

СИНТЕЗ 4-МЕТОКСИБЕНЗИЗОКСАЗОЛ-5-КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ НА ИХ ОСНОВЕ

Д. И. Павлович

dimapavlovich@gmail.com;

*Научный руководитель — Ю. А. Пивень, кандидат химических наук,
старший научный сотрудник*

На основе шестичленных циклических β -трикарбонильных соединений впервые синтезирован ряд 4-метоксибенз[*d*]изоксазол-5-карбоновых кислот, которые далее были использованы для получения амидов, представляющих интерес в качестве изоформ-селективных ингибиторов белка теплового шока 90 бета (HSP90 β). При помощи набора физико-химических методов исследований доказана структура и чистота целевых соединений. Тестирование полученных амидов на антипролиферативную активность в отношении линий клеток рака молочной железы HCC1954 и MCF7 продемонстрировало наличие умеренной активности, что свидетельствует о перспективности дальнейших исследований в данном направлении.

Ключевые слова: ингибиторы HSP90; циклические β -трикетоны; изоксазолы; антипролиферативная активность; двумерная ЯМР-спектроскопия.

ВВЕДЕНИЕ

Белок теплового шока 90 (HSP90) — это АТФ-зависимый молекулярный шаперон, который ответственен за корректный фолдинг, стабильность и функционирование «клиентских» белков. Многие из них являются онкогенными и вовлечены в прогрессирование онкологических заболеваний. Ввиду особенностей среды развития раковых клеток (гипоксия, низкий pH, плохое снабжение питательными веществами), они в большей степени зависимы от нормального функционирования HSP90, что объясняет повышенную в 2-10 раз экспрессию этого белка в раковых клетках по сравнению с нормальными. Таким образом, ингибирование жизненного цикла шаперона HSP90 индуцирует деградацию «клиентских» белков и последующее нарушение многих сигнальных путей в раковых клетках одновременно [1].

Однако, на сегодняшний день лишь один разработанный ингибитор HSP90 получил одобрение для применения в Японии. Среди проблем, которые препятствуют введению ингибиторов HSP90 в широкую клиническую практику, часто указывают различные виды токсичности и активацию ответа на тепловой шок. Для преодоления этих недостатков было предложено несколько путей решения, наиболее перспективный из которых является разработка изоформ-селективных ингибиторов HSP90. Известно четыре изоформы белка теплового шока, каждая из которых

имеет свои особые «клиентские» белки, локализацию в клетке и незначительные отличия от остальных в аминокислотном составе [2]. В данной работе нами была выбрана β -изоформа HSP90 в качестве целевой для разработки и синтеза потенциальных ингибиторов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

За основу была взята структура уже описанного в литературе ингибитора HSP90 β (рис. 1) [3]. Путём анализа комплекса белок-лиганд было сделано предположение, что введение дополнительного заместителя в положение 3 (см. рис. 1) может привести к увеличению сродства к HSP90 β за счет наличия дополнительных гидрофобных взаимодействий с аминокислотами белка.

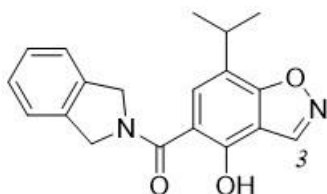


Рис. 1. Описанный ранее HSP90 β -селективный ингибитор

При помощи методов компьютерного моделирования и анализа литературы был выбран ряд соединений для синтеза (**1а-д**). Исходное β -дикарбонильное соединение **2** подвергалось *O*-ацилированию хлорангидридами соответствующих карбоновых кислот с образованием смеси енолацилатов **3а-д** и **4а-д**. Последующая *O*-*C* изомеризация приводила к образованию β -трикарбонильных соединений **5а-д**. β -Трикетоны **5а-д** подвергали гетероциклизации с гидроксиламином, получая смесь региоизомерных изоксазолов. Преобладающий в смеси изоксазол (**6а-д**) выделяли многократной перекристаллизацией продукта из диэтилового эфира. Ароматизация в бенз[*d*]изоксазолы **7а-д** достигалась последовательным бромированием и дегидробромированием изоксазолов **6а-д**. Защита гидроксигруппы и омыление сложного эфира приводили к образованию ряда 3-алкил(арил)-4-метоксибенз[*d*]изоксазол-5-карбоновых кислот **8а-д**. На последнем этапе было осуществлено ацилирование изоиндолина хлорангидридами карбоновых кислот и снятие метильной защитной группы с образованием целевых соединений **1а-д** (рис.2).

Структура конечных соединений была доказана с помощью двумерной спектроскопии ядерного магнитного резонанса, масс-спектрометрии высокого разрешения, а чистота была определена при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии.

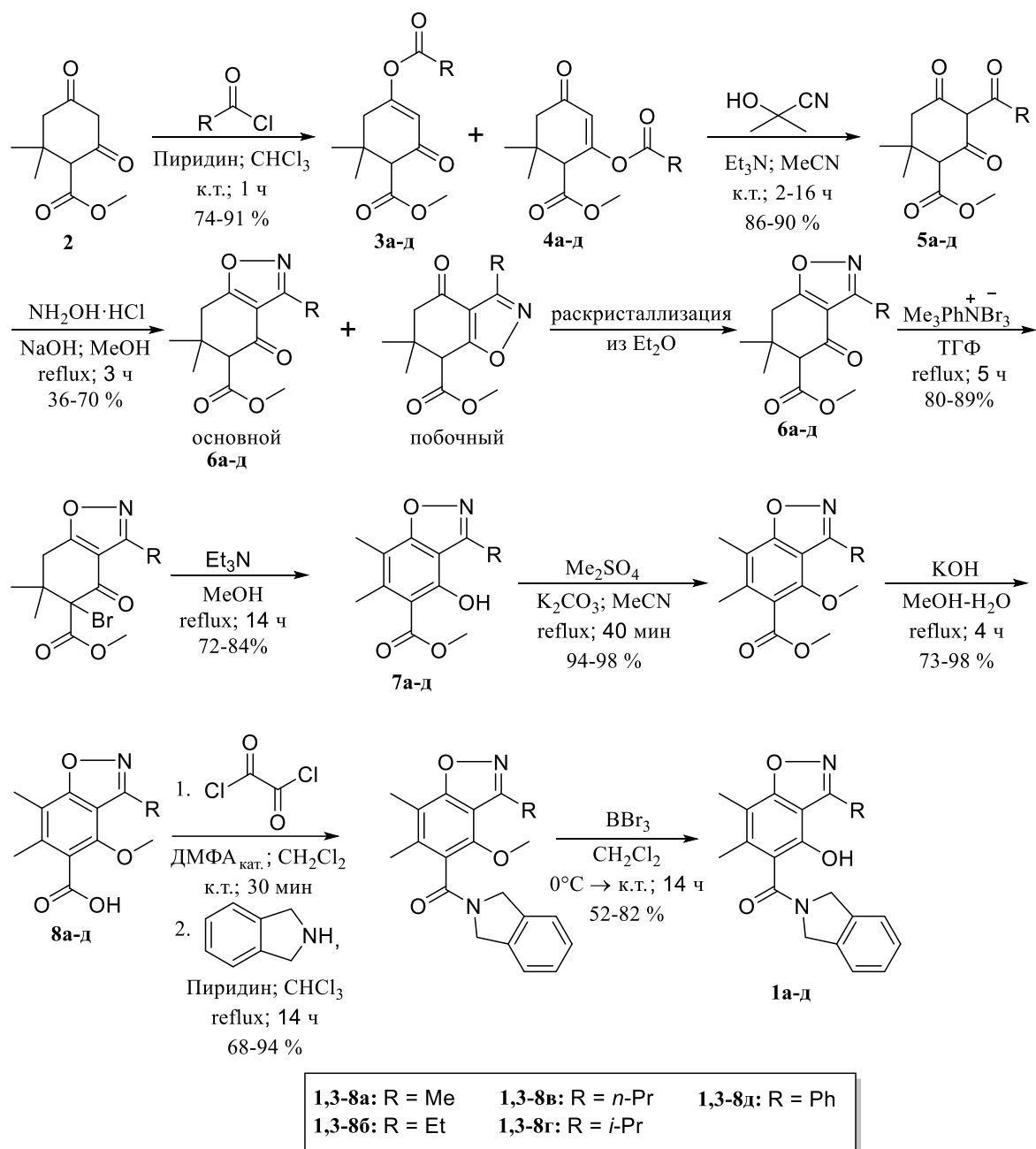


Рис. 2. Полная схема синтеза целевых соединений

Для проведения биоиспытаний полученные соединения были переданы в лабораторию онкопротеомики НМИЦ онкологии Н. Н. Блохина г. Москва. Была проведена оценка антипролиферативной активности соединений **1a-d** на линиях клеток рака молочной железы HCC1954 и MCF7. Соединения проявили умеренную активность в отношении указанных линий раковых клеток (таблица), что свидетельствует о перспективности дальнейших биологических исследований данных веществ.

Результаты испытания целевых соединений на антипролиферативную активность

Соединение	Выживаемость линии клеток при концентрации соединения 50 μM , %		Концентрация полуингибирования (IC_{50}), μM	
	MCF7	HCC1954	MCF7	HCC1954
1a	74.73	71.09	>50	>50
1б	64.03	59.63	>50	>50
1в	72.82	67.34	>50	>50
1г	68.10	36.17	>50	31.7
1д	51.66	77.93	>50	>50

Библиографические ссылки

1. Yu, J. Pan- and isoform-specific inhibition of Hsp90: Design strategy and recent advances / J. Yu, C. Zhang, C. Song // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. Vol.238, article 114516.
2. Dernovsek, J. Following the design path of isoform-selective Hsp90 inhibitors: Small differences, great opportunities / J. Dernovsek, T. Tomasic // *Pharmacology & Therapeutics*. 2023. Vol.245, article 108396.
3. Structure-guided design of an HSP90 β N-terminal isoform selective inhibitor / A. Khandelwal [et al.] // *Nature Communications*. 2018. Vol.9. P. 425 – 432.