биологического этапа исследования.

4. В культурах клеток рака поджелудочной железы PANC-1 и мочевого пузыря HT-29 человека, а также на инновационной органоидной трехмерной модели EGFR-экспрессирующего рака молочной железы определить эффективные цитотоксические и цитостатические концентрации трех соединений, показавших по итогам прогнозной оценки лучшие свойства.

5. Доказать наличие у вещества 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она 2-гидроксипутандиоата с лабораторным шифром ЛХТ-17-19 анти-EGFR активности в опытах на ксенографтной модели EGFR-экспрессирующего немелкоклеточного рака легкого у гуманизированных животных.

Научная новизна

Проведено экспериментальное исследование противоопухолевой активности ряда соединений пиридинкарбоновых кислот. С использованием предиктивной программы PASS у вещества 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она 2-гидроксипутандиоата с лабораторным шифром учреждения разработчика ЛХТ-17-19 показана высокая вероятность (выше 0,8) ингибиторного действия в отношении киназы рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). При этом также была установлена высокая прогностическая вероятность наличия в спектре действия общего противоопухолевого эффекта, в также антибластомного действия в отношении колоректального рака, рака молочной железы, рака мочевого пузыря и рака толстого кишечника, а также лимфобластной лейкемии. Также для вещества спрогнозировано ингибиторное действие в отношении киназы Мус и киназы PDGFR.

На основе проведенных экспериментов по молекулярному докингу соединения ЛХТ-17-19 были подтверждены прогнозные данные о способности соединения ингибировать

некоторые протеинкиназы, находящиеся в активированном состоянии. В частности, молекула 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она 2-гидроксипутандиоата имеет высокое сродство к рецептору киназы эпидермального фактора роста EGFR-K, к рецепторной системе CSF1 и фолатному рецептору человека FOLR2. Впервые показано, что в процессе докинг-сближения и последующей стыковки с активным сайтом тирозинкиназы EGFR-K и рецептора фолатов человека FOLR2 внутри молекулы ЛХТ-17-19 формируется дополнительная водородная связь между протоном водорода аминогруппы и атомом кислорода карбонильной группы с атомными расстояниями 2,21 Å и 2,49 Å соответственно. По изученным показателям аффинности установленные результаты для ЛХТ-17-19 превосходят таковые для молекул сравнения – иматиниба, эрлотиниба и пеметрекседа.

Впервые разработан лабораторный метод получения 9-амино-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она в результате взаимодействия на первом этапе нитрила антраниловой кислоты и димедона в среде толуола и соляной кислоты, с получением енамина, с его последующей циклизацией с добавлением хлорида меди и поташа в среде толуола; выход конечного продукта составляет 93%.

В культурах EGFR-экспрессирующих рака поджелудочной железы (PANC-1) и мочевого пузыря (HT-29) впервые определены эффективные цитостатические концентрации соединения ЛХТ-17-19. Также установлено, что вещество способно ингибировать рост и вызывать обратное развитие органоидной трехмерной опухолевой системы EGFR-экспрессирующего рака молочной железы человека.

На модели ксенографтной EGFR-позитивной аденокарциномы легкого человека у иммунодефицитных гуманизированных мышей установлено, что исследуемое соединение достоверно увеличивает время удвоения размера опухолевого узла до $21,5 \pm 2,1$. По влиянию на продолжительность жизни животных – носителей опухоли – вещество ЛХТ-17-19 более, чем вдвое увеличивало выживаемость животных, превосходя по этому критерию соединение сравнения (циклофосфамид). Антиметастатическое действие исследуемого вещества и циклофосфамида были сопоставимы.

Научно-практическая значимость работы

Определен спектр потенциальных мишеней и спрогнозированы фармакологические эффекты для трех соединений – производных пиридинкарбоновых кислот: 3-пиридинкарбамид 2-амино-5 метилпиридин (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-13-19), 2-аминия-7-(диэтиламино)-4-(4-метоксибензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-4Н-хромен-3-карбонитрил 4-нитро-бензамидо-2-амино-этансульфоновой кислоты (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-16-19) и 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она 2-

гидроксIBUTандиоата (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-17-19), представляющих потенциальный интерес для прикладной онкофармакологии.

Разработан лабораторный метод получения соединения ЛХТ-17-19 в результате взаимодействия на первом этапе нитрила антраниловой кислоты и димедона в среде толуола и соляной кислоты, с получением енамина, с его последующей циклизацией с добавлением хлорида меди и поташа в среде толуола, защищенный патентом на изобретение Российской Федерации.

Разработанная и валидированная ксенографтная модель EGFR-позитивной аденокарциномы легкого человека у иммунодефицитных гуманизированных мышей может быть с успехом использована в экспериментальной фармакологии и персонализированной медицине.

Методология и методы исследования

Настоящая работа была построена на рациональном сочетании использования методов *in silico*, *in vitro* и *in vivo*. В рамках количественного фармакологического анализа структура – активность и структура – токсичность была применена система PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), разработанную отечественными исследователями В.В. Поройковым и Д.А. Филимоновым.

При проведении докинговых исследований подготовку лиганда проводили при помощи программной среды «MGL Tools 1.5.6» (США), оптимизацию молекулы лиганда осуществляли при помощи программного комплекса «Avogadro» (США), расчеты осуществляли в программной среде «Autodock 4.2». В качестве таргетных макромолекулярных структур применяли открытые кристаллографические данные из «Protein Data Bank» для abl-киназы С (Protein Data Bank ID – 6NPE), киназы дезоксицитидин (шифр dCK) (Protein Data Bank ID – 5MQT), CSF1 рецепторной киназы (Protein Data Bank ID – 4R7I), K-рецептора эпидермального фактора роста EGFR (Protein Data Bank ID – 1M17), FOLR2 рецептора (Protein Data Bank ID – 4KN2), а также активного домена квадруплексной 4G-ДНК (Protein Data Bank ID – 6KN4). Предподготовку рецепторных карт осуществляли в программных средах «MGL Tools» и «AutoGrid» (США). С Protein Data Bank файлов со следующими ID: 4KN2, 5MQT, 6NPE, 1M17, 4R7I и 6KN4 были вырезаны гидратные воды, посторонние ионы и лиганды.

В *in vitro* разделе работы применяли методы инкубации культур опухолевых клеток человека в присутствии исследуемого соединения в различных концентрациях. Для оценки противоопухолевого эффекта использовали модификацию МТТ-теста. При определении антибластомного потенциала соединения ЛХТ-17-19 в отношении EGFR-экспрессирующего рака молочной железы применяли инновационный высокотехнологичный лабораторный

метод выращивания трехмерных опухолеподобных структур – опухолевых органоидов с последующей оценкой их эволюции при культивировании в среде с добавлением ЛХТ-17-19.

Для подтверждения высокого противоопухолевого потенциала соединения ЛХТ-17-19 и определения эффективных доз в опытах на животных была разработана ксенографтная модель EGFR-позитивной аденокарциномы легкого человека у иммунодефицитных гуманизированных мышей. Традиционным способом оценивалась динамика роста опухолевого узла, интенсивность метастазирования. Для анализа выживаемости животных – носителей опухоли использовали метод построения кривых выживаемости Kaplan-Meier, для анализа различий применяли метод log-rank.

Связь диссертации с основными научными темами

Диссертация подготовлена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ Российской Федерации **НШ-843.2022.3**, частичной методической поддержке Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» (проект №14.N08.11.084 «Доклинические исследования лекарственного средства, действующего на рецепторные тирозинкиназы ALK (киназа анапластической лимфомы) и Met, Бета-тубулин класс 3 (TUBB3), для лечения рака лёгких»).

Ключевые положения диссертационной работы внедрены в учебную работу кафедр фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармацевтической технологии медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева» (г. Саранск), фармацевтической технологии и фармакологии Института профессионального образования ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (г. Москва), используются в работе научного семинара отдела химии, технологии синтетических лекарственных средств и аналитического контроля АО «ВНЦ БАВ» (г. Старая Купавна Московской области).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Для соединений пиридинкарбоновых кислот 3-пиридинкарбамид 2-амино-5-метилпиридин (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-13-19), 2-аминия-7-(диэтиламино)-4-(4-метоксибензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-4Н-хромен-3-карбонитрил 4-нитро-бензамидо-2-амино-этансульфоновой кислоты (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-16-19) и 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она 2-гидроксипутандиоата (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-17-19) спрогнозирован широкий спектр потенциальных протонкогенных мишеней, в том числе в отношении киназного центра рецептора эпидермального фактора роста (EGFR).

2. Молекула 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она 2-гидроксипутандиоата имеет высокое сродство к рецептору киназы эпидермального фактора роста EGFR-K, к рецепторной системе CSF1 и фолатному рецептору человека FOLR2. Впервые показано, что в процессе докинг-сближения и последующей стыковки с активным сайтом тирозинкиназы EGFR-K и рецептора фолатов человека FOLR2 внутри молекулы ЛХТ-17-19 формируется дополнительная водородная связь между протоном водорода аминогруппы и атомом кислорода карбонильной группы с атомными расстояниями 2,21 Å и 2,49 Å соответственно. По изученным показателям аффинности установленные результаты для ЛХТ-17-19 превосходят таковые для молекул сравнения – иматиниба, эрлотиниба и пеметрекседа.

3. Соединение 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она 2-гидроксипутандиоат в широком диапазоне концентраций подавляет рост культур EGFR-экспрессирующего рака поджелудочной железы и рака мочевого пузыря человека, вызывает гибель органоидов EGFR-экспрессирующего рака молочной железы. На модели ксенографтной EGFR-позитивной аденокарциномы легкого человека у иммунодефицитных гуманизированных мышей оказывает противоопухолевое действие в виде подавления роста первичного опухолевого узла, ингибирования метастазирования опухоли и увеличения продолжительности жизни животных – носителей ксенографта.

Степень достоверности

Достоверность основных выводов и положений диссертации обусловлена использованием сертифицированных программных продуктов для внеэкспериментального скрининга активности соединений – производных пиридинкарбоновых кислоты, изучением в работе субстанции соединения ЛХТ-17-19, чистота которой подтверждена методом МР и ИК-спектроскопии; известными и признанными в отечественной и мировой науке методов воспроизведения экспериментальной патологии, сертифицированных культур клеток, лабораторных животных, а также методов статистического анализа полученных результатов.

Апробация диссертационной работы

Апробация диссертационной работы проведена на межучрежденческом совместном расширенном заседании кафедр фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармацевтической технологии, онкологии, нормальной и патологической анатомии Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева», фармацевтической технологии и фармакологии Института профессионального образования; пропедевтики внутренних болезней и клинической фармакологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол №1 от 24.06.2022 г.

Результаты настоящего диссертационного проекта обсуждались и докладывались на XXIX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2022), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2021).

Личный вклад автора

Диссертант самостоятельно разработал научную гипотезу исследования, сформулировал цель и задачи диссертации, обосновал актуальность выполнения работы. Лично автором определена методологическая база исследования. Автор выполнил количественный анализ структура – активность и структура – токсичность, непосредственно и включенно участвовал в проведении экспериментов по молекулярному докингу, лично выполнил исследования культурах клеток. Диссертант принимал деятельное участие в изучении активности ЛХТ-17-19 на органоидной и животной моделях опухолей. М.Ю. Кудрявцев принимал деятельное участие в подготовке научных публикаций, заявки на получение патента на изобретение; он самостоятельно написал рукопись работы.

Публикации по теме диссертационной работы

По теме диссертационного исследования опубликовано 8 научных работ, из них: 4 статьи – в журналах, входящих в перечень ВАК при Минобрнауки России, 2 статьи – в журналах, индексируемых международной системой цитирования Scopus.

Объем и структура работы

Диссертационное исследование построено по традиционному плану, состоит из введения, главы 1 (обзора литературы), главы 2 с описанием материалов и методов исследования, двух глав с изложением полученных результатов, главы заключения, выводов и практических рекомендаций.

Работа изложена на 150 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 34 рисунками, 11 таблицами. Библиографический список состоит из выходных данных 173 литературных источников, из которых 158 – иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Настоящее диссертационное исследование выполнено в соответствии с требованиями приказа Минздравсоцразвития России №199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», иными нормативными правовыми актами, регламентирующими доклинические лабораторные исследования, основываясь на принципах гуманного обращения с подопытными животными. На рисунке 1 представлен общий план и дизайн нашего диссертационного исследования.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

На первом этапе внеэкспериментального скрининга фармакологической активности с использованием программной среды PASS осуществили количественный анализ структура – активность и структура – токсичность в ряду трех производных пиридинкарбоновой кислоты, представляющих собой либо органические соли, либо несолевые структуры. На втором этапе химическую структуру, показавшую оптимальные количественные значения в качестве противоопухолевого вещества, взаимодействующего с протеинкиназами, изучили с применением более сложных технологий молекулярного докинга. Вещество с доказанной на внеэкспериментальном этапе ингибиторной активностью в отношении таргетной протеинкиназы на последующих этапах было изучено в опытах *in vitro* и *in vivo*. Для этого на втором этапе провели синтез соединения по разработанной технологии с проведением идентификации химической структуры вещества методами регистрации ИК-спектра и магнитно-резонансной структуры. Этап работы в клеточных культурах включал использование двухмерных и трехмерных клеточных конструкций. Так, в частности, использовали культуры EGFR-экспрессирующих клеток рака поджелудочной железы и мочевого пузыря, а также уникальную органоидную культуру EGFR-экспрессирующего трижды негативного рака молочной железы. На описываемом этапе в сравнении с референтными средствами была изучена цитостатическая активность вещества в отношении специфических клеток, вычислены эффективные подавляющие концентрации. На четвертом

этапе изучили активность соединения на модели сингенной опухоли для расчета эффективных противоопухолевых доз вещества. Также на данном этапе провели масштабное исследование особенностей реализации противоопухолевой активности вещества в условиях модельной противоопухолевой платформы ксенографтного EGFR-экспрессирующего рака мочевого пузыря человека с использованием в качестве носителя опухоли гуманизированных мышей. На заключительном этапе провели анализ полученных результатов, сформулировали выводы и практические рекомендации по дальнейшему использованию результатов диссертационной работы.

Краткая характеристика исследуемых соединений

В работе изучены три соединения – производные пиридинкарбоновой кислоты – 3-пиридинкарбамид 2-амино-5 метилпиридин (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-13-19), 2-аминия-7-(диэтиламино)-4-(4-метоксибензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-4Н-хромен-3-карбонитрил 4-нитро-бензамидо-2-амино-этансульфоновой кислоты (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-16-19) и 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2Н)-она 2-гидроксипутандиоата (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-17-19). Химические структуры которых были сконструированы в отделе химии, технологии синтетических лекарственных средств и аналитического контроля Акционерного общества «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ» (АО «ВНЦ БАВ», г. Старая Купавна Московской области) под руководством и непосредственным участии руководителя отдела лауреата Государственной премии Российской Федерации доктора химических наук, профессора С.Я. Сkachиловой¹.

На этапе докинговых исследований в качестве референтных противоопухолевых препаратов использовали молекулярные структуры антрациклинового антибиотика доксорубина, а также таргетных молекул иматиниба и эрлотиниба в виде кристаллографических и стереохимических конструкций.

На фармакобиологическом этапе исследования в качестве препаратов сравнения применяли доксорубин, цисплатин и иматиниб. Использовали официальную лекарственную форму «Доксорубин» (гидроксидаунорубин гидрохлорид) производства Фармахеми Б.В. (Нидерланды) по 50 мг в виде лиофилизированного порошка для приготовления инъекционного раствора в виде порошка или массы от оранжево-красного до красного цвета; официальную форму «Цистплатин-Тева» (цис-диаминоплатины (II) дихлорид) производства Фармахеми Б.В. (Нидерланды) в виде концентрата для приготовления раствора для инфузий (0,5 мг/мл – 100 мл) во флаконах; 4-[(4-метил-1-

¹ Автор выражает сердечную признательность профессору С.Я. Сkachиловой за предоставленные вещества, ценные советы и деятельное участие в выполнении исследования

пиперазинил)метил]-N-[4-метил-3-[[4-(3-пиридинил)-2-пиримидинил] амино] -фенил] беназмид метан-сульфонат (иматиниба мезилат) в виде субстанции производства Merck Sigma-Aldrich (Швейцария) с чистотой более 98%.

На животных моделях исследуемые вещества и препараты сравнения вводили лабораторным животным внутривенно в растворе, объем которого не превышал 0,5 мл в соответствие с действующими методическими рекомендациями.

Двухмерные и органоидные клеточные культуры

В настоящем исследовании использовали две двухмерные клеточные культуры опухолевых клеток, экспрессирующих рецептор эпидермального фактора роста: культуру клеток рака поджелудочной железы PANC-1 и культуру клеток рака мочевого пузыря HT-29. Культуры были получены из библиотеки опухолевых штаммов Московского научно-исследовательского института онкологии им. П.А. Герцена – обособленного структурного подразделения ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. Для изучения специфической активности наиболее перспективного соединения в ряду производных пиридинкарбоновых кислот использовали также трехмерную органоидную модель рака молочной железы человека, полученную из криобиблиотеки ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России².

Лабораторные животные – носители ксенографтной модели EGFR-экспрессирующего немелкоклеточного рака легкого

Эксперименты проведены на 36 самках 10-12-недельных мышей линии *nude/nude* BALB/c, приобретенных в SPF-виварии НИИ биоорганической химии им. академиков Шемякина и Овчинникова Российской академии наук (г. Пущино Московской области).

Методы исследования

Для решения задачи количественного анализа структура – активность и структура – токсичность в ряду производных пиридинкарбоновых кислот использовали программную среду PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances). Эксперименты по молекулярному докингу проведены при помощи компьютерного пакета «Autodock 4.2», который позволяет проводить гибкий рецептор-ориентированный молекулярный докинг в условиях виртуальной реальности с использованием открытых кристаллографических данных из «Protein Data Bank». Подготовку лиганда проводили при помощи программной среды «MGL Tools 1.5.6» (США). Оптимизацию молекулы лиганда осуществляли при помощи программного комплекса «Avogadro» (США).

² Автор выражает большую благодарность и.о. зав. лабораторией прикладной и фундаментальной фармакологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России А.И. Осипьянцу за предоставленную органоидную культуру и безмерную помощь при проведении экспериментов

Для оценки выживаемости опухолевых клеток под воздействием исследуемых соединений и референтных противоопухолевых средств применяли диагностический набор и использованием реагента «CellTiter-Blue» производства Promega (США).

Исследование противоопухолевой активности соединения пиридинкарбоновой кислоты проводили также на ксенографтной модели EGFR-экспрессирующего немелкоклеточного рака легкого у гуманизированных мышей. Определяли время удвоения размера опухоли, частоту метастазирования, выживаемость животных – носителей опухоли.

Гистологический и иммуногистохимический анализ использовали для гисто- и иммунофенотипирования исходного опухолевого биологического материала при проведении исследований на органоидах и ксенографтных моделях, а также для подтверждения морфологического и молекулярного соответствия полученных модельных опухолевых и органоидных систем.

Методы статистического анализа

Для анализа результатов исследования использовали методы вариационной статистики. Данные представляли в виде средней арифметической или медианы со среднеквадратическим отклонением. При сравнении двух и более совокупностей на первом этапе проводили проверку гипотезы нормальности распределения с использованием одномерного дисперсионного анализа (метод Колмогорова-Смирнова), после чего применяли параметрические критерии – t Стьюдента при парном сравнении, ANOVA и Тьюки при сравнении трех и более совокупностей. При сопоставлении результатов, выраженных в абсолютных величинах, применяли точный критерий Фишера. Выживаемость животных анализировали путем построения кривой выживаемости Каплана-Мейера. Сопоставление кривых проводили с использованием log-rank теста. Применяли вычислительные мощности персонального компьютера iMac 2017 (Apple Inc., США) с лицензионным программным продуктом SPSS (IBM Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для решения задачи количественного анализа структура – активность и структура – токсичность в ряду производных пиридинкарбоновых кислот использовали программную среду PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) с открытым исследовательским онлайн доступом. Результаты внеэкспериментального прогноза активности соединений пиридинкарбоновых кислот показали, что в их прогнозном спектре присутствует широкий диапазон потенциальных мишеней и видов фармакологического действия. Однако, с точки зрения интересующей нас ингибиторной активности в отношении протоонкогенных киназ все вещества представляют потенциальный интерес. Так, в частности, для 3-

пиридинкарбамид 2-амино-5 метилпиридина установлена ингибирующая активность в отношении фактора транскрипции STAT3, фактора транскрипции STAT1, киназы рецептора тромбоцитарного фактора роста фибробластов (PDGFR), киназы MAP3K5. Также определена перспектива для вещества ЛХТ-13-19 как ингибитора ангиогенеза, ингибитора киназы фокальной адгезии 2 и протоонкогенной тирозинкиназы FGR. Следует подчеркнуть, что виды активностей упомянуты в порядке снижения вероятности в диапазоне коэффициента прогнозирования (Pa) от 0,568 до 0,386. Для 2-аминия-7-(диэтиламино)-4-(4-метоксибензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-4Н-хромен-3-карбонитрил 4-нитро-бензамидо-2-аминоэтансульфоновой кислоты спрогнозирована антагонистическая активность в отношении апоптоза, противоопухолевый эффект в отношении неходжкинской лимфомы. Установлена высокая вероятность наличия антагонизма к тубулину, противоопухолевого эффекта в отношении немелкоклеточного рака легкого. Также как и в предыдущем случае, виды активностей упомянуты в порядке снижения вероятности в диапазоне коэффициента прогнозирования (Pa) от 0,600 до 0,299.

Вещество 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2Н)-она 2-гидроксипутандиоат в прогнозной системе проявляло высокую вероятность ингибиторного действия в отношении киназы рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) с вероятностью выше 0,8. При этом также была отмечена высокая прогностическая вероятность наличия в спектре действия общего противоопухолевого эффекта, в также антибластомного действия в отношении колоректального рака, рака молочной железы, рака мочевого пузыря и рака толстого кишечника, а также лимфобластной лейкемии. Следует особо оговориться, что в формировании и прогрессии всех указанных видов опухолей доказана роль EGFR как протоонкогенного драйвера. Также для вещества спрогнозировано ингибиторное действие в отношении киназы Мус и киназы PDGFR. При сопоставлении результатов программного скрининга с данными доступной литературы наиболее оптимальное соотношение структура – токсичность – активность установлены для вещества ЛХТ-17-19. В силу прогнозных агонистических свойств соединения к EGFR на следующем этапе работы провели эксперименты по молекулярному докингу 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2Н)-она 2-гидроксипутандиоата.

На основе проведенных экспериментов по молекулярному докингу ЛХТ-17-19 были подтверждены прогнозные данные о способности соединения ингибировать некоторые протеинкиназы, находящиеся в активированном состоянии. Мы показали, в частности, что молекула 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2Н)-она 2-гидроксипутандиоата имеет высокое сродство к рецептору киназы эпидермального фактора роста EGFR-K (Protein Data Bank ID: 1M17) со значениями Affinity-DG = -7,9 kcal/mol, Edoc = -5,45 kcal/mol, Ki =

101,24 μM . Также молекула проявляет сродство к рецепторной системе CSF1 (Protein Data Bank ID: 4R7I) со значениями Affinity-DG = -10,2 kcal/mol, EDoc = -6,82 kcal/mol, K_i = 9,99 μM и фолатному рецептору человека FOLR2 (Protein Data Bank ID: 4KN2) со значениями Affinity-DG = -10,0 kcal/mol, Edoc = -7,05 kcal/mol, K_i = 6,85 μM . По всем изученным показателям (абсолютным) установленные результаты для ЛХТ-17-19 превосходят таковые для всех препаратов сравнения – иматиниба, эрлотиниба и пеметрекседа. Необходимо подчеркнуть, что в процессе докингового сближения и последующей стыковки с активным сайтом тирозинкиназы EGFR-K и рецептора фолатов человека FOLR2 внутри молекулы ЛХТ-17-19 формируется дополнительная водородная связь между протоном водорода аминогруппы и атомом кислорода карбонильной группы с атомными расстояниями 2,21 Å и 2,49 Å соответственно (рисунки 2 и 3).

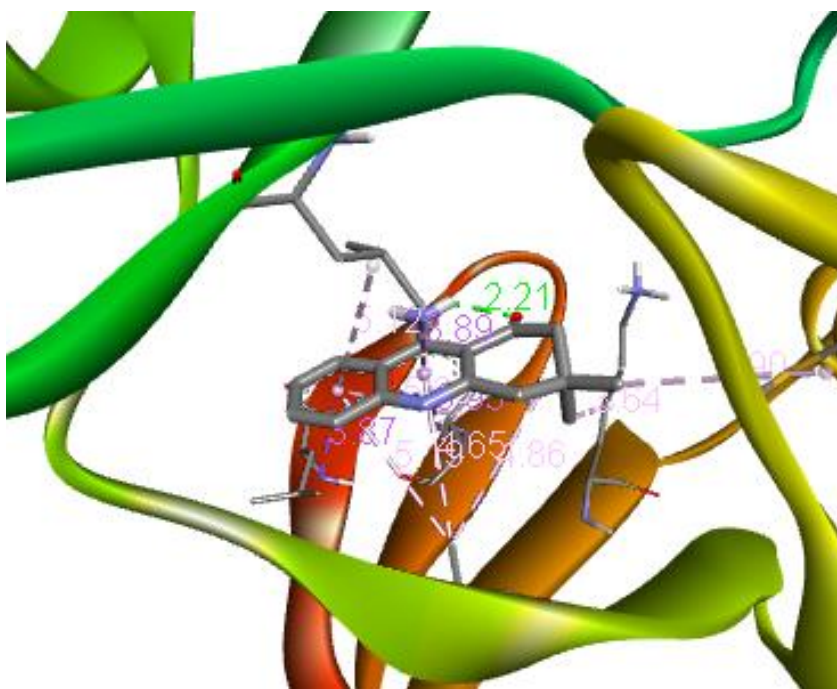


Рисунок 2 – Суперпозиция комплекса «молекула ЛХТ-17-19 – рецепторная тирозинкиназа EGFR» (Protein Data Bank ID: 1M17)

На основе представленных результатов можно сделать заключение, что проявлению антикиназной и, шире, противоопухолевой, активности способствуют: 1) наличие жесткой гетероциклической системы ЛХТ-17-19, содержащей узловую атом азота; 2) насыщение жесткого каркаса молекулы заместителями разной электронной природы; 3) симметричность целевого соединения вследствие сочетания в одной молекуле соответствующих скаффолдов; 4) присутствие в одной молекуле ЛХТ-17-19 доноров и акцепторов водородных связей, которое приводит к возникновению дополнительных внутримолекулярных контактов, что, в свою очередь, может привести к повышению устойчивости комплекса «лиганд – мишень».

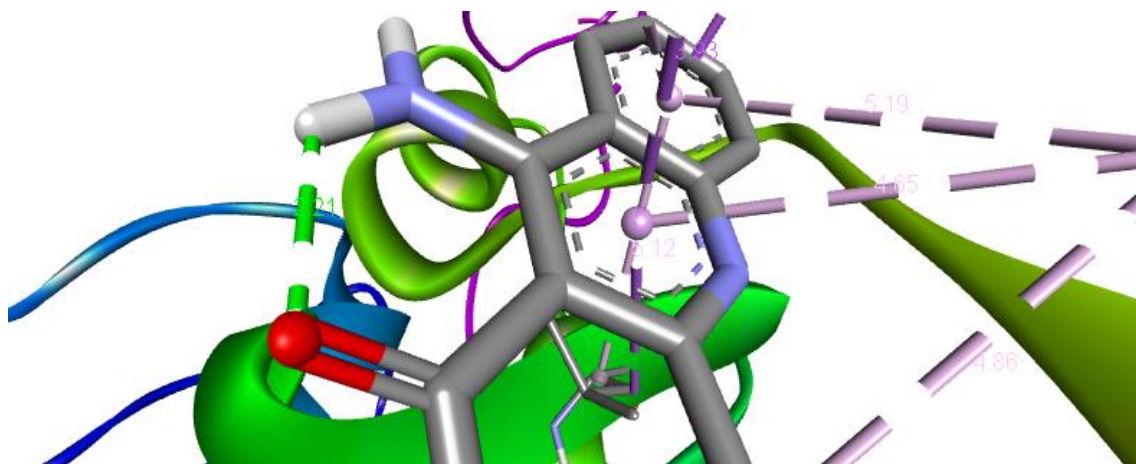


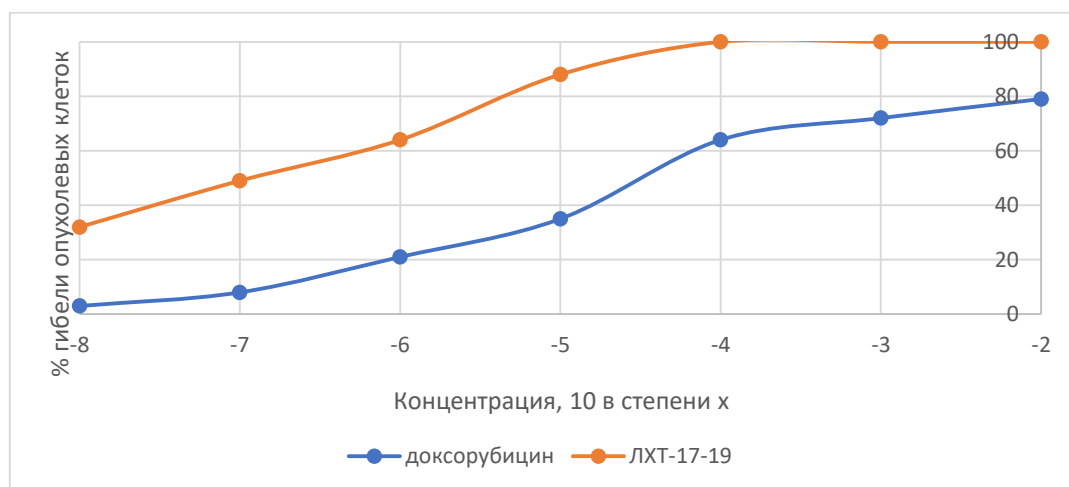
Рисунок 3 – Формирование внутримолекулярной водородной связи в молекуле ЛХТ-17-19 в результате докингового сближения с активным сайтом рецепторной киназы EGFR

Все полученные результаты позволяли рекомендовать молекулу ЛХТ 17-19 к дальнейшим углубленным исследованиям. Для проведения фармакологических исследований *in vitro* и *in vivo* разработали метод химического синтеза молекулы ЛХТ-17-19 и наработали достаточное для выполнения биологической части работы количество вещества. Состав соединения был подтвержден данными элементного анализа, который выполнен на автоматическом анализаторе Perkin Elmer PE 2400 (США). Чистота определена данными хроматографии в тонком слое сорбента Kieselgel Merck 60 F₂₅₄ (Merck, Германия), элюент бензол / ацетон (3:7). Строение подтверждено спектрами ПМР и ИК. Спектр ПМР зарегистрирован на спектрометре Bruker AC-250 (США) в ДМСО-d₆ при частоте 250 МГц относительно сдвига тетраметилсилана.

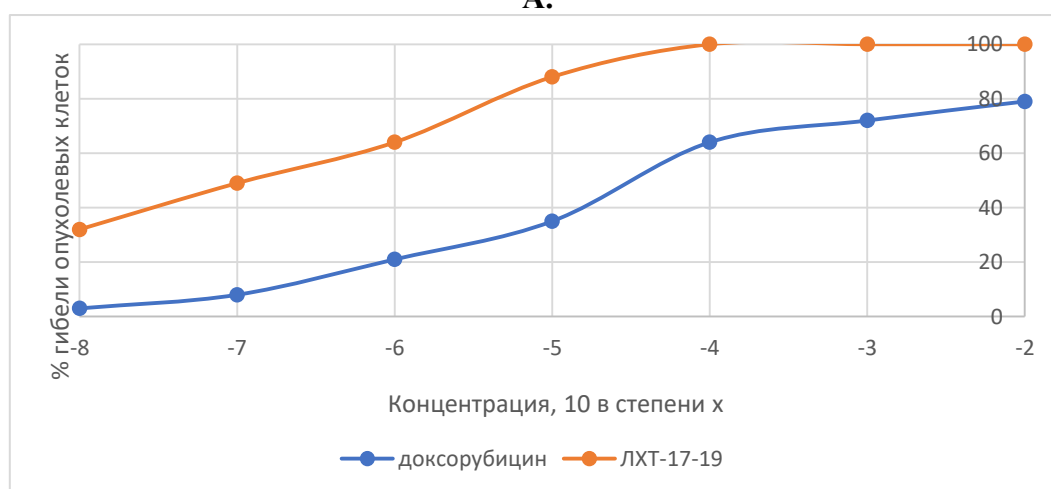
В спектре присутствуют сигналы, соответствующие структурным фрагментам молекулы. Строение соединения подтверждено также наличием в ИК-спектре полос поглощения, соответствующих функциональным группам. ИК-спектр снят на приборе Cary FTIR Spectrometer 630 (Agilent, США) в диске с KBr. Температура плавления, определенная капиллярным методом, составляет 226-227°C.

В нашей работе мы провели фармакологический эксперимент по подтверждению противоопухолевой активности 9-амино-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она (ЛХТ-17-19) в опухолевых культурах, клетки которых экспрессируют рецепторную тирозиную протеинкиназу эпидермального фактора роста (EGFR), причем в качестве модельных систем были использованы как классические клеточные культуры, так и инновационная платформа – органоидная модель рака молочной железы. В культуре клеток EGFR-экспрессирующего

рака поджелудочной железы человека рассчитали эффективную подавляющую рост опухолевых клеток концентрацию (рисунок 4).



А.



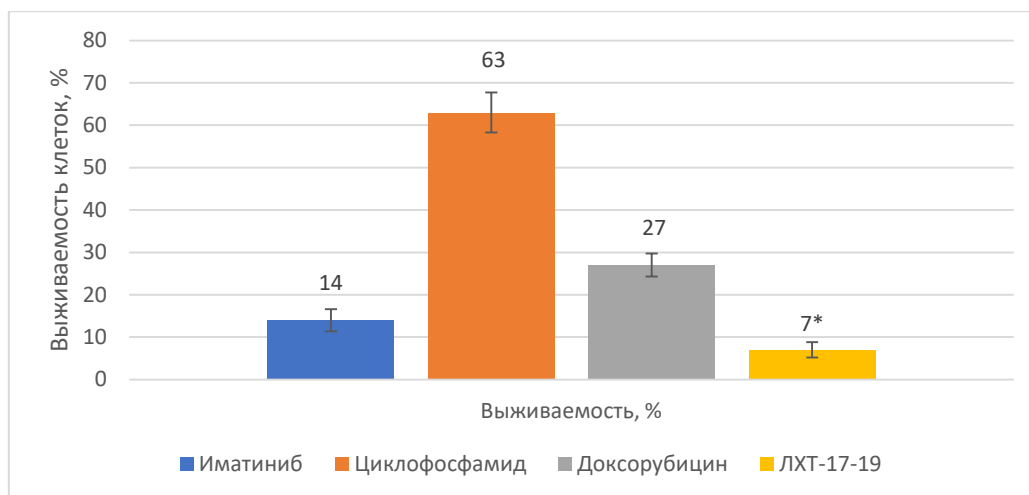
Б.

Рисунок 4 – Зависимости цитотоксического эффекта от концентрации действующего вещества для ЛХТ-17-19 и доксорубина в культуре EGFR-экспрессирующей карциномы поджелудочной железы PANC-1 (А) и рака мочевого пузыря HT-29 (Б)

Вычисленные показатели свидетельствуют о том, что суточная инкубация клеток опухоли поджелудочной железы человека в присутствии производного акридина ЛХТ-17-19 сопровождается формированием цитотоксического действия соединения. В условиях *in vitro* для достижения сопоставимого противоопухолевого эффекта требуется существенно меньшая концентрация исследуемого производного акридина по сравнению с доксорубином.

Результаты проведенного исследования на инновационной трехмерной органоидной модели EGFR-экспрессирующего рака молочной железы человека показали, что выживаемость клеток опухолевых органоидов по данным теста МТТ в присутствии $6,7 \times 10^{-6}$ доксорубина составила в среднем 27%, в присутствии $2,7 \times 10^{-6}$ таргетного ингибитора

киназ иматиниба – 17% и в присутствии $1,3 \times 10^{-5}$ циклофосфамида – 63%. В то время как изученный показатель для $6,5 \times 10^{-7}$ соединения акридина ЛХТ-17-19 был равен в среднем 7% и был статистически значимо ниже, чем для всех препаратов сравнения (рисунок 5).



Примечание: * различия статистически значимы при сравнении с иматинибом, доксорубицином, циклофосфамидом и группой контроля, $p < 0,05$ (ANOVA, критерий Ньюмена-Кейлса)

Рисунок 5 – Характеристика цитотоксического эффекта $1,3 \times 10^{-5}$ циклофосфамида, $6,7 \times 10^{-6}$ доксорубицина и $2,7 \times 10^{-6}$ иматиниба а также $6,5 \times 10^{-7}$ ЛХТ-17-19 в органоидной клеточной культуре EGFR-экспрессирующей трижды негативной карциномы молочной железы; выживаемость клеток регистрировали в трех образцах для каждого исследуемого соединения.

На следующем этапе изучили противоопухолевое действие соединения ЛХТ-17-19 с использованием биологической *in vivo* платформы ксенографтной аденокарциномы легкого. В контрольной серии опытов опухолевый процесс характеризовался удвоением размеров первичного опухолевого узла в течение $7,2 \pm 0,6$ суток, с высокой метастатической активностью. Медиана продолжительности жизни животных в группе составила 25 суток (таблица 1).

Исследуемое соединение достоверно увеличивало время удвоения размера опухолевого узла до $21,5 \pm 2,1$, что превышало как контрольные значения, так и величину показателя циклофосфамида. По влиянию на продолжительность жизни животных – носителей опухоли – вещество ЛХТ-17-19 более, чем вдвое увеличивало выживаемость животных, превосходя по этому критерию соединение сравнения. Антиметастатическое действие исследуемого вещества и циклофосфамида были сопоставимы.

Таблица 1 – Противоопухолевая активность ЛХТ-17-19 на ксенографтной модели аденокарциномы легкого у BALB/c nu/nu мышей ($M \pm SD$)

Группа, доза, мг/кг/сут	n	Время удвоения размеров опухоли, сут	Число поверхностных метастазов	Выживаемость, сут
Контроль	10	7,2 $\pm$ 0,6	84,8 $\pm$ 5,6	25,2
Циклофосфамид, 10	10	15,7 $\pm$ 1,5*	24,7 $\pm$ 3,8*	41,5 ^B
ЛХТ-17-19, 3,7	10	21,5 $\pm$ 2,1 ^a	20,4 $\pm$ 2,3*	56,4 ^c

Примечания: * различия при сравнении с контролем достоверны при $p < 0,05$; ^a различия при сравнении с контролем и циклофосфаном достоверны при $p < 0,05$ (ANOVA, критерий Тьюки; ^B различия при сравнении с контролем достоверны при $p < 0,05$; ^c различия при сравнении с контролем и циклофосфаном достоверны при $p < 0,05$ (log-rank тест).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоги выполненного диссертационного исследования

Проведено комплексное фармакологическое исследование противоопухолевого потенциала трех молекул – представителей класса производных пиридинкарбоновых кислот. Установлен широкий прогнозный спектр биологических мишеней, участвующих в злокачественной трансформации и опухолевой прогрессии. Установлено, что наибольшие перспективы в качестве кандидата в лекарственное средство демонстрирует структура с шифром ЛХТ-17-19. Разработан метод органического синтеза субстанции вещества. В результате ее исследования в культурах клеток и в опытах на животных показано, что по совокупности полученных эффектов производное пиридина ЛХТ-17-19 может рассматриваться как перспективное соединение – кандидат в противоопухолевое лекарственное средство со свойствами ингибитора киназы EGFR.

Практические рекомендации

1. Химические структуры 3-пиридинкарбамид 2-амино-5 метилпиридин (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-13-19), 2-аминия-7-(диэтиламино)-4-(4-метоксибензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-4Н-хромен-3-карбонитрил 4-нитро-бензамидо-2-амино-этансульфоновой кислоты (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-16-19) и 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2Н)-она 2-гидроксипутандиоата (лабораторный шифр разработчика ЛХТ-17-19) могут быть использованы в качестве потенциальных молекул для поиска потенциальных противоопухолевых лекарственных средств.

2. При создании промышленной технологии получения субстанции кандидата в лекарственное средство соединения ЛХТ-17-19 может быть применен способ, описанный в настоящей работе и защищенный патентом на изобретение Российской Федерации.

3. Разработанная и валидированная ксенографтная модель EGFR-позитивной аденокарциномы легкого человека у иммунодефицитных гуманизированных мышей может быть с успехом использована в экспериментальной фармакологии и персонализированной медицине.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Полученные при выполнении настоящего диссертационного исследования данные позволяют выстраивать перспективы продолжения исследований соединения 9-амино-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она в прикладной плоскости, в частности, как кандидата в противоопухолевое лекарственное средство. Это требует проведения углубленных доклинических исследований спектра фармакологической активности, системной тканевой кинетики и механизмов действия, разработки лекарственной формы, наиболее пригодной для последующего применения с точки зрения достижения оптимального терапевтического эффекта.

ВЫВОДЫ

1. В прогнозном спектре молекулы 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она 2-гидроксипутандиоата с лабораторным шифром учреждения разработчика ЛХТ-17-19 показана высокая вероятность (выше 0,8) ингибиторного действия в отношении киназы рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), киназы Мус и киназы PDGFR. Установлен высокий предиктивный потенциал ЛХТ-17-19 антибластного действия в отношении колоректального рака, рака молочной железы, рака мочевого пузыря и рака толстого кишечника, а также лимфобластной лейкемии.

2. Молекула 9-аминия-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она 2-гидроксипутандиоата имеет высокое сродство к рецептору киназы эпидермального фактора роста EGFR-K, к рецепторной системе CSF1 и фолатному рецептору человека FOLR2, обусловленное формированием дополнительной водородной связи между протоном водорода аминогруппы и атомом кислорода карбонильной группы с атомными расстояниями 2,21 Å и 2,49 Å соответственно при сближении молекулы ЛХТ-17-19 и последующей ее стыковки с активным сайтом тирозинкиназы EGFR-K и рецептора фолатов человека FOLR2.

3. Субстанция 9-амино-3,3-диметил-3,4-дигидроакридин-1(2H)-она, пригодная для проведения фармакологических исследований может быть получена путем взаимодействия

на первом этапе нитрила антраниловой кислоты и димедона в среде толуола и соляной кислоты, с получением енамина, с его последующей циклизацией с добавлением хлорида меди и поташа в среде толуола.

4. При инкубировании культур клеток рака поджелудочной железы (PANC-1) и мочевого пузыря (HT-29), органоидов рака молочной железы, экспрессирующих EGFR, установлена способность соединения ЛХТ-17-19 вызывать гибель и подавлять рост опухолевых клеток как плоской, так и трехмерной культуры в широком диапазоне концентраций.

5. Соединение ЛХТ-17-19 при внутрибрюшинном введении в дозе 3,7 мг/кг/сут гуманизированным мышам – носителям ксенографтной EGFR-позитивной аденокарциномы легкого человека обладает противоопухолевым и антиметастатическим действием, сопровождающимся существенным повышением выживаемости животных.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кудрявцев, М.Ю. К вопросу о противоопухолевой активности нового соединения – производного пиридина / М.Ю. Кудрявцев, Е.А. Самышина, О.Н. Дерябина, К.К. Арутюнян, А.А. Епишкина // **Вестник Биомедицина и социология.** – 2021. – Т. 6. – №4. – С. 52-59.

2. Кудрявцев, М.Ю., Молекулярный докинг потенциальных мишеней перспективного отечественного противоопухолевого соединения ЛХТ-13-19 / Е.А. Самышина, О.Н. Дерябина, М.Ю. Кудрявцев, О.М. Тумутолова, Е.В. Блинова // **Вестник Биомедицина и социология.** – 2021. – Т. 6. – №4. – С. 91-98.

3. Кудрявцев, М.Ю. Новое соединение пиридина обладает противоопухолевым эффектом in vivo / Д.Н. Шимановский М.Ю. Кудрявцев, О.Н. Дерябина, Е.А. Самышина // Мат. XXIII Международного конгресса «Здоровье и образование в XXI веке». – Natural resources of the Earth and environmental protection. – 2021. – Т. 2. – №2. – С. 58-61.

4. Кудрявцев, М.Ю. Прогнозирование противоопухолевого действия нового соединения пиридинкарбоновой кислоты / Блинова Е.В., Дерябина О.Н., Самышина Е.А., Кудрявцев М.Ю., Епишкина А.А., Скачилова С.Я., Блинов Д.С. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2022. – Т21(2S). – С. 80-81.

5. Кудрявцев, М.Ю. Получение и механизм противоопухолевого действия соединения 4Н-аминохромена / Е.В. Блинова, М.Ю. Кудрявцев, Д.Н. Шимановский, С.Я. Скачилова, А.А. Епишкина, Д.С. Блинов, О.М. Тумутолова, Е.А. Симакина, Ю.А. Шифрин, О.Н. Дерябина,

Е.В. Шилова, А.А. Махрова, К.К. Арутюнян // **Химико-фармацевтический журнал.** – 2022. – Т. 56. – №1. – С. 15-18

6. Кудрявцев, М.Ю. Внеэкспериментальный поиск молекул с противоопухолевой активностью и молекулярный докинг в ряду производных пиридинкарбоновых кислот / Дерябина О.Н., Кудрявцев М.Ю., Тумутолова О.М., Блинова Е.В., Епишкина А.А., Скачилова С.Я., Махрова А.А., Блинов Д.С. // **Вестник Биомедицина и социология.** – 2022. – Т. 7. № 3. – С. 37-42.

7. Кудрявцев, М.Ю. Изучение фармакологической активности лхт-17-19 в культурах клеток эпителиальных опухолей, экспрессирующих EGFR / Кудрявцев М.Ю., Тумутолова О.Н., Дерябина О.Н., Епишкина А.А., Вавилова О.С., Гилевская Ю.С., Блинова Е.В. // **Вестник «Биомедицина и Социология».** – 2022 Т.7№3. – С.70-74.

8. Blinova, Ekaterina V. Antitumor activity of the novel pyridine derivative /Ekaterina V. Blinova, Anna V. Epishkina, Oksana M. Tumutolova, Olga N. Deryabina, Sofia Ya. Skachilova, Mihail Yu. Kudriavtsev , Evgenia V. Shikh , Olga S. Vavilova , Yulia S. Gilevskaya , Gordey V. Brykin , Anna A. Makhrova, Dmitry S. Blinov // **Research Results in Pharmacology.** – 2022. – Vol. 8(3). – P. 81-85.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ИГХ – иммуногистохимия

ИК – инфракрасный

ЛД – летальная доза

МР – магнитно-резонансный

ALK – киназа анапластической лимфомы

CSF1 – киназа моноцит-стимулирующего фактора 1

dCK – киназы дезоксицитидин

DHFR – дигидрофолатредуктаза

EGFR-K – К-рецептор эпидермального фактора роста

FMS –мембранный протеин, представляющий собой рецепторную тирозиную протеинкиназу типа III

FOLR2 – мембранный белок human folate receptor-beta 2

GARFT – глицинамидрибонуклеотидформилтрансфераза

PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances)