©Коллектив авторов, 2013
УДК 616-02.9-547

Вопросы онкологии, 2013. Том 59, №5

*Н.П. Коновалова, И.В. Выстороп, Т.Е. Сашенкова, Е.Н. Климанова, Д.В. Мищенко, У.Ю. Аллаярова, С.А. Гончарова, Т.А. Раевская, Т.Н. Якущенко, А. В. Черняк*

# ЦИКЛИЧЕСКИЕ ГИДРОКСАМОВЫЕ КИСЛОТЫ КАК ХЕМОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Институт проблем химической физики РАН, г. Черноголовка, Московская обл.

**В работе на экспериментальных животных-опухоленосителях исследована противоопухолевая активность спироциклических гидроксамовых кислот, которые могут быть отнесены к классу таргетных препаратов, так как их мишенью является фермент гистондеацетилаза, участвующая в неопластическом процессе. Результаты работы показали, что гидроксамовые кислоты являются хемосенсибилизаторами противоопухолевых препаратов, повышая их эффективность и позволяя значительно снизить терапевтическую дозу. Кроме того показано, что гидроксамовая кислота, содержащая фрагмент азотистого иприта, эффективна при действии на опухоли с фенотипом и генотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ).**

**Ключевые слова: экспериментальные опухоли, МЛУ-опухоли, гидроксамовые кислоты, хемосенсибилизирущий эффект, таргетные препараты.**

В современной химиотерапии опухолей используется значительное количество лекарственных препаратов, различающихся по химической структуре и механизмам действия. Однако, серьезные токсические эффекты, а также развивающаяся в процессе лечения резистентность многих видов злокачественных опухолей к используемым в настоящее время химиотерапевтическим препаратам, ведет к необходимости поиска новых препаратов. В частности, сейчас развивается направление по созданию таргетных препаратов (соединений, направленных на определенную мишень, связанную с неопластическим процессом). Мишенями таких препаратов могут быть индукторы клеточной пролиферации или ферменты, участвующие в репликации ДНК, транскрипции, гибели клеток и пр. [3, 4]

В настоящей работе исследована противоопухолевая активность циклических гидроксамовых кислот, являющихся потенциальными ингибиторами фермента гистондеацетилазы, который усиливает пролиферацию опухолевых клеток, ингибирует их апоптоз, содействует процессу метастазирования [6-10, 12].

## Модели и методы

В работе были использованы экспериментальные опухоли – лейкемия L-1210, лейкемия P388, карцинома 755 (Са-755), а также штамм лейкемии P388, устойчивый к рубомицину (P388/руб), обладающий генотипом и фенотипом множественной лекарственной устойчивости. МЛУ-штамм был получен in vivo и охарактеризован в нашей лаборатории [1, 2].

Лейкемии P388, P388/руб и L-1210 прививали внутрибрюшинно, в первых двух случаях инокулум составлял $10^6$, в третьем – $10^5$ опухолевых клеток на мышь. Карциному 755 трансплантировали подкожно, инокулум составлял $10^6$ клеток. При оценке антилейкемического эффекта учитывали число излеченных животных (проживших 60 суток) и увеличение средней продолжительности жизни леченых животных по сравнению с контрольными (показатель УПЖ).

$$\text{УПЖ\%} = \frac{O - K}{K} \cdot 100$$

где О и К – средняя продолжительность жизни животных в опытной и контрольной группах.

Все экспериментальные модели содержались и трансплантировались в соответствии с правилами [5].

Структуры гидроксамовых кислот, исследованных в работе

AHA-15 CHA-7 CHA-5

Кислота AHA-15 получена по описанной методике [11].

Кислоты CHA-7 и CHA-5 получены аналогичным способом.

## Результаты и обсуждения

Задачей настоящего исследования является определение возможности применения циклических гидроксамовых кислот в качестве адьювантов в комбинации с различными противоопухолевыми препаратами. Предварительно была определена острая токсичность изучаемых соединений. Исследование показало, что использованные в работе соединения являются малотоксичными. В проводимых экспериментах цитостатики и гидроксамовые кислоты вводили в низких неэффективных дозах.

Результаты раздельного и комбинированного введения циклофосфана и гидроксамовой кислоты АНА-15 мышам с лейкемией L-1210 представлены на рис.1.

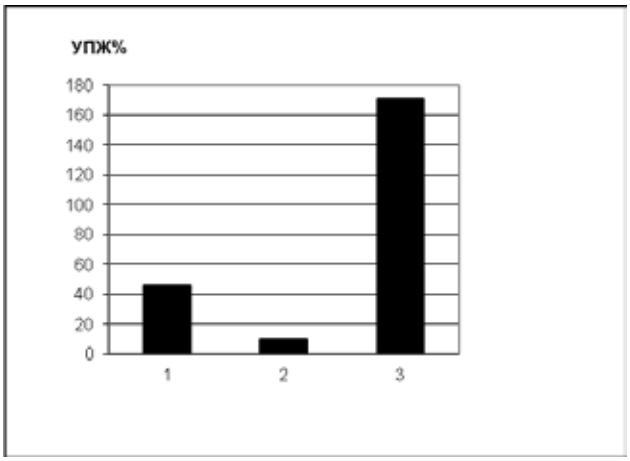


Рис. 1. Хемосенсибилизирующий эффект гидроксамовой кислоты АНА-15 на лейкемии L-1210:
1. Циклофосфан (доза – 20 мг/кг, режим введения – 1, 6 сутки).
2. АНА-15 (доза – 400 мг/кг, режим введения – 1 – 7 сутки).
3. Циклофосфан и АНА-15 (в тех же дозах и режимах).

При монотерапии циклофосфаном или гидроксамовой кислотой эффект отсутствует; при комбинированном их применении увеличение средней продолжительности жизни лейкемических животных составляло 170%.

Аналогичные эксперименты были проведены также на лейкемии Р388, в которых исследовался хемосенсибилизирущий эффект гидроксамовой кислоты СНА-7 на активность циклофосфана и цисплатина.

**Хемосенсибилизирущий эффект гидроксамовой кислоты СНА-7 на активность циклофосфана и цисплатина (лейкемия Р388)**

| Препарат | Разовая доза, мг/кг | Режим введения, сутки | Количество животных в опыте | Выжившие животные, % | УПЖ, % |
|---|---|---|---|---|---|
| Циклофосфан | 20,0 | 1, 6 | 8 | 0 | 137 |
| Цисплатин | 0,6 | 1 — 7 | 8 | 0 | 108 |
| СНА-7 | 233,0 | 1 — 7 | 8 | 0 | 0 |
| Циклофосфан + СНА-7 | 20,0 + 233,0 | 1, 6<br>1 — 7 | 8 | 37,5 | 281 |
| Цисплатин + СНА-7 | 0,6 + 233,0 | 1 — 7<br>1 — 7 | 8 | 37,5 | 188 |
| Контроль | -- | -- | 8 | -- | -- |

Из представленных данных видно, что монотерапия циклофосфаном и цисплатином в низких дозах не приводит к терапевтическому эффекту. При добавлении к этим цитостатикам гидроксамовой кислоты СНА-7 появляются выжившие животные и увеличивается продолжительность жизни остальных. Таким образом, и на штамме лейкемии Р388 гидроксамовая кислота проявляла хемосенсибилизирующий эффект.

Рацемическая гидроксамовая кислота имидазолидинового ряда СНА-5 повышает ингибирование роста карциномы молочной железы (Са-755) циклофосфаном (рис.2).

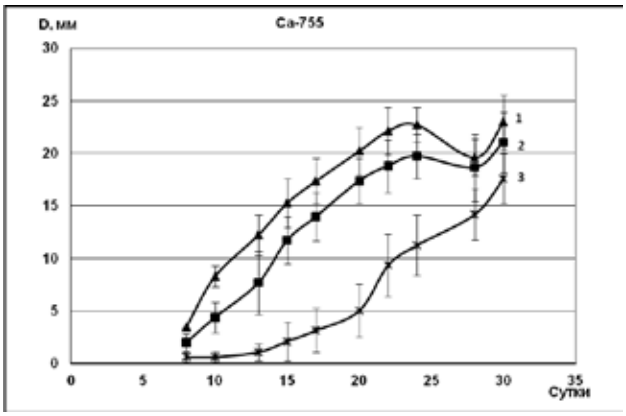


Рис.2. Кинетические кривые роста аденокарциномы 755 в контроле и при терапевтическом воздействии.
По оси абсцисс – сутки после перевивки опухоли;
по оси ординат – средний диаметр опухоли.
1 – Контроль.
2 – Циклофосфан (доза –20 мг/кг, режим введения – 2, 7 сутки).
3 – Циклофосфан (доза – 20 мг/кг, режим введения – 2, 7 сутки) и СНА-5 (доза – 117 мг/кг, режим введения – 2, 4, 6, 8, 10 сутки).

Комбинированное применение гидроксамовой кислоты и циклофосфана существенно увеличивает эффективность действия последнего также и на солидной опухоли.

Особый интерес представляют данные, полученные с использованием лейкемии Р388 с фенотипом и генотипом множественной лекарственной устойчивости. Сравнительные данные противоопухолевого эффекта метотрексата, цисплатина и гидроксамовой кислоты СНА-5 на МЛУ-штамме лейкемии Р388 представлены на рис.3.

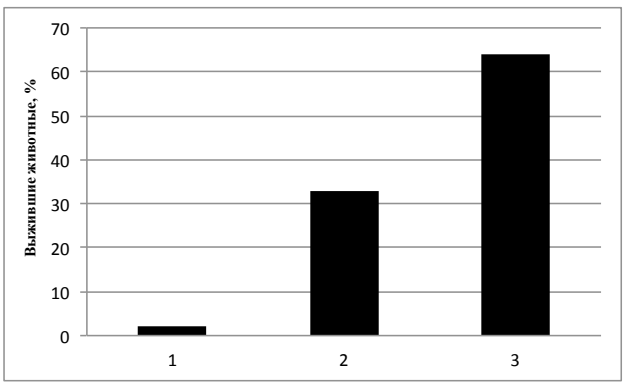


Рис.3. Эффективность циклофосфана, метотрексата и циклической гидроксамовой кислоты СНА-5 на МЛУ-штамме лейкемии Р388.
1. Метотрексат (доза – 2 мг/кг; режим введения – 1 – 6 сутки).
2. Цисплатин (доза – 6 мг/кг; режим введения – 1, 5, 9 сутки).
3. СНА-5 (доза – 117 мг/кг; режим введения – 1, 3, 5, 7, 9 сутки).

Как видно из рисунка, лекарственно-резистентная опухоль высоко чувствительна к монотерапии гидроксамовой кислотой СНА-5: число выживших животных составляет более 60%. Это

исключительно важные данные, поскольку именно лекарственная устойчивость, и, особенно, самый плохой (для последующего лечения) ее вариант – множественная лекарственная устойчивость — очень часто сводит на нет достижения химиотерапии опухолей и является одной из основных причин ее низкой эффективности. В арсенале противоопухолевой химиотерапии нет ни одного препарата, к которому не развивалась бы резистентность. Выявление соединений, эффективных на МЛУ-опухолях вселяет надежду, что с их помощью удастся преодолеть развивающуюся в процессе химиотерапии их нечувствительнось к применяемому лечению.

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют об активности гидроксамовых кислот в качестве хемосенсибилизаторов противоопухолевых цитостатиков и их эффективности на лекарственно-резистентных опухолях. Важным обстоятельством является то, что при комбинации гидроксамовой кислоты с цитостатиками, терапевтические дозы последних могут быть значительно снижены, при этом противоопухолевая активность остается на прежнем уровне, а токсичность значительно снижается.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 13-03-01142) и программы ОХНМ (Медицинская химия)*

ЛИТЕРАТУРА

1. Гончарова С.А., Демидова Н.С., Ширяева О.А. и др. Характеристика антрациклинустойчивых штаммов лейкоза Р388 // Экспер. онкол. 1987. – Т. 9. – № 4. – С. 42 – 47.
2. Демидова Н.С., Гончарова С.А., Чернова О.Б. и др. Амплификация генов в лейкозных клетках мыши с приобретенной in vivo множественной лекарственной устойчивостью // Генетика, 1987. – Т. 23. – № 10. – С. 1797 – 1806.
3. Имянитов Е.Н. Общие представления о таргетной терапии // Практ. онкол. 2010. –Т. 11. – № 3. – С. 123 – 130.
4. Переводчикова Н.И., ФеденкоА.А. Особенности методики клинических испытаний таргетных препаратов // Росс. биотерапевт. Журн. — 2009. – Т. 8. – № 2. – С. 77 – 78.
5. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ //
6. http://www.oncology.ru/specialist/treatment/preclinical/precl/metod.pdf.
7. Luong Q. T., 'Kelly J. O., Braunstein G. D. et al. Antitumor activity of suberoylanilide hydroxamic acid against thyroid cancer cell lines in vitro and in vivo // Clin Cancer Res.- 2006. – Vol. 12. – P. 5570 – 5577.
8. E. Pontiki, D. Hadjipavlou-Litina, Histone deacetylase inhibitors (HDACIs). Structure-activity relationships: history and new QSAR perspectives // Med. Res. Rev., 2012. – Vol. 32. – P. 1-165.
9. Roberts H. L. Antitumor effect of the histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) in combination with the microtubule-stabilizing agent paclitaxel on breast cancer cells // MURJ. — 2006. – Vol. 13. – P. 37 – 43.
10. Steele N. L., Plumb J. A., Vidal L. et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of an oral formulation of the histone deacetylase inhibitor Belinostat (PXD101) // Cancer Chemother Pharmacol. — 2011. – Vol. 67. – P. 1273 – 1279.
11. Ververis K., Hiong A., Karagiannis T.C., Licciardi P.V. Histone deacetylase inhibitors (HDACIs): multitargeted anticancer agents // Biologics: Targets and Terapy, 2013. – Vol. 7. – P. 47 – 60.
12. Vystorop I. V., Konovalova N. P., Sashenkova T. E. et al. 1-Hydroxy-8-methyl-1,4,8-triazaspiro[4.5]decan-2-one and its (±)-3-methyl homologue: regioselective synthesis and in vivo evaluation as adjuvants in leukemia chemotherapy // Mendeleev Commun., 2011. – Vol. 21. – P. 239 – 241.
13. Zhang Y., Feng J., Jia Y. et al., Development of tetrahydroisoquinoline-based hydroxamic acid derivatives: potent histone deacetylase inhibitors with marked in vitro and in vivo antitumor activities // J Med. Chem. 2011. – Vol.5 4. – P. 2823 – 2838.

*N.P.Konovalova, I.V.Vystorop, T.E.Sashenkova, E.N.Klimanova, D.V.Mishchenko, U.Yu. Allayarova, S.A.Goncharova, T.A.Raevskaya, T.N.Yakushchenko, A.V.Chernyak*

## Cyclic hydroxamic acids as chemosensibilizators of cytostatic therapy

Institute of Problems of Chemical Physics of the Russian Academy of Sciences
Chernogolovka, Moscow Region

In experimental animals with tumors it was studied antitumor activity of spirocyclic hydroxamic acids which could be classified as targeted agents as their target was enzyme histonedeacetylase, which was involved in the neoplastic process. The results showed that the hydroxamic acids were chemosensibilizators of anticancer agents increasing their efficacy and enabling significantly reduce the therapeutic dose. Also it was showed that hydroxamic acid, containing nitrogen mustard, was effective in the action on tumors with phenotype and genotype of multidrug resistance.

Поступила в редакцию 22.07. 2013