

Несмотря на стремительное развитие методов диагностики и лечения онкологических заболеваний, эффективная терапия всё еще является трудноразрешимой задачей. Лекарственные препараты, используемые для лечения в последние десятилетия, обладают высокой токсичностью и низкой направленностью действия. В данной работе представлено создание противоопухолевых препаратов с применением самых передовых технологий в медицинской химии с целью решить существующие проблемы.

1. Создание мультифункциональных фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии опухолевых заболеваний

Фотодинамическая терапия (ФДТ) основана на предварительном введении фотосенсибилизирующего препарата в организм пациента с последующим облучением места локализации опухолевого образования с помощью видимого света ($\lambda = 600-800$ нм), который активирует введенный фотосенсибилизатор. Затем фотосенсибилизатор запускает каскад биохимических процессов, вызывающих выраженный окислительный стресс в опухолевых тканях, что приводит к их постепенной гибели. ФДТ относится к иммуномодулирующим типам лечения, а точное облучение патогенной области определяет селективность действия и здоровьесберегающие особенности. Однако ФДТ обладает рядом недостатков, таких как неселективное накопление фотосенсибилизатора в опухолевых и здоровых клетках, что приводит к возникновению фототоксичности, и низкая водорастворимость, препятствующая приготовлению и введению их водных растворов в кровотоки. С целью преодоления обозначенных проблем нами предложена уникальная технология по созданию конъюгированных фотосенсибилизаторов (конъюгатов), в которых классический фотосенсибилизатор связан с химиопрепаратом (ингибиторами опухолевых специфических клеточных белков или антимитотическим агентом).

Фотодинамическая терапия опухолей

VS

Химиопрепарат

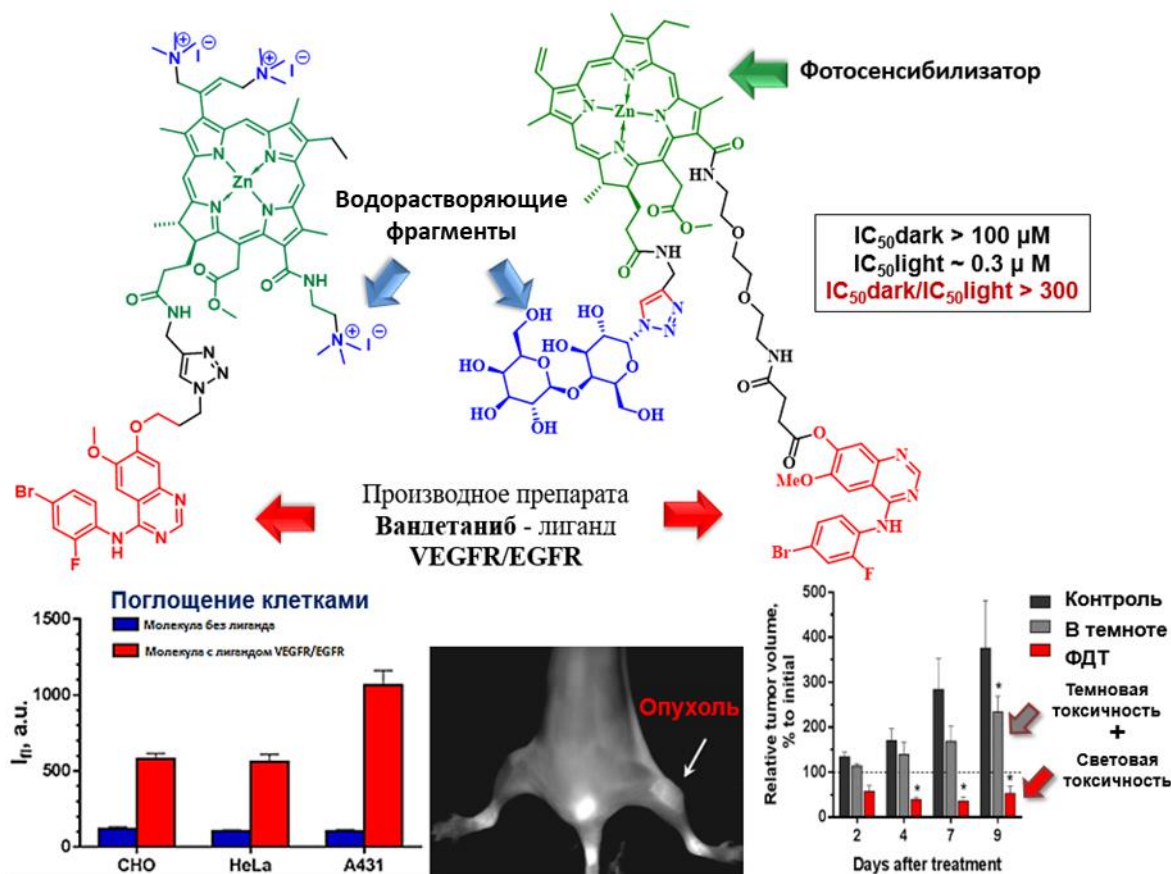
- ГФ** = Гидрофильный Фрагмент
- ФС** = Фотосенсибилизатор
- Конъюгат** = ГФ + ФС + Линкер + Химиопрепарат
- Линкер** = Связующее звено
- Гидрофильная часть** = ГФ
- Липофильная часть** = Химиопрепарат

+ Фотодинамическое действие	+ Фотодинамическое действие
- Трудности при лечении пациентов с метастазами	+ Химиотерапевтическое действие
- Низкая селективность накопления в опухоли	+ Селективное связывание с опухолевыми клетками
- Низкая водорастворимость	+ Амфифильность

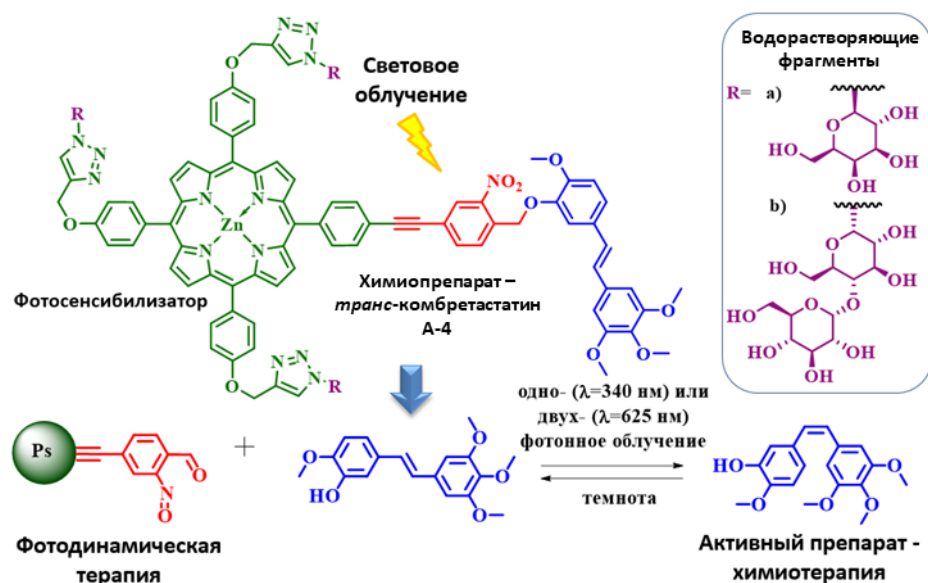
Такая комбинация позволяет проводить **синергетическую ФДТ и химиотерапию** при введении единственного препарата. Также выбранные ингибиторы являются лигандами к мембранным опухолевым белкам, что позволяет реализовывать **селективную доставку ФС** к опухолевым тканям. Для сшивки фотосенсибилизатора и химиопрепарата были использованы различные связующие звенья (линкеры). Среди таких связей особенно перспективными оказались «расщепляемые» (энзимами, светом) линкеры, высвобождающие активные фрагменты молекулы непосредственно в опухолевых тканях.

Нашим коллективом были созданы конъюгаты хлориновых и порфириновых фотосенсибилизаторов:

1) с препаратом Вандетаниб – ингибитором тирозинкиназ EGFR/VEGFR (применяется для лечения опухолей щитовидной железы). Благодаря варьированию типов связывающего и водорастворимого фрагментов было получено соединение-лидер, обладающее выраженным синергетическим противоопухолевым действием при облучении красным светом и способное ингибировать рост опухолей иммунодефицитных мышей. Кроме того, селективное накопление соединений в опухолевых клетках позволяет провести комплекс **предклинических испытаний**, что реализуется в настоящий момент.



2) с антимитотическим агентом *транс*-комбретастином А-4, способным фотоизомеризоваться в клинически активную форму *цис*-изомера. Ключевым фрагментом созданного конъюгата стал фоторасщепляемый *о*-нитробензильный линкер, с помощью которого достигается индуцируемое световым облучением высвобождение *транс*-комбретастина и его превращение в активный препарат.

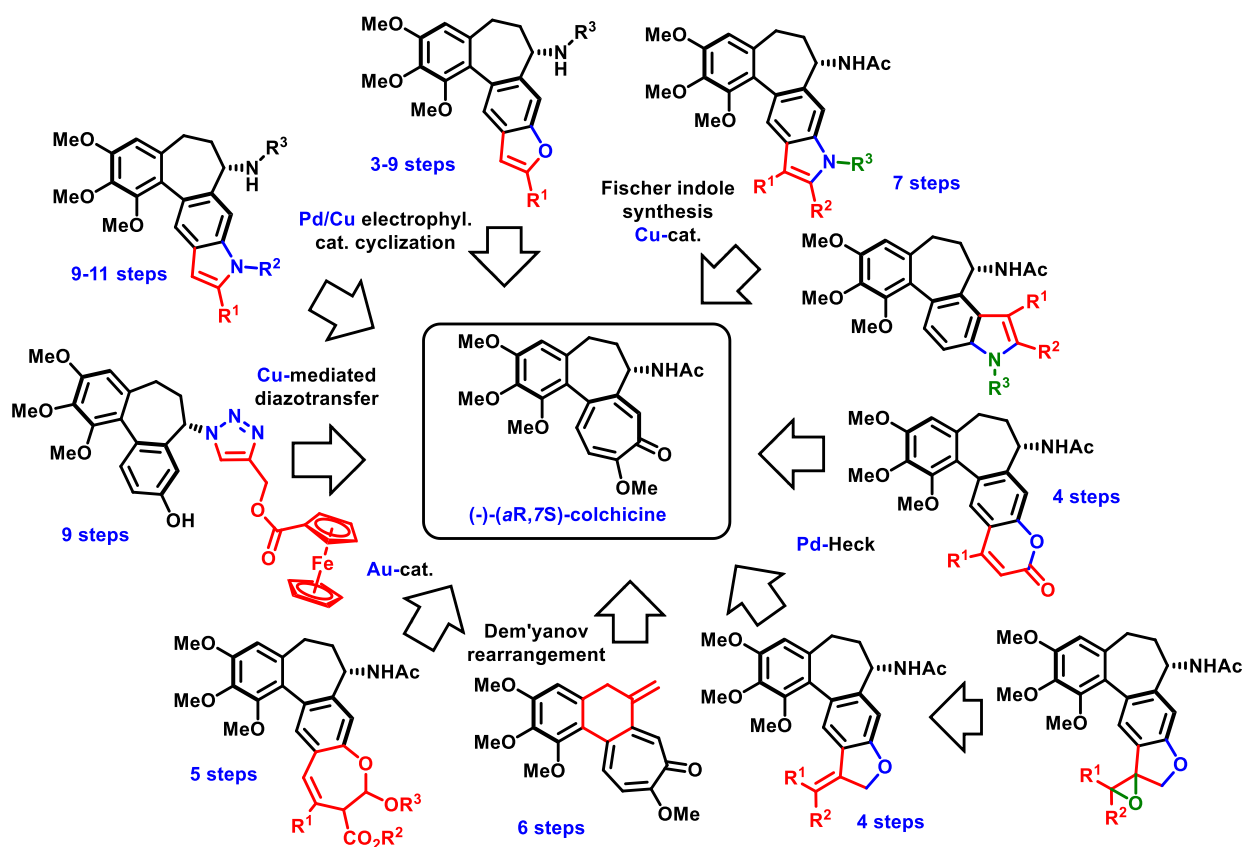


Процесс **фотовысвобождения** химиопрепарата происходит быстро (5 минут), а использование квантовохимических расчетов позволило усовершенствовать дизайн конъюгата, расширив сферу его использования двухфотонной ФДТ, которая позволяет добиться максимально **большой глубины** проникновения света, а значит расширить возможности лечения опухолевых заболеваний глубокорасположенными новообразованиями.

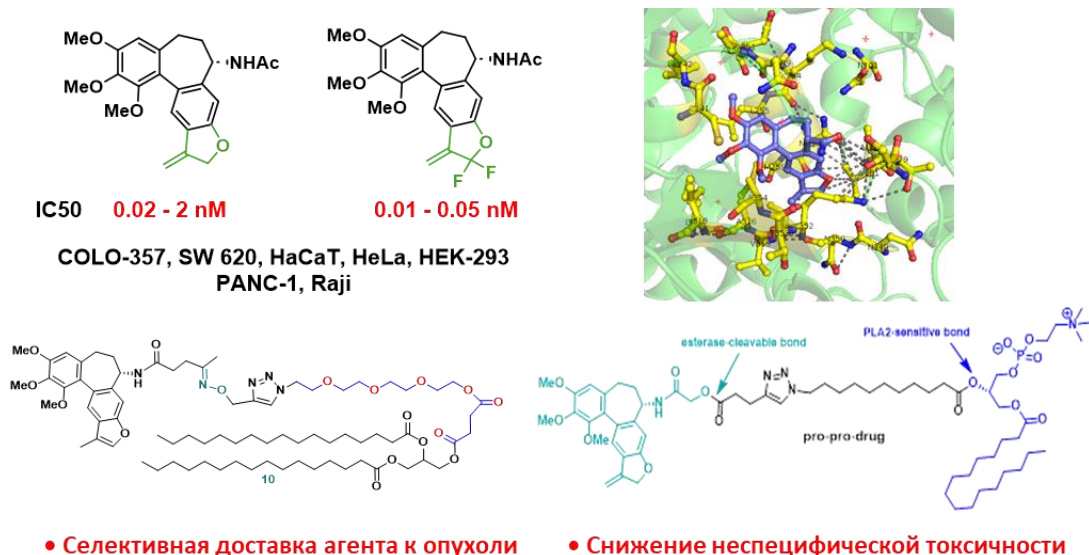
2. Разработка универсальных синтетических подходов к получению библиотек гетероциклических аллоколхициноидов и наноразмерных систем доставки наиболее активных соединений для терапии онкологических заболеваний.

Колхицин – природный алкалоид, обладающий выраженной противовоспалительной и антипролиферативной активностью. Связываясь с клеточным белком тубулином, колхицин индуцирует их деполимеризацию, что приводит к остановке клеточного цикла, блокировке митоза и развитию апоптоза. Указанный механизм действия колхицина может быть использован для использования данного соединения в качестве агента химиотерапии опухолей, однако высокая системная токсичность препятствует его использованию в клинической практике в высоких дозах. Исходя из вышесказанного, **целью данной части исследования** стала модификация структуры колхицина с целью снижения его неспецифической токсичности и сохранения высоких антимитотических свойств.

Исходя из природного колхицина были получены библиотеки различных гетероциклических производных.



В результате указанных трансформаций было **получено более 100 новых соединений**, указанные молекулы обладают широким спектром биологической активности. Антипролиферативная активность полученных молекул находится, преимущественно, в наномолярном диапазоне. После анализа биологической активности полученных соединений, а также с учетом сложности их синтеза нами было выбрано соединение-лидер, на основе которого были получены энзиматически-расщепляемые и рН-чувствительные липидные пролекарства, которые были инкапсулированы в наноразмерные липосомальные системы доставки.

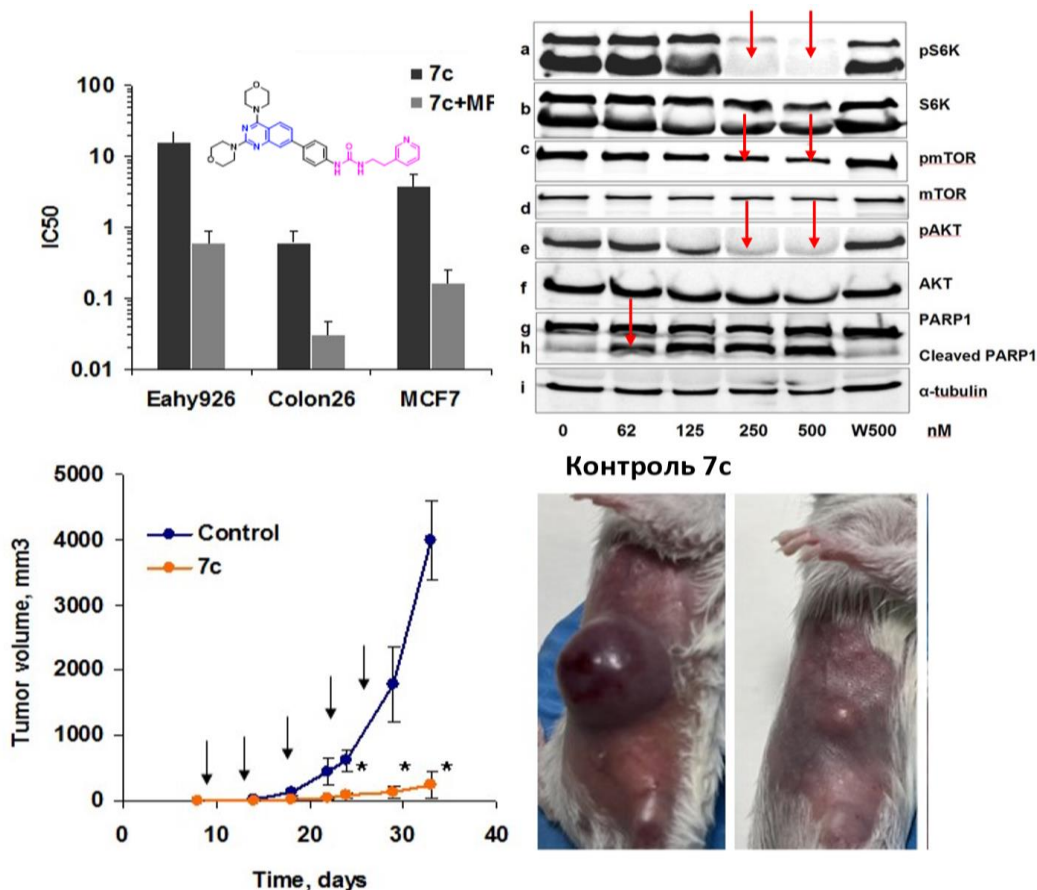


Полученные пролекарства и системы доставки обладают **повышенной стабильностью** в плазме крови человека, они **способны к контролируемому высвобождению активного препарата** в очаге опухоли под действием специфических ферментов или pH среды. Помимо снижения неспецифической токсичности достигается **увеличение биодоступности препарата**. Это открывает возможности к преодолению серьезных побочных эффектов, которые ограничивают применение агентов колхицинового ряда в терапии онкозаболеваний. Кроме того, разработанные подходы ввиду своей универсальности **могут с успехом применяться для модификации других противоопухолевых препаратов**.

3. Разработка низкомолекулярных ингибиторов сигнального каскада PI3K/Akt/mTOR как потенциальных агентов для лечения онкозаболеваний.

Биохимический каскад PI3K/Akt/mTOR является одним из основных регуляторных путей, воздействующих на рост, размножение клеток и их выживание в условиях стресса. Почти в 70% случаев при развитии онкозаболеваний наблюдается нарушение в работе данного каскада. Ингибирование белков, входящих в этот сигнальный путь, рассматривается как инновационная стратегия лечения онкозаболеваний. **Результатом данной части работы** стало создание новых низкомолекулярных блокаторов белков каскада PI3K/Akt/mTOR на основе ариламинохиназолинов. Показано, что

соединения-лидеры обладают выраженной антипролиферативной активностью, которая усиливается при одновременном использовании с метформином (**синергетический эффект в 1000 раз**), блокировка работы белков наблюдается в **наномолярном диапазоне**. Показан **достоверный противоопухолевый эффект на ксенографтных моделях *in vivo***.

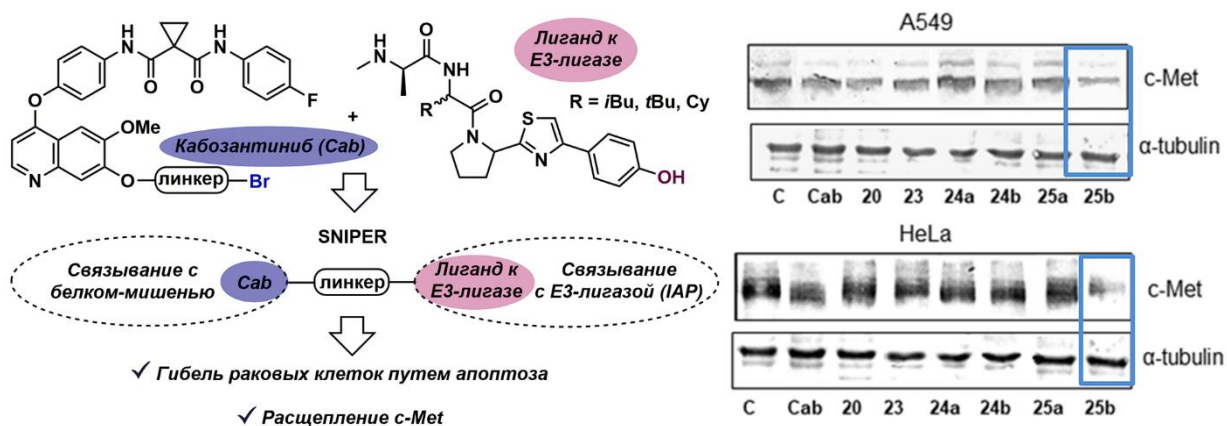


4. Разработка PROTAC-химер на основе ингибитора кабозантиниба в качестве противоопухолевых терапевтических агентов

Один из подходов в терапии онкологических заболеваний основан на использовании ингибиторов, блокирующих белки, отвечающие за развитие опухолей. Со временем снижается эффективность терапии и раковые клетки становятся устойчивы к лекарству, а сопутствующие побочные эффекты существенно снижают качество жизни пациентов. К препаратам из класса ингибиторов относится противоопухолевый препарат кабозантиниб, имеющий крайне высокую стоимость (цена препарата Кабометикс составляет более 300 тыс. руб.), который не производится на территории России.

Однако, существуют терапевтические молекулы, направленные не просто на ингибирование, а на полное разложение патогенных белков в убиквитин-протеасомальной системе, и носящие название PROTAC (PROteolysis TArgeting Chimeras). PROTAC-химеры имеют каталитический характер действия, благодаря чему эффективность препаратов достигается уже при низких концентрациях вещества, что в свою очередь снижает вероятность возникновения как побочных эффектов, так и устойчивости опухолей к терапии. В рамках данной работы были реализованы дизайн и получение PROTAC-химер на основе кабозантиниба, нацеленных на расщепление белка c-Met, в избытке вырабатываемого опухолевыми клетками и вовлеченного в процессы роста и развития опухоли.

Были созданы **три серии PROTAC-химер** на основе кабозантиниба, несколько соединений проявили **антипролиферативную активность** в отношении различных клеточных линий рака молочной железы (T47D, MDA-MB-231, SKBR3, HCC1954 и MCF7) на том же уровне, что и исходный кабозантиниб и 7-деметилкабозантиниб, частичное **расщепление белка c-Met** наблюдалось при концентрациях от 3 мкмоль/л. Следующим этапом работы стало **создание молекул SNIPERs**, действующих в качестве вспомогательного фрагмента лиганды для белков-ингибиторов апоптоза (IAP) и тем самым вызывающих апоптоз опухолевых клеток. В присутствии соединения-лидера **25b** наблюдалось **расщепление целевой киназы c-Met** при концентрации 1 мкМ, что было показано методом Western Blott.



Выводы

Была проведена комплексная работа по дизайну новых препаратов, их синтезу и всестороннему изучению противоопухолевого действия. При этом, механизмы ингибирования роста опухолей изучены не только на клеточных культурах, но и на животных моделях с привитыми опухолями. Такие эксперименты точно моделируют развитие опухолей в человеческом организме и поэтому считаются надежными подтверждением работоспособности новых препаратов. Большинство представленных разработок было успешно запатентовано, а также опубликовано в журналах первого квартиля. **Созданы нескольких современных агентов ФДТ опухолевых заболеваний.** Показано, что синтезированные конъюгаты обладают свойствами селективной доставки, синергетическим противоопухолевым действием и ингибируют рост опухолей мышей. В настоящий момент для соединения-лидера проводится комплекс предклинических испытаний. **Получены пролекарства на основе колхоциноидов:** Разработанные пролекарства и системы доставки обладают повышенной стабильностью в плазме крови человека, способны к контролируемому высвобождению активного препарата в очаге опухоли. Помимо снижения неспецифической токсичности достигается увеличение биодоступности препарата, а также снижается возможность возникновения побочных эффектов. **Созданы низкомолекулярные блокаторы белков каскада PI3K/Akt/mTOR на основе ариламинохиназолинов:** Соединения-лидеры обладают выраженной антипролиферативной активностью, которая усиливается при одновременном использовании с метформином (синергетический эффект в 1000 раз), соединения эффективны в наномолярном диапазоне концентраций. Показан достоверный противоопухолевый эффект на ксенографтных моделях *in vivo*. **Разработаны PROTAC-химеры на основе кабозантиниба.** Также была разработана серия молекул SNIPER, не только нацеленных на расщепление целевого онкогенного белка c-Met, но и способных вызывать гибель раковых клеток путем апоптоза.