

В. В. Рогозін¹, С. П. Завертіленко², О. О. Хавич¹, Н. І. Шарикіна¹

Противухлинна активність похідного хіназоліну – 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетаміду на гетеротрансплантатах недрібноклітинного раку легенів людини

¹Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

²Київський міський онкологічний центр

Ключові слова: гетеротрансплантати недрібноклітинного раку легенів людини, підкапсульний тест, похідне хіназоліну – 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетамід

Як відомо, традиційна хіміотерапія злоякісних новоутворень недостатньо диференціює впливи на нормальні та злоякісні клітини, що зумовлює її значні токсичні ефекти щодо організму, його органів і систем, особливо з високим рівнем проліферативної активності.

Сучасний прогрес у розумінні клітинних, молекулярних і генетичних аспектів пухлинного росту дозволив знайти та клінічно оцінити більш специфічні підходи до можливих впливів на злоякісний ріст [1]. Ці підходи основані на особливостях злоякісних пухлин – дерегуляції проліферативних процесів, гіперекспресії факторів росту та їхніх рецепторів, мутаціях певних генів, що дозволяє визначити можливі мішені для спрямованої терапії [1–3]. Для більшості злоякісних пухлин епітеліального походження характерна активація факторів росту та їхніх рецепторів. Враховуючи цей феномен, саме рецептор епідермального фактора росту, його каскад передачі мітогенних сигналів стали первинною мішенню противухлинної терапії [4–8]. Одним з перших таргетних препаратів стало похідне хіназоліну Ерлотиніб – інгібітор експресії рецептора епідермального фактора росту (EGFR), його тирозинкіназ [2]. Застосування Ерлотинібу в клінічній практиці дозволило подвоїти виживання пацієн-

тів з недрібноклітинним раком легенів за особливого генетичного варіанту цієї форми злоякісного росту [9].

У ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» здатність похідного хіназоліну Празозину гальмувати пухлинний ріст була відмічена в 1990-і роки [10]. У цей час в Інституті створено значну кількість похідних хіназоліну, необхідних для пошуку вітчизняного препарату з активністю за недрібноклітинного раку легенів людини, що не поступається за противухлинною ефективністю Ерлотинібу [6]. У процесі досліджень відмічено сполуку 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетамід [11], яка має противухлинну дію [9]. Цей ефект сполуки вищий ніж в Ерлотинібу на лінії недрібноклітинного раку легенів людини (A-549, Lg IC₅₀ складає: –5,1 у разі аналогічного показника Ерлотинібу: –4,4 [12].

Мета дослідження – визначити противухлинну активність похідного хіназоліну на ксенографтах недрібноклітинного раку легенів людини в підкапсульному тесті (клінічний матеріал).

Матеріали та методи. Гетеротрансплантацію клінічного пухлинного матеріалу проводили під капсулу нирок мишей лінії СВА за методом А. Е. Vogden [13]. Маса тварин – 20,0–22,0 г, самці. Кількість тварин у дослідних групах – 7, у контролі – 32. Клінічний матеріал одержували з Київського міського клінічного онкологічного центру з гістологічною верифікацією діагнозу (недрібноклітинний рак легенів людини). Після резекції пухлини поміщали в

15 мл середовища 199 для зберігання й обробки, розрізали на фрагменти масою 1 мг. Досліджуваних тварин вводили в наркоз кетаміном (5 % розчин) з розрахунку 5 мг/кг маси тіла тварини, внутрішньоочередово [15]. На лівому боці миші видаляли шерсть, дезинфікували шкіру та проводили розріз від задньої кінцівки до передньої, шматочки пухлин трансплантували під капсулу нирки, рану заклеювали клеєм БФ-6. Через 3 доби перевіряли наявність пухлин, після чого починали введення сполуки *per os* (29,3 мг/кг), що еквімолярна відповідній дозі Ерлотинібу, протягом трьох днів. Сполуку розчиняли в крохмальному клейстері з попереднім додаванням DMSO, об'єм введення – 0,5 мл.

Ефективність похідного хіназоліну оцінювали через 7 днів після гетеротрансплантації пухлинних фрагментів. Регресію пухлин розраховували за співвідношенням маси пухлини в дослідній і контрольній групах. Пухлину вважали чутливою до сполуки, якщо її маса зменшувалася на 25,0 % і більше порівняно з масою пухлин у контрольних тварин.

Визначення чутливості пухлини до БАР за методом А. Е. Vogden [13] використовують для оцінки традиційних цитостатиків, які здатні впливати на пухлинні клітини, що вже діляться. Ми вперше спробували використати цей метод щодо таргетної сполуки, яка за механізмами дії порушує передачу мітогенних сигналів на геном і запобігає вступу пухлинних клітин у мітотичний

цикл [16]. Доцільність зробити таку спробу зумовила здатність активної таргетної сполуки давати виражений протипухлинний ефект на епідермоїдній карциномі легенів Льюїс (миші лінії С 57BL/6), яка використовується для оцінки протипухлинної дії традиційних цитостатиків [16]. Гальмування росту пухлини на 7 добу, коли відбувається оцінка ефекту за методом А. Е. Vogden, становить $\geq 25,00\%$. Одержані від клініцистів пухлини від 4 пацієнтів були додатково верифіковані в патогістологічному дослідженні як недрібноклітинний рак легенів людини. Одержані результати оброблено за допомогою MS Excel 2007 (Microsoft Office, США) з використанням *t*-критерію Стьюдента [14].

Результати та їх обговорення. Дані щодо впливу сполуки на ксенографти недрібноклітинного раку легенів людини наведено в таблиці.

Здатність сполуки гальмувати ріст ксенографтів недрібноклітинного раку легенів людини відмічено в трьох хворих (пухлина № 1 – 25,0 %, пухлина № 3 – 25,0 %, пухлина № 4 – 34,8 %). Ці показники відповідають критерію значущості ($\geq 25,0\%$ гальмування росту пухлини), що дозволяє прогнозувати активність сполуки за умов клініки. Щодо пухлини № 2, то показник активності був значно нижчим за критерій значущості (11,7%). Зазначені результати відмічені в разі проведення досліджень з пухлинами в день їхнього забору під час операції в хворих, у яких

Таблиця

Протипухлинна дія похідного хіназоліну на гетеротрансплантах недрібноклітинного раку легенів людини (підкапсульний тест), $M \pm m$

Група тварин	Пухлина № 1, мг		Пухлина № 2, мг			Пухлина № 3, мг		Пухлина № 4, мг		
	день операції	1 доба	день операції	1 доба	3 доба	день операції	1 доба	день операції	1 доба	3 доба
Дослідні групи, n = 7	1,85 ± 0,18	2,10 ± 0,13	2,05 ± 0,27	1,75 ± 0,18	2,32 ± 0,12	1,76 ± 0,21	1,57 ± 0,18	1,61 ± 0,09	1,77 ± 0,19	1,83 ± 0,02
Контроль, n = 32	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08
Гальмування, %	25,0*	14,9*	11,7*	29,1*	6,0*	25,0*	36,0*	34,8*	28,3*	35,2*

Примітка. *Статистично значущі відмінності з інтактним контролем ($p < 0,05$).

діагностували недрібноклітинний рак легенів, що було підтверджено також нами в патогістологічних дослідженнях. Одержані дані свідчать про доцільність продовження досліджень цієї спрямованості для одержання матеріалу від більшої кількості хворих. Проведення досліджень у день одержання клінічного матеріалу має технічні труднощі (одержання післяопераційного матеріалу, доставка в ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», проведення трансплантацій). Ми спробували використати післяопераційний матеріал через 1, 3 доби після його зберігання в поживному середовищі.

Одержані наступні результати. У першого хворого (пухлина № 1) протипухлинний ефект сполуки значно знизився (з 25,0 до 14,9 %). У третього хворого спостерігали певне підвищення рівня протипухлинної дії (25,0 до 36,0 %). У другого хворого (пухлина № 2), де спостерігався слабкий протипухлинний ефект після пересадки ксенографтів у день операції (11,7 %), протипухлинна дія виросла до критерію значущості (1 доба – 29,1 %) з подальшим нівелю-

ванням (3 доба – 6,0 %). У четвертого хворого (пухлина № 4) протипухлинні ефекти відповідно до термінів пересадки ксенографтів були близькими: у день операції – 34,8 %, 1 доба – 28,3 %, 3 доба – 35,2 %). Одержані дані свідчать про необхідність на даний момент додержуватись рекомендацій методу: пересадка ксенографтів у день операції, орієнтуватись саме на цей ефект. Висновки щодо можливості пролонгування часу з моменту операції на 1 і 3 доби можна буде зробити за одержання більшого об'єму трансплантацій і морфологічної верифікації пухлин, що знаходились у поживному середовищі 1 і 3 доби.

Висновки

Одержані дані свідчать про високу протипухлинну активність 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетаміду в трьох хворих на недрібноклітинний рак легенів (пухлини в підкапсульному тесті, ефект вище критерію значущості: $\geq 25,0$ % гальмування пухлинного росту).

1. В фокусе внимания опухоль. Антагонисты РЭФР в лечении рака // Медицина світу. – 2008. – № 8. – К.-С. 1–14.
2. Harari P. M. Epidermal growth factor receptor inhibition strategies in oncology / P. M. Harari // Endocrine-Related Cancer. – 2004. – № 11. – P. 689–705.
3. Targeted therapy for localized non-small-cell lung cancer: a review / N. Paleiron, O. Bylickt, M. Andre [et al.] // Onco Targets and Therapy. – 2016. – P. 4099–4104.
4. Cohen Ph. Protein Kinases – The Major Drug Targets of Twenty First Century / Ph. Cohen // Nature reviews. – 2012. – V. 1. – P. 309.
5. Трансдукція мітогенних сигналів як основа створення протипухлинних таргетних препаратів. Частина I / Н. І. Шарикіна, Н. О. Мешкова, О. В. Міщенко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 4–5. – С. 3–10.
6. Таргетні препарати в фармакології / Н. І. Шарикіна, І. Г. Кудрявцева, О. О. Хавич [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 1. – С. 94–97.
7. Клиническое значение рецепторов эпидермального фактора роста в злокачественных опухолях / О. Н. Костылева, Е. С. Герштейн, Р. Р. Антипова [и др.] // Вестник ТГУ. – 2014. – Т. 19. – С. 21–35.
8. Garden G. Untangling the ERB B Signalling Network / G. Garden, M. X. Slowkowski // Naure Review. Molecular Cell Biology. – 2001. – V. 25. – P. 127–137.
9. Лечение препаратом Тарцева практически удваивает выживаемость без прогрессирования при особом генетическом варианте немелкоклеточного рака легких // Онкология. – 2013. – № 2. – С. 305–306.
10. Вплив стану нейромедіаторних систем на пухлинний ріст і ефективність протипухлинних та антиметастазних засобів / Н. І. Шарикіна, В. М. Овруцький, Л. О. Громов [та ін.] // Державний комітет України з питань науки і технологій, Державний фонд фундаментальних досліджень. Конкурсні проекти науково-дослідних робіт 1994–1995 рр. Анотація. Розділ 5 (5.3/313 «Біологія»). – Київ, 1995.
11. Пат. 111432 UA, МПК (2016.01) А61К 31/517, А61Р 35/00, С07D 239/72, С07D 243/34. 2-(3-алліл-4-оксо-3,4-дигідрохіназолін-2-іл-сульфоніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетамід, що має протипухлинну дію / Шарикіна Н. І., Демченко А. М., Бобкова Л. С., Мешкова Н. О., Кельш Я. П., Міщенко О. В. ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». – № а 2015 00282; заявл. 15.01.2015; опубл. 25.04.2016, Бюл. № 8.
12. Цитостатична дія α -адреноблокаторів – похідних хіназоліну / Н. О. Мешкова, О. В. Міщенко, Н. І. Шарикіна [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 4–5. – С. 65–68.

13. Bogden A. E. The subrenal capsule assay (SRCA) and its predictive value in oncology / A. E. Bogden // *Annales Chirurgiae et Gynaecologiae. Supplementum.* – 1985. – V. 199. – P. 12–27.
14. Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков / В. Ю. Урбах. – Москва : Изд. АН СССР, 1963. – 324 с.
15. Руководство по анестезиологии; под ред. А. А. Бунятына. – Москва : Медицина, 1994. – 656 с.
16. Противоопухолевая активность α -адреноблокаторов – производных хиназолина / Н. О. Мешкова, О. В. Мищенко, Н. И. Шарыкина, С. И. Пенделюк // *Експериментальна та клінічна медицина.* – 2015. – № 3. – С. 26–29.

В. В. Рогозін, С. П. Завертіленко, О. О. Хавич, Н. І. Шарикіна
Противопухлинна активність похідного хиназоліну – 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хиназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетаміду на гетеротрансплантатах недрібноклітинного раку легенів людини

Уперше проведено дослідження таргетного (молекулярно спрямованого) похідного хиназоліну за методом А. Е. Bogden, який раніше використовували для оцінки протипухлинної дії традиційних цитостатиків.

Показано, що таргетна сполука 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хиназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетамід має протипухлинну дію в підкапсульному тесті (ксенографти недрібноклітинного раку легенів людини під капсулою нирки мишей лінії СВА). Ця активність була на рівні або вище критерію значущості ($\geq 25\%$ гальмування пухлинного росту) відносно до пухлин трьох пацієнтів. Отримані дані свідчать про перспективу використання цього підходу для прогнозування активності сполуки в хворих на недрібноклітинний рак легенів.

Ключові слова: гетеротрансплантати недрібноклітинного раку легенів людини, підкапсульний тест, похідне хиназоліну – 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хиназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетамід

В. В. Рогозін, С. П. Завертіленко, О. А. Хавич, Н. І. Шарыкіна
Противоопухолевая активность производного хиназолина – 2-(3-алил-4-оксо-3,4-дигидро-хиназолин-2-илсульфанил)-N-(2,6-дихлорофенил)-ацетамида на гетеротрансплантатах немелкоклеточного рака легких человека

Впервые проведено исследование таргетного (молекулярно направленного) производного хиназолина по методу А. Е. Bogden, который ранее использовали для оценки противоопухолевого действия традиционных цитостатиков. Показано, что 2-(3-алил-4-оксо-3,4-дигидро-хиназолин-2-илсульфанил)-N-(2,6-дихлорофенил)-ацетамид обладает противоопухолевым действием в подкапсульном тесте (ксенографты немелкоклеточного рака легких человека под капсулой почки мышей линии СВА). Эта активность была на уровне или выше критерия значимости ($\geq 25\%$ торможения опухолевого роста) по отношению к опухолям трех пациентов. Полученные данные свидетельствуют о перспективе использования этого подхода для прогнозирования активности соединения в условиях клиники (больные с немелкоклеточным раком легких).

Ключевые слова: гетеротрансплантаты немелкоклеточного рака легких человека, подкапсульный тест, производное хиназолина – 2-(3-алил-4-оксо-3,4-дигидро-хиназолин-2-илсульфанил)-N-(2,6-дихлорофенил)-ацетамид

V. V. Rogozin, S. P. Zavertilenko, O. O. Khavych, N. I. Sharykina
Antitumor activity of quinazoline derivative – 2-(3-allyl-4-oxo-3,4-dihydro-quinazolin-2-ilsulfanyl)-N-(2,6-dichlorophenyl)acetamide on heterotransplants of human non-small cell lung cancer

Previously A. E. Bogden method was used to evaluate the antitumor effects of traditional cytostatics. We first conducted research of target (molecularly directed) quinazoline derivative by this method. It has been shown that the target compound 2-(3-allyl-4-oxo-3,4-dihydro-quinazolin-2-ilsulfanyl)-N-(2,6-dichlorophenyl)-acetamide has antitumor activity in the subcapsule tests (xenografts of non-small cell lung cancer of the human under the capsule of the kidney of the mice line CBA). This activity was at the level or above the significance criterion ($\geq 25\%$ of tumor growth inhibition) as to the tumors of three patients. The data obtained indicate the prospect of using this approach for predicting the activity of the compound in patients with non-small cell lung cancer.

Key words: heterotransplants of non-small cell lung cancer of the human, subcapsule test, quinazoline derivative – 2-(3-allyl-4-oxo-3,4-dihydro-quinazolin-2-ilsulfanyl)-N-(2,6-dichlorophenyl)-acetamide

Надійшла: 30 серпня 2018 р.

Контактна особа: Рогозін В. В., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ, буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 67 910 53 91.