

*На правах рукописи*



**Журиков Руслан Владимирович**

**СПЕКТР ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ  
2-ИЗОБУТИЛ-4,6-ДИМЕТИЛ-5-ОКСИПИРИМИДИНА**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

**Научный руководитель:**

**Коваленко Лариса Петровна** – доктор биологических наук, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», руководитель группы иммунофармакологии лаборатории лекарственной токсикологии, ведущий научный сотрудник

**Официальные оппоненты:**

**Шимановский Николай Львович** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии имени академика П.В. Сергеева Института биомедицины (МБФ)

**Покровский Вадим Сергеевич** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий лабораторией биохимических основ фармакологии НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «8» сентября 2026 года в 13.00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.183.02 на базе федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» Министерства образования и науки Российской Федерации (125315, Москва, Балтийская ул. д.8).

Отзывы на автореферат направлять по адресу: 125315, Москва, Балтийская ул. д.8, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» по адресу: 125315, Москва, Балтийская ул. д.8 и на сайте [www.academpharm.ru](http://www.academpharm.ru).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

**Ученый секретарь  
диссертационного совета 24.1.183.02**



кандидат биологических наук

**Васильева Екатерина Валерьевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Ввиду высокой летальности и сложности течения онкологических заболеваний поиск новых эффективных терапевтических подходов и стратегий является очень актуальным. По данным международного агентства по изучению рака (МАИР) число новых случаев онкологических заболеваний во всем мире увеличилось на 50%, а смертность от рака – примерно на 18% в период с 2012 по 2022 год. По оценкам МАИР число онкологических заболеваний продолжит расти в течение следующих 30 лет, при этом число новых случаев увеличится на 77% к 2050 году.

Методы лечения опухолей постоянно совершенствуются, появляются новые подходы. Наряду с химиотерапией, хирургическим лечением и радиотерапией в последние годы стала активно применяться иммунотерапия. В настоящее время процесс так называемого иммуноредактирования рака определяется как кооперативное взаимодействие между опухолевыми клетками и иммунной системой. Сложный патофизиологический механизм иммуноредактирования состоит из трех основных фаз: элиминация, равновесие и ускользание.

На этапе элиминации иммунная система уничтожает опухолевые клетки до того, как их можно обнаружить клинически. Если опухолевые клетки выживают, то они вступают в фазу равновесия, в которой иммунная система не может полностью элиминировать все делящиеся опухолевые клетки, но при этом не идет активный рост опухолевой массы, что может длиться годами и даже десятилетиями. Когда опухолевые клетки подвергаются генетическим мутациям или воздействию иных факторов, они переходят из фазы равновесия в фазу ускользания, в которой деление опухолевых клеток уже невозможно контролировать, к моменту постановки клинического диагноза большинство опухолей уже находятся в стадии ускользания.

После открытия ингибиторов иммунных контрольных точек (ИКТ), что привело к революции в области противоопухолевых методов лечения, в комбинированной иммунотерапии рака рассматриваются новые мишени, включая неоантигены, противоопухолевые вакцины, онколитические вирусы и цитокины. Хотя комбинированная иммунотерапия является наиболее очевидным подходом, обсуждаются и новые методы иммунотерапии: преодоление первичной и вторичной резистентности к существующим ИКТ, активация эффекторных клеток иммунитета и воздействие на иммуносупрессивные механизмы в микроокружении опухоли (Pan, C et al // *Journal of Hematology and Oncology*. 2020.V.13. № 29). С накоплением опыта проведения иммунотерапии стало ясно, что данный метод также имеет свои ограничения и не является универсальным. Оказалось, что далеко не при каждом онкологическом заболевании применение ИКТ, таких как CTLA-4 и PD-L1, приводит к желаемому результату. На пути к поиску способов преодоления резистентности опухолей к ИКТ внутри иммунотерапии развиваются новые подходы, такие как: поиск новых молекулярных мишеней, воздействие на иные популяции иммунокомпетентных клеток в опухоли, использование моноклональных антител, дендритно-

клеточные противоопухолевые вакцины, адоптивная иммунотерапия. В последнее время фокус внимания исследователей постепенно смещается от непосредственного влияния на опухолевые клетки или эффекторные иммунные клетки к воздействию на опухолевое микроокружение, так как оно является важнейшим звеном развития онкологического процесса: дисбаланс иммунных сигнальных молекул (цитокинов, хемокинов) и клеточного состава в микроокружении опухоли способствует её росту, развитию и метастазированию (Christofi T. et al. // *Cancers*. 2019. V. 11. P.1472).

В современной онкологии побочные эффекты остаются одной из основных проблем химиотерапии, в частности угнетение кроветворения и анемия (Dicato M. et al.// *Annals of oncology*. 2010. V. 7. P. 167-172). Нарушение гемопоэза приводит не только к анемии, но и к таким потенциально жизнеугрожающим состояниям как лимфопения и лейкопения. Потенциальным способом решения данной проблемы становится совместное применение цитостатиков с препаратами из других фармакологических групп как с целью снижения доз, так и протекции костного мозга.

В данных условиях актуальной становится разработка лекарственных средств, обладающих способностью нормализовать иммунный ответ организма на опухоль. Изменяя иммунологический «ландшафт» опухолевого микроокружения, данные средства потенциально могут повысить чувствительность опухолей к иммунотерапии, а также снизить дозы препаратов, необходимые для достижения терапевтического ответа, что приведет к снижению частоты побочных эффектов.

Таким образом, в условиях поиска средств для преодоления резистентности к терапии, снижения побочных эффектов и целенаправленного воздействия на опухолевое микроокружение, особый интерес представляют соединения с комплексным механизмом действия. Как показали ранее проведенные исследования, синтезированный в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин является именно таким перспективным соединением. Его способность модулировать иммунный ответ (увеличивая содержание цитотоксических Т-лимфоцитов, натуральных киллеров и снижая концентрации проонкогенных цитокинов) в сочетании с противоопухолевым и противовоспалительным действием соответствует современным трендам разработки препаратов, направленных на нормализацию иммунологического «ландшафта» опухоли и повышение эффективности существующих методов лечения.

**Степень разработанности темы.** В настоящее время активно идут исследования с целью поиска способов влияния на опухолевое микроокружение для повышения эффективности иммунотерапии (Christofi T. et al. // *Cancers*. 2019. V. 11. P. 1472). Одним из перспективных подходов является использование иммунотропных средств совместно с ИКТ.

Например, на опухолевых моделях проводились исследования противоастматического препарата Tosilart (IPD), которые показали, что он ингибирует секрецию ИЛ-4 Th2-клетками, способствует переходу Th2-клеток в Th1-фенотип и вызывает торможение роста таких клеточных линий опухолей молочных желез как EO771, 4T1 и EMT6 (Chen Y. et al. // Journal of Translational Medicine. 2022. V. 20. No 615). На данный момент не зарегистрировано ни одного лекарственного средства с подобными показаниями к применению, так как данная тематика стала активно рассматриваться только после появления данных об ограниченной эффективности ИКТ.

В отделе химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был проведен синтез 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина как в форме плохо растворимого в воде основания, так и легко растворимой соли гидрохлорида. Запатентованы две формы соединения: СНК-411 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин) и СНК-578 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина гидрохлорид) (Середенин С.Б. Производное 5-оксипиримидина, обладающее противоопухолевой активностью / С.Б. Середенин, С.В. Никитин, Л.П. Коваленко, А.Д. Дурнев // патент РФ на изобретение RU2518889 С2. Дата публикации: Бюл.16, 06.10.2014; Коваленко Л.П. Средство с противоопухолевой и антиметастатической активностью, противовоспалительным и противоаллергенным действием / Л.П. Коваленко, С.В. Никитин, А.Д. Дурнев, Т.А. Гудашева // патент РФ на изобретение RU2686672. Дата публикации: Бюл.13, 30.04.2019; Коваленко Л.П. Средство с противоопухолевой и антиметастатической активностью, противовоспалительным и противоаллергенным действием / Л.П. Коваленко, С.В. Никитин, А.Д. Дурнев, Т.А. Гудашева // Евразийский патент на изобретение № 041226, дата выдачи патента 28.09.2022).

На экспериментальных моделях солидных опухолей эпидермоидной карциномы легкого Льюиса (LLC) и рака шейки матки РШМ-5 было показано наличие противоопухолевых свойств у 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина и снижение под его действием концентрации проонкогенных Т2 цитокинов в сыворотке крови мышей-опухоленосителей (Коваленко Л.П. и др. // Биомедицинская химия. 2021. Т. 67. № 2. С. 158-161; Коваленко Л.П. и др. // Биомедицинская химия. 2023. Т. 69. № 1. С. 39-45). На модели общей системной анафилаксии к овальбумину у морских свинок альбиносов определена противоаллергическая активность СНК-411 и СНК-578, на других экспериментальных моделях определено выраженное иммуностропное и противовоспалительное действие 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина (Коваленко Л.П. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2020. Т. 83., № 10. С. 9-12.; Коваленко Л.П. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2020. Т. 83, № 1. С.24-27).

**Цель исследования.** Расширенная оценка противоопухолевой, антиметастатической и противоаллергической активности и анализ механизмов действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в качестве монотерапии или при сочетанном применении с гемцитабином и доксорубицином.

**Задачи исследования.**

1. Провести оценку противоопухолевой и антиметастатической активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на модели меланомы В16 в опытах на мышах линии С57BL/6, в том числе при сочетанном применении с доксорубицином.

2. Исследовать противоопухолевую активность и влияние на выживаемость 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в качестве монотерапии или при сочетанном применении с доксорубицином на модели аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ в опыте на мышах линии BALB/c.

3. Исследовать противоопухолевую активность и влияние на выживаемость и гематологические показатели 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в качестве монотерапии или при сочетанном применении с гемцитабином на модели аденокарциномы молочной железы Са755 в опытах на мышах линии С57BL/6.

4. Изучить противоаллергическую активность, в том числе влияние на уровень цитокинов и IgE в сыворотке крови, 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на модели системной реакции анафилаксии у мышей линии BALB/c.

5. Исследовать анальгетическую и противовоспалительную активность 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на модели адьювантного артрита у крыс.

6. Оценить влияние 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на активность ферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2, на липооксигеназный путь воспаления для определения механизма противовоспалительного действия.

7. Изучить механизм противоопухолевого действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина по влиянию на клеточный цикл и оценить его генотоксичность.

8. Провести сравнительную оценку фармакологического спектра и эффективных доз основной и солевой форм 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина.

**Научная новизна.** Противоопухолевая и антиметастатическая активность 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина была подтверждена на трех моделях солидных опухолей. Впервые на модели меланомы В16 выявлено, что индекс ингибирования метастазирования (ИИМ) при 14-ти дневном внутрибрюшинном (в/б) введении основания СНК-411 в дозе 10 мг/кг составил 72%, при в/б введении в дозе 25 мг/кг - 82,9%. ИИМ при 14-ти дневном введении соли СНК-578 в дозе 10 мг/кг составил 75,8%, а в дозе 25 мг/кг – 92,3%. Курсовое в/б введение основания СНК-411, соли СНК-578 в сочетании с однократным

введением доксорубина вызывало выраженное антиметастатическое действие (СНК-411+доксорубин - ИИМ-92,3); (СНК 578+доксорубин - ИИМ-98,9%).

Впервые на модели аденокарциномы молочной железы Ca755 было определено, что при курсовом в/б введении основания СНК-411 в дозе 25 мг/кг с двукратным введением гемцитабина торможение роста опухоли (ТРО) составило 79%. При курсовом в/б введении соли СНК-578 в дозе 10 мг/кг совместно с двукратным введением гемцитабина ТРО составило 80%. Также на данной модели было показано, что введение 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина предотвращало развитие анемии у мышей с аденокарциномой Ca755.

Впервые на модели аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ было показано, что при 14-ти дневном пероральном введении основания СНК-411 в дозе 25 мг/кг на 21 день опыта ТРО составило 74%, на 28-е сутки ТРО составило 67%. При в/б введении соли СНК-578 в/б в дозе 10 мг/кг на 21 день опыта ТРО также составило 74%, на 28-е сутки – 64%. При двукратном в/б введении доксорубина в дозе 5 мг/кг на 21-й день опыта ТРО составило 82%, на 28 сутки - 69%, при введении основания СНК-411 в дозе 25 мг/кг ТРО составило 67%. Ингибирование роста опухоли при совместном введении основания СНК-411 в дозе 25 мг/кг и доксорубина в дозе 5 мг/кг 92,7%, а при введении доксорубина совместно с солью СНК-578 в дозе 10 мг/кг ТРО 91,6%.

Впервые было обнаружено, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин реализует свой противоаллергический эффект и уменьшает гибель от анафилаксии за счет снижения в крови уровня проаллергенных Т2 интерлейкинов (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13) и иммуноглобулина Е (IgE) у сенсibilизированных к овальбумину мышей.

На модели адьювантного артрита впервые были выявлены анальгетические свойства 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина. Соединение восстанавливало двигательную активность животных, уменьшало воспаление в пораженных конечностях на ранних сроках наблюдения, увеличивало концентрацию гемоглобина в крови животных.

Впервые показано, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин является неселективным ингибитором ЦОГ. На модели ПАФ-индуцированного отека у крыс показано, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин влияет на липооксигеназный путь воспаления.

На клетках линии Jurkat впервые было установлено, что соль СНК-578 в концентрации  $10^{-4}$  М уменьшает долю клеток в S фазе клеточного цикла и увеличивает долю клеток в G<sub>1</sub> фазе клеточного цикла, показано, что изучаемое соединение не обладает генотоксичностью.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Расширено представление о спектре фармакологической активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина. На трех опухолевых моделях выявлено антиметастатическое, противоопухолевое и гематопротекторное действие 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина. На модели системной анафилаксии показано, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин обладает противоаллергическим

действием, обусловленным снижением концентрации IgE и T2-цитокинов. Изучены отдельные механизмы противоаллергического, противовоспалительного и противоопухолевого действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина, показано, что он не обладает генотоксичностью. Проведено сравнение фармакологической активности и эффективных доз 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (СНК-411) и соли (СНК-578). Полученные данные обуславливают перспективность дальнейшего доклинического изучения механизмов действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде соли (СНК-578), а также изучение сочетанного применения СНК-578 с лекарственными средствами, используемыми в лечении онкологических заболеваний. Результаты доклинического изучения фармакологического спектра и механизмов действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина указывают на возможность получения разрешения на проведение 1-ой фазы клинических испытаний.

**Методология и методы исследования.** Для изучения спектра фармакологической активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина был использован комплекс экспериментальных моделей *in vivo* и *in vitro*. Оценка противоопухолевой активности на трех моделях солидных опухолей: меланома В16, аденокарцинома толстой кишки АКАТОЛ и аденокарцинома молочной железы Ca755. Рассчитывалось торможение роста опухоли, индекс ингибирования метастазирования, а также проводился анализ выживаемости по методу Каплана–Мейера. Противовоспалительные и иммуностропные свойства соединения оценивали на модели системной анафилаксии, индуцированной овальбумином, ПАФ-индуцированного экссудативного отека и адьювантного артрита. Рассчитывали индекс реакции анафилаксии, выполняли общий анализ крови, а также проводили цитометрическое определение концентрации цитокинов и серию специфических тестов для оценки противовоспалительной активности. Генотоксические свойства соединения исследовали методом учета хромосомных aberrаций. Для выяснения механизмов действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина оценивали его влияние на активность циклооксигеназ (ЦОГ-1 и ЦОГ-2), а также с помощью проточной цитометрии изучали его воздействие на клеточный цикл *in vitro* на модели клеточной линии Jurkat.

**Положения, выносимые на защиту.**

1. Противоопухолевая и антиметастатическая активность 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на модели меланомы В16 в опытах на мышах линии С57ВL/6, в том числе при сочетанном применении с доксорубицином.
2. Противоопухолевая активность и влияние на выживаемость 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в качестве монотерапии или при сочетанном применении с доксорубицином на модели аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ в опыте на мышах линии BALB/c.

3. Противоопухолевая активность и влияние на выживаемость и гематологические показатели 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в качестве монотерапии или при сочетанном применении с гемцитабином на модели аденокарциномы молочной железы Ca755 в опытах на мышах линии C57BL/6.

4. Противоаллергическая активность, в том числе влияние на уровень цитокинов и IgE в сыворотке крови, 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на модели системной реакции анафилаксии у мышей линии BALB/c.

5. Анальгетическая и противовоспалительная активность 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на модели адьювантного артрита у крыс.

6. Влияние 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на активность ферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2, на липооксигеназный путь воспаления.

7. Влияние 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на клеточный цикл и оценка его генотоксичности.

8. Сравнительная оценка фармакологического спектра и эффективных доз основной и солевой форм 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина.

**Степень достоверности.** Достоверность результатов всех исследований подтверждается адекватными методами статистического анализа и повторами серий опытов. Статистическая обработка полученных данных была проведена с привлечением соответствующих современных методов математической статистики.

**Апробация результатов.** Результаты диссертационной работы доложены на Всероссийской научной конференции молодых ученых «Достижения современной фармакологической науки» (Рязань, 2018), на VI съезде фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций. Новые идеи – новые лекарства» (Клязьма, 2023), Всероссийской научно-практической конференции «Достижения и перспективы экспериментальной фармакологии в онкологии и радиационной медицине» (Обнинск, 2024), 12-ой Всероссийской конференции с международным участием «Актуальные вопросы доклинических и клинических исследований лекарственных средств и клинических испытаний медицинских изделий» (Санкт-Петербург, 2025).

**Личный вклад автора** состоит в выполнении экспериментальной и аналитической части диссертации, автором проведена обработка и интерпретация полученных данных. При участии автора также были подготовлены публикации по результатам диссертационной работы.

**Публикации по теме работы.** По материалам диссертации опубликовано 11 работ, из них 6 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России, и 5 тезисов в материалах научных съездов и конференций.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 140 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы, описывающей материалы и

методы исследования, главы, содержащей результаты экспериментов, главы, содержащей обсуждение результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 27 таблицами и 13 рисунками. Список литературы содержит 207 источников, в том числе 27 отечественных и 180 зарубежных источников.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Экспериментальные животные.** В работе были использованы самцы мышей линии BALB/c, самцы и самки мышей линии C57Bl/6 массой 18-20 г, крысы-самцы линии Wistar массой 140-160 г, аутбредные самцы крыс массой 160-180 г, полученные из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животных содержали в условиях вивария при 12-часовом световом режиме на стандартном сбалансированном брикетированном корме со свободным доступом к пище и воде при естественном освещении и температуре воздуха 20-24 °С, 45-56% относительной влажности. Эксперименты с животными проводили в соответствии с «Руководством по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований» (Приложение к Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 года № 33), межгосударственным стандартам серии «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными» ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014 (Приложение А к Европейской конвенции о защите Позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS N 123)). Общее количество использованных животных составило: 442 мыши, 130 крыс.

**Опухолевые клеточные линии и штаммы.** Опухолевые клеточные линии меланомы B16, аденокарциномы молочной железы Ca755 и аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ были получены из лаборатории «Биоресурсная коллекция клеточных линий и первичных опухолей» ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России и поддерживались перевиванием опухолевой культуры на мышцах различных линий в соответствии с методическими рекомендациями. Клеточная линия Jurkat - (Т-лимфобластная лейкемия человека) из клеточного банка ФГБНУ «НИИОПП».

### **Исследуемые агенты и препараты для верификации используемых моделей.**

2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин в виде основания (СНК-411) и в виде гидрохлорида (СНК-578), Диклофенак (Немофарм, Сербия), Доксорубин-Эбеве (ЭБЕВЕ Фарма Гес.м.б.Х.НФГ.КГ, Австрия), Гемцитар (ЗАО «Биокад», Россия), Эриус (Байер Биттерфельд ГмбХ, Германия), Преднизолон Буфус (Обновление Реневал ПФК АО, Россия), субстанция доксорубина гидрохлорида (Merck, США).

*Дозы, режимы и пути введения исследуемых агентов*

Основание СНК-411 растворяли в 1% растворе крахмала и вводили в/б и *per os* в дозах 25 мг/кг и 50 мг/кг курсовым 7-ми дневным или 14-ти дневным введением. Соль СНК-578 растворяли в физиологическом растворе и вводили в/б в дозах 10 мг/кг, 25 мг/кг или 50 мг/кг курсовым 7-ми дневным или 14-ти дневным введением.

Методы оценки противоопухолевой и антиметастатической активности. При выборе методов оценки противоопухолевой и антиметастатической активности использовали «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Глава 3, Часть 4. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. С.637-68 и С.674-682). Противоопухолевая и антиметастатическая активности были изучены на моделях меланомы В16, аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ и аденокарциномы молочной железы Са755.

Метод оценки гематологических показателей. Подсчет форменных элементов крови и гемоглобина у животных проводили на автоматическом гематологическом анализаторе ВС-2800 («MINDRAY», Китай).

Методы оценки противоаллергической и противовоспалительной активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (СНК-411) и соли (СНК-578)

Системная реакция анафилаксии. Противоаллергическая активность изучена на модели системной реакции анафилаксии на овальбумин (Бельская Н.В. и др., 2010).

Мультиплексное исследование цитокинов и иммуноглобулина Е в сыворотке крови животных, иммунизированных овальбумином на модели системной реакции анафилаксии. Измерение содержания цитокинов и IgE в сыворотке крови мышей проводили на проточном цитометре BD FACSCanto II по методу мультиплексного определения флуоресцентных частиц (Mouse Th1/Th2 10 plex Kit, eBioscience, Австрия), Multi-Analyte Flow Assay Kit (mouse IgE assay kit, BioLegend, США) согласно протоколу производителя.

Исследование противовоспалительной, обезболивающей активности и влияния 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (СНК-411) и соли (СНК-578) на двигательную активность и гематологические показатели крыс на модели адьювантного артрита. Исследование проводили на самцах крыс линии Wistar. Животным вводили в левую лапу по 100 мкл ПАФ (Sigma). Отек стопы и скакательного сустава регистрировали штангенциркулем цифровым ШЦЦ-1-125 (Micron, Чехия) на 1, 10, 15, 19 и 24 дни опыта. На 15 и 24 сутки после введения ПАФ у крыс оценивали выраженность термической гипералгезии на установке Plantar Test (Hargreave's Method, Ugo Basile, Италия). На инфракрасном актиметре [Acti-track IR Actimeter (Panlab, Harvard Apparatus, Испания)] на 14 и 22 сутки определяли двигательную активность животных.

Модель индуцированного отека на полный адьювант Фрейнда (ПАФ). Аутбредным самцам крыс вводили субплантарно по 0,1 мл в правую лапу ПАФ (Sigma). СНК-411 и СНК-578, преднизолон вводили в/б 2 раза (за 24 часа и 2 часа до введения ПАФ).

Определение ингибирующей активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде соли (СНК-578) в отношении изоформ фермента ЦОГ. Влияние соли СНК-578 на активность ферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2 изучали с помощью набора COX Colorimetric Inhibition Screening Assay Kit (Cayman Chemical, США) согласно протоколу производителя. СНК-578 растворяли в дистиллированной воде и вносили в концентрациях 1-10-100 мкМ.

Исследование влияния 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде соли (СНК-578) на клеточный цикл Т-лимфобластной лейкемии человека (Jurkat). Клетки Jurkat инкубировали с доксорубицином гидрохлоридом (Sigma-Aldrich, США) или СНК-578 в течение 24 ч или 48 ч. Затем клетки окрашивали раствором йодистого пропидия с РНКазой А («BioInnlabs», Россия) и записывали по 25000 событий на пробу на проточном цитометре BD FACSCanto II.

Статистическая обработка данных. Все данные обработаны в программе STATISTICA 13.5. Проверка распределения на нормальность проводилась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Данные представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка (Mean $\pm$ SEM) или как медиана с квантилями (Me (Q1 $\div$ Q4)). Для сравнения групп с нормальным распределением и однородными дисперсиями (тест Левена) использовали: t-критерий Стьюдента (для двух групп). Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим методом Тьюки для множественных сравнений (для трёх и более групп). Для данных с распределением, отличным от нормального, применяли непараметрические критерии: Критерий Манна-Уитни (для двух групп). Критерий Краскела-Уоллиса с последующим тестом Данна для множественных сравнений (для трёх и более групп). Анализ выживаемости проводили методом Каплана-Майера, а для сравнения кривых использовали F-критерий Кокса. Статистически достоверными считались различия при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### **Оценка противоопухолевой и антиметастатической активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (СНК-411) и соли (СНК-578) на модели меланомы В16**

После 14-ти дневного введения 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (СНК-411) в дозах 10 мг/кг и 25 мг/кг и в сочетании с однократным введением доксорубицина статистически значимого торможения роста опухоли (ТРО) на 21 день развития меланомы В16 в опытных группах не обнаружено. Частота метастазирования у животных контрольной группы составила 100%. Индекс ингибирования метастазирования (ИИМ) при введении основания СНК-411 в дозе 10 мг/кг составил 72 % ( $p < 0,05$ ), при введении в дозе 25 мг/кг метастазирование подавлялось на 82,9% ( $p < 0,05$ ). При 14-дневном введении основания СНК-411 в дозе 10 мг/кг и однократном введении доксорубицина в дозе 4 мг/кг ИИМ составил

97,1% ( $p < 0,05$ ), у половины мышей этой группы на 21 день развития меланомы В16 метастазы в легких не были выявлены (Таблица 1).

Таблица 1 – Влияние СНК-411 и его сочетанного применения с доксорубицином на метастазирование меланомы В16

Группы, n=10	Среднее число метастазов (M±m)	Степень поражения легких метастазами, %						ИИМ, %, на 21 сутки развития опухоли
		Низкий потенциал колонизации легких			Высокий потенциал колонизации легких			
		0	1	2	3	4	5	
Контроль	11,4±1,2	-	40	20	-	20	20	-
Доксорубицин 4 мг/кг	3,3±1,2*	33	50	-	-	17	-	80,5
СНК-411 10 мг/кг	3,8±1,7*	17	67	-	-	17	-	72,0
СНК-411 10 мг/кг + Доксорубицин 4 мг/кг	0,7±0,3*	50	33	-	-	17	-	97,1
СНК-411 25 мг/кг	3,1±1,3*	38	50	-	-	13	-	82,9

Примечания: n – количество животных в группе; \* –  $p < 0,05$  по t-критерию Стьюдента в сравнении с контролем; \*\* –  $p < 0,01$  по t-критерию Стьюдента в сравнении с контролем.

После 14 дневного в/б введения 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиридина в виде соли (СНК-578) в дозах 10 мг/кг и 25 мг/кг значимого ТРО также не определено, СНК-578 в дозе 10 мг/кг в сочетании с однократным введением доксорубицина в дозе 4 мг/кг вызывал на 21 день развития меланомы В16 подавление ТРО на 33,1 %. (Таблица 2). ИИМ при введении соли СНК-578 в дозе 10 мг/кг составил 75,8%, в дозе 25 мг/кг – 92,3% ( $p < 0,01$ ). Наибольший антиметастатический эффект был обнаружен при совместном в/б введении соли СНК-578 в течение 14 дней в дозе 10 мг/кг и однократном введении доксорубицина в дозе 4 мг/кг. У 6 из 9 мышей метастазы отсутствовали, у трех обнаружили по 1, 2 и 3 очень мелких метастаза, ИИМ 98,9% ( $p < 0,01$ ) (Таблица 3).

Таблица 2 – Влияние СНК-578 и его сочетанного применения с доксорубицином на рост меланомы В16

Группы, n = 10	Объем опухоли меланомы, мм <sup>3</sup>			ТРО, % на 21 сутки развития опухоли
	11 сутки	15 сутки	21 сутки	
Активный контроль	869,7±68,7	2752,5±273,9	4709,4±647,5	-
Доксорубицин 4 мг/кг	754,0 ±42,6	2169,7±399,5	3160,8±647,6	33%
СНК-578 10 мг/кг	716,1±167,8	2281,2±126,1	4675,5±775,0	-
СНК-578 10 мг/кг + доксорубицин 4 мг/кг	315,2±95,5*	1206,1±162,6*	3113,4±274,7*	34%
СНК-578 25 мг/кг	549,0±113,6*	2082,9±304,8	3265,3±325,2	31%

Примечания: n – количество животных в группе; \* -  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой, критерий Даннетта.

Таблица 3 – Влияние СНК-578 и его сочетанного применения с доксорубицином на метастазирование меланомы В16

Группы, n=10	Среднее число метастазов (M±m)	Степень поражения легких метастазами, %						ИИМ, % на 21 сутки развития меланомы В16
		Низкий потенциал колонизации легких			Высокий потенциал колонизации легких			
		0	1	2	3	4	5	
Контроль В16	18,1±3,1	-	14,3%	50%	-	35,7%	-	-
Доксорубицин 4 мг/кг	3,6±0,8*	14,3%	71,5%	7,1%	-	7,1%	-	83,0%
СНК-578, 10 мг/кг	5,0±1,5*	12,5%	75,0%	12,5%	-	-	-	75,8%
СНК-578, 10 мг/кг + доксорубицин 4 мг/кг	0,6±0,3*	66,7%	33,3%	-	-	-	-	98,9%
СНК-578, 25 мг/кг	1,8±0,7*	22,2%	77,8%	-	-	-	-	92,3%

Примечания: n – количество животных в группе; \* –  $p < 0,01$  в сравнении с контрольной группой по t-критерию Стьюдента.

Таким образом, 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин в виде соли (СНК-578) обладает выраженным антиметастатическим действием в дозах 10 мг/кг и 25 мг/кг на модели меланомы В16, но при этом обе формы СНК не вызывают статистически значимого ТРО на 7 день после окончания введения.

**Исследование противоопухолевой активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (СНК-411) и соли (СНК-578), его влияния на выживаемость на модели аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ**

2-Изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин в виде основания (СНК-411) в течение 14 дней при введении *per os* в дозе 25 мг/кг вызывал соответствующее критерию эффективности ТРО на 21 день опыта - 74% ( $p < 0,05$ ). При в/б введении соли СНК-578 в дозе 10 мг/кг через 7 дней после окончания введения ТРО было 73,5% ( $p < 0,05$ ). Через 7 суток после окончания введения комбинации основания СНК-411 в дозе 25 мг/кг и двукратного введения доксорубицина в дозе 5 мг/кг ТРО составило 92,7% ( $p < 0,05$ ). При введении комбинации соли СНК-578 в дозе 10 мг/кг и доксорубицина в дозе 5 мг/кг на 21 день опыта ТРО составило 91,6% ( $p < 0,05$ ) (Таблица 4).

Таблица 4 – Влияние СНК-411, СНК-578 и сочетанного применения с доксорубицином на рост аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ

Группы, n=12	Средний объем опухоли, мм <sup>3</sup>							
	9 сутки	ТРО %	15 сутки	ТРО %	21 сутки	ТРО%	28 сутки	ТРО %
Контроль	201,2±36,3		1916,4±380,4		3252±804,5		6015,4±1201	
Доксорубицин 2×5 мг/кг	2,5±1,8*	98,8	108,5±41,8*	94,3	595,2±194,2*	81,7	1848,6±689,4*	69,3

Продолжение Таблицы 4

СНК-411 25 мг/кг	73,4±21,1*	63,5	464,3±102,5*	75,8	845,5±179,5*	74,0	1984,9±313*	67
СНК-411 25 мг/кг + доксорубицин	0,28±0,28*	99,9	139,3±76,3*	92,3	210,2±84,6*	92,7	2109,3±640,7*	65
СНК-578 10 мг/кг	132,8±18,3	34,0	508,5±107,7*	73,5	853,5±130,2*	73,5	2163±302,4*	64
СНК-578 10 мг/кг + доксорубицин	4,92±3,8*	97,6	102,6±34,5*	94,7	271,9±116,3*	91,6	1024,8±271,2*	83

Примечания: n – количество животных в группе; \* –  $p < 0,05$  по тесту Манна-Уитни по сравнению с контролем.

Медиана выживаемости у животных активного контроля составила 60 дней, при введении основания СНК-411 в дозе 25 мг/кг *per os* – 66 дней, а при введении соли СНК-578 в дозе 10 мг/кг в/б – 72 дня. В связи с токсичностью доксорубицина (2 из 12 животных погибли) медиана выживаемости при введении основания СНК-411 с доксорубицином составила 53 дня, при введении соли СНК-578 с доксорубицином – 70 дней.

СПЖ животных с опухолью АКАТОЛ составила 58,1 суток (Таблица 5). При двухнедельном введении соли СНК-578 в дозе 10 мг/кг СПЖ составила 72,8 суток, УПЖ – 25% ( $p < 0,05$ ). УПЖ при введении основания СНК-411 в дозе 25 мг/кг составило 21%, СПЖ составила 70,5 суток ( $p < 0,05$ ). СПЖ животных, которым вводили комбинацию доксорубицина и соли СНК-578, составила 67,3 суток ( $p < 0,05$ ). Совместное введение 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина как в виде основания, так и в виде соли с двукратным введением доксорубицина в дозе 5 мг/кг не вызывало гибели животных.

Таблица 5 – Влияние СНК-411 и СНК-578 и их сочетанного применения с доксорубицином на выживаемость мышей с аденокарциномой толстой кишки АКАТОЛ

Группы, n=12	Средняя продолжительность жизни, дней	УПЖ, %
Активный контроль	58,1	
Доксорубицин	57,5	-1%
СНК-411 25 мг/кг	70,5*	21%
СНК-411 25 мг/кг + доксорубицин	58	-0,1%
СНК-578 10 мг/кг	72,8*	25%
СНК-578 10 мг/кг + доксорубицин	67,3*	15%

Примечания: n – количество животных в группе; \* -  $p < 0,05$  по F-тесту Кокса.

**Исследование противоопухолевой активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (СНК-411) и соли (СНК-578), его влияние на выживаемость и гематологические показатели на модели аденокарциномы молочной железы Ca755**

Основание СНК-411 при введении в/б в дозе 25 мг/кг (в дозе эквивалентной 30 мг/кг соли СНК-578) и водорастворимая соль СНК-578 при введении в/б в дозе 10 мг/кг вызывали

равнозначное ТРО на модели аденокарциномы молочной железы Ca755, а также одинаково увеличивали продолжительность жизни мышей (Таблица 6, 7).

Через 7 дней после 14 дневного введения основания СНК-411 в дозе 25 мг/кг самкам мышей линии C57Bl/6 с аденокарциномой Ca755 ТРО составило 45% ( $p=0,21$ ), при введении соли СНК-578 в дозе 10 мг/кг ТРО составляло 53% ( $p=0,07$ ). Введение гемцитабина на 2 и 9 день опыта в суммарной дозе 150 мг/кг вызывало статистически значимое ТРО на 61% ( $p<0,02$ ). При совместном введении основания СНК-411 с гемцитабином определено ТРО на 79% ( $p<0,001$ ). При курсовом введении соли СНК-578 совместно с двукратным введением гемцитабина через 7 дней после окончания введения препаратов ТРО составило 80% ( $p<0,001$ ).

УПЖ при введении гемцитабина составило 44% ( $p<0,001$ ), основание СНК-411 вызывало УПЖ на 18% ( $p<0,009$ ), при введении соли СНК-578 УПЖ составило 21% ( $p<0,002$ ). При совместном курсовом введении основания СНК-411 с двукратным введением гемцитабина УПЖ составило 62% ( $p<0,003$ ), при введении соли СНК-578 и гемцитабина УПЖ составило 71% ( $p<0,0001$ ) (таблица 6). Таким образом, УПЖ и ТРО при совместном введении комбинации гемцитабина и 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (СНК-411) или соли (СНК-578) соответствуют критерию эффективности для соединений, рекомендуемых для клинического изучения.

Курсовое введение 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (СНК-411) и соли (СНК-578) совместно с двукратным введением гемцитабина препятствовало угнетению кроветворения и развитию анемии у мышей с аденокарциномой Ca755 и оказывало протективное действие на эритропоэз.

Таблица 6 – Влияние СНК-411 и СНК-578 и их сочетанного применения с гемцитабином на рост аденокарциномы молочной железы Ca755

Группы, n=10	Средний объем опухоли, мм			ТРО на 21 сутки, %
	9-е сутки	16-е сутки	21-е сутки	
Активный контроль	3958,7±461,9	12766,6±1376,1	18837,4±4220,8	-
СНК-411 25 мг/кг	2289,4±227,5	12694±972,1	10320,8±1322,9	45%
СНК-411 25 мг/кг + гемцитабин 150 мг/кг	142,7 ±51,4*	777,1±209,9*	3913,2±1050,4*	79%
СНК-578 10 мг/кг	1603,4±172,3	7803,4±604,3	8827,4±2068,9	53%
СНК-578 10 мг/кг + гемцитабин 150 мг/кг	300 ±124,8*	1429,1±346,6*	3694,2±1094,1*	80%
гемцитабин 150 мг	403±105,6*	2030±408,9*	7398,1±1752,6*	61%

Примечания: n – количество животных в группе; \* -  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой, критерий Тьюки.

Таблица 7 – Влияние СНК-411 и СНК-578 и их сочетанного применения с гемцитабином на продолжительность жизни мышей линии C57Bl/6 с аденокарциномой молочной железы Ca755

Группы, n=10	Средняя продолжительность жизни, сут	Увеличение продолжительности жизни, %
Активный контроль	17	
СНК-411 25 мг/кг	20*	18%
СНК-411 25 мг/кг + гемцитабин 150 мг/кг	27,5*	62%
СНК-578 10 мг/кг	20,5*	21%
СНК-578 10 мг/кг + гемцитабин 150 мг/кг	29*	71%
Гемцитабин 150 мг/кг	24,5*	44,1%

Примечание: n – количество животных в группе; \* -  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой с опухолью, F-тест Кокса.

Основание СНК-411 при введении в/б в дозе 25 мг/кг (в дозе эквивалентной 30 мг/кг соли СНК-578) и водорастворимая соль СНК-578 при введении в/б в дозе 10 мг/кг, вызывали равнозначное ТРО на модели аденокарциномы молочной железы Ca755, а также одинаково увеличивали продолжительность жизни мышей.

**Оценка противовоспалительной активности, анальгетических свойств 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиридина в виде основания (СНК-411) и соли (СНК-578), и его влияния на двигательную активность и гематологические показатели крыс Wistar на модели адьювантного артрита**

2-Изобутил-4,6-диметил-5-оксипиридин в обеих формах вызывал уменьшение гипералгезии правой лапы на 15-й день опыта. При измерении отека левого скакательного сустава было определено, что основание СНК-411 в дозе 40 мг/кг снижает отечность сустава на 11 сутки наблюдения ( $p < 0,05$ ). На 14 и 22 сутки наблюдения на инфракрасном актиметре было определено, что курсовое введение диклофенака в дозе 5 мг/кг и основания СНК-411 в дозе 40 мг/кг увеличивало двигательную активность крыс и пройденное расстояние до уровня интактного контроля ( $p < 0,05$ ). В этом же эксперименте введение основания СНК-411 и соли СНК-578 приводило к повышению содержания эритроцитов и к увеличению концентрации гемоглобина.

Согласно данным литературы, ИЛ-6 через сигнальный путь JAK-STAT3 регулирует работу сигнального пути PI3K/Akt/mTOR, активация которого на поздних стадиях онкологических заболеваний приводит к нарушению созревания эритроцитов, что ведет к анемии (Madeddu C. et al. // Front. Physiol. 2018. V. 9, No 1294). В ранее проведенных работах на LLC (Коваленко Л.П. и др. // Биомедицинская химия. 2023. Т. 69. №1. С. 39-45) и в исследовании на модели системной реакции анафилаксии, приведенном в данной работе ниже, показано, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиридин снижает концентрацию ИЛ-6 и Th2 цитокинов в сыворотках крови мышей при различных формах хронического воспаления. Таким образом, понятен механизм гематопротекторного действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиридина на моделях аденокарциномы молочной железы Ca755 и адьювантного артрита у крыс. Во всех изученных дозировках обе формы 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиридина увеличивали содержание гемоглобина и эритроцитов, а также в диапазоне доз равных 25-40 мг/кг водорастворимой соли обладали умеренным анальгетическим действием (Таблица 8).

Таблица 8 – Влияние 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина и диклофенака на показатели периферической крови крыс линии Wistar с адьювантным артритом

Группа Параметр	1 контроль	2 активный контроль	3 диклофенак	4 СНК-411 25 мг/кг	5 СНК-411 40 мг/кг	6 СНК-578 10 мг/кг	7 СНК-578 25 мг/кг
Гемоглобин, г/л	122,5 117,0 ÷ 147,0	142,0 137,0 ÷ 147,0	105,0 <sup>1-6</sup> 103,0 ÷ 115,0	147,0 <sup>1,3</sup> 138,0 ÷ 153,0	160,0 <sup>1,2,3</sup> 147,0 ÷ 164,0	152,0 <sup>1,2,3</sup> 147,0 ÷ 166,0	156,0 <sup>1,2,3</sup> 148,0 ÷ 162,0
Эритроциты, млн	8,93 7,20 ÷ 9,38	7,84 7,68 ÷ 8,43	6,07 <sup>1-6</sup> 4,50 ÷ 6,59	7,76 <sup>3</sup> 7,45 ÷ 8,18	8,12 <sup>3</sup> 7,46 ÷ 8,47	8,10 <sup>3</sup> 7,27 ÷ 8,70	8,29 <sup>3</sup> 7,96 ÷ 8,67
Гематокрит, %	38,85 34,60 ÷ 47,27	43,10 39,60 ÷ 43,74	30,50 <sup>1-6</sup> 29,0 ÷ 31,60	41,20 38,40 ÷ 44,70	43,50 40,20 ÷ 45,0	43,10 41,40 ÷ 45,60	44,40 ÷ 41,70 ÷ 46,10
Средний объем эритроцитов, фл	47,0 42,0 ÷ 52,0	53,0 51,0 ÷ 56,0	50,0 48,0 ÷ 65,0	52,0 49,0 ÷ 53,60	54,0 51,0 ÷ 55,0	54,0 51,0 ÷ 56,0	53,0 51,0 ÷ 55,0
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	14,25 13,20 ÷ 16,40	17,80 16,40 ÷ 19,50	17,50 17,20 ÷ 22,90	18,60 <sup>1</sup> 17,90 ÷ 18,70	19,70 <sup>1,2</sup> 19,44 ÷ 19,70	19,10 <sup>1,2</sup> 18,50 ÷ 20,70	18,80 <sup>1,2</sup> 18,20 ÷ 19,20
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитарной массе, пг	312,5 298,0 ÷ 355,0	346,0 314,0 ÷ 350,0	355,0 344,0 ÷ 365,0	356,0 341,0 ÷ 363,0	366,0 <sup>1,2</sup> 357,0 ÷ 366,0	357,0 <sup>1</sup> 349,0 ÷ 364,0	353,0 <sup>1</sup> 348,0 ÷ 356,0
Тромбоциты, тыс	453,0 428,0 ÷ 712,0	609,0 467,0 ÷ 722,0	909,0 <sup>1-6</sup> 894,0 ÷ 1147	596,0 <sup>3</sup> 566,0 ÷ 641,0	667,0 <sup>3</sup> 577,0 ÷ 720,0	639,0 <sup>3</sup> 481,0 ÷ 679,0	700,0 <sup>3</sup> 598,0 ÷ 813,0
Тромбокрит, %	0,24 0,22 ÷ 0,30	0,31 0,25 ÷ 0,38	0,47 <sup>1-6</sup> 0,41 ÷ 0,66	0,31 0,30 ÷ 0,32	0,34 0,30 ÷ 0,37	0,34 0,25 ÷ 0,36	0,36 0,30 ÷ 0,42
Лейкоциты, тыс	16,0 13,30 ÷ 18,20	22,50 20,40 ÷ 24,50	50,30 <sup>1-6</sup> 27,80 ÷ 61,20	26,30 18,0 ÷ 33,20	26,20 22,31 ÷ 27,30	22,70 18,30 ÷ 27,80	24,10 20,0 ÷ 31,20

Примечание: 1-6 -  $p < 0,05$  между группами по критерию Данна

**Исследование противоаллергической активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в форме основания (СНК-411) и соли (СНК-578) на модели системной реакции анафилаксии**

Введение 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в обеих формах в дозе 50 мг/кг вызывало значимое подавление системной реакции анафилаксии и снижение содержания иммуноглобулина Е в сыворотках крови мышей, сенсibilизированных овальбумином в 1,5 – 1,6 раз (Таблица 9) ( $p < 0,05$ ).

Таблица 9 – Влияние 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на концентрацию иммуноглобулина Е (IgE) в сыворотке крови мышей, иммунизированных овальбумином

Группы животных, n=10	Концентрация IgE (нг/мл) Me (Q1-Q4)
Интактный контроль	45,4 (27,56-72,58)
Активный контроль (Альбумин+гидроокись алюминия)	76,5 (65,5-100,0)*
Эриус 1,3 мг/кг	56,0 (47,7-72,5)*
СНК-411 25 мг/кг	68,8 (55,2-90,0)*
СНК-411 50 мг/кг	50,2 (30,6-64,3)**
СНК-578 25 мг/кг	61,0 (53,2-81,1)*
СНК-578 50 мг/кг	49,1 (44,4-51,1)**

Примечание: n- количество животных в группе, \* -  $p < 0,05$  по критерию Данна по сравнению с контрольной группой; \*\* -  $p < 0,05$  по критерию Данна по сравнению с активным контролем.

Согласно данным, представленным в таблице 10, иммунизация мышей овальбумином приводила к уменьшению концентрации Th1 цитокинов в сыворотках крови и увеличению концентрации Th2 цитокинов. Курсовое введение 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина и препарата Эриус снижало концентрацию Th2 цитокинов ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13 по сравнению с активным контролем.

Таблица 10 – Влияние 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на концентрацию цитокинов в сыворотке крови мышей, иммунизированных овальбумином

Группы животных, n=10	Концентрация цитокинов (пг/мл)							
	ИФН- $\gamma$	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-13	ИЛ-5	ИЛ-6	ИЛ-11	ИЛ-17-A
Контроль	245,77 $\pm$ 25,19	124,64 $\pm$ 17,42	14,28 $\pm$ 4,43	20,47 $\pm$ 2,56	34,46 $\pm$ 5,24	20,87 $\pm$ 5,82	107,55 $\pm$ 20,08	28,64 $\pm$ 7,51
Активный контроль	32,45 $\pm$ 8,04*	68,24 $\pm$ 3,39*	33,02 $\pm$ 2,57	39,27 $\pm$ 4,34	57,10 $\pm$ 7,44	59,06 $\pm$ 21,9*	95,20 $\pm$ 10,39	22,49 $\pm$ 2,05
Эриус 1,3 мг/кг	57,23 $\pm$ 8,40*	60,44 $\pm$ 9,30*	9,0 $\pm$ 0,63**	8,06 $\pm$ 2,98**	18,55 $\pm$ 0,40 **	40,28 $\pm$ 7,90	60,37 $\pm$ 18,7	15,08 $\pm$ 4,37
СНК-411 25 мг/кг	49,05 $\pm$ 9,98*	100,24 $\pm$ 14,18	9,14 $\pm$ 0,64**	1,65 $\pm$ 0,29**	16,54 $\pm$ 3,38**	27,34 $\pm$ 2,67	40,91 $\pm$ 8,14**	9,63 $\pm$ 1,56*
СНК-411 50 мг/кг	164,36 $\pm$ 16,79*	100,05 $\pm$ 10,07	10,05 $\pm$ 0,62**	5,34 $\pm$ 2,24**	21,87 $\pm$ 5,09**	95,21 $\pm$ 8,48	34,28 $\pm$ 5,45**	10,18 $\pm$ 2,70*
СНК-578 25 мг/кг	98,25 $\pm$ 37,55*	105,49 $\pm$ 14,8	12,47 $\pm$ 2,47**	5,68 $\pm$ 2,27**	18,46 $\pm$ 4,96**	30,04 $\pm$ 3,16	48,90 $\pm$ 11,4**	17,61 $\pm$ 3,38
СНК-578 50 мг/кг	305,26 $\pm$ 59,38	102,40 $\pm$ 17,66	10,32 $\pm$ 0,95**	5,38 $\pm$ 2,42**	26,14 $\pm$ 3,77**	2,75 $\pm$ 0,22**	30,58 $\pm$ 5,56**	15,89 $\pm$ 2,23

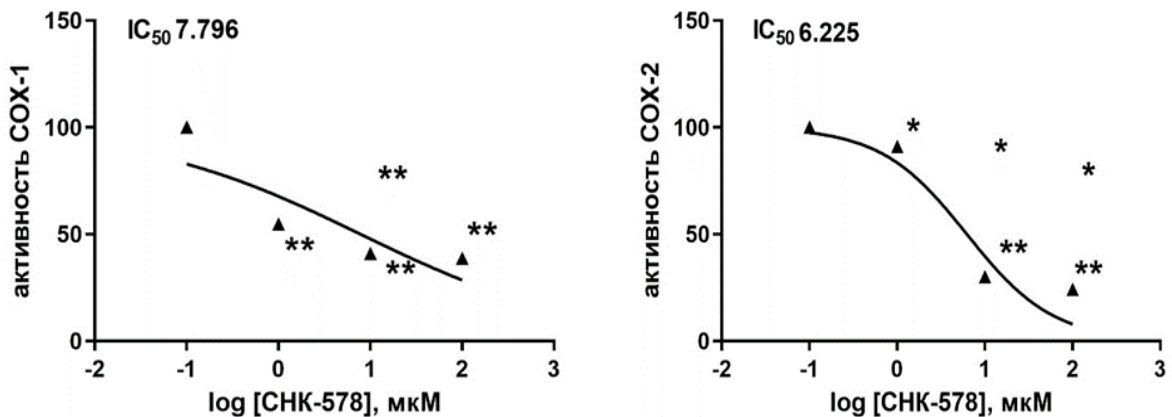
Примечание: n- количество животных в группе, \* –  $p < 0,05$  по критерию Тьюки по сравнению с интактным контролем; \*\* –  $p < 0,05$  по критерию Тьюки по сравнению с активным контролем.

Таким образом, 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (СНК-411) и соли (СНК-578) обладает противоаллергической активностью, подавляя реакцию системной анафилаксии, уровни IgE и Th2 цитокинов.

Результаты, полученные при оценке противовоспалительной активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на модели индуцированного полным адьювантом Фрейнда отека стопы и скакательного сустава, указывают на возможное подавление липооксигеназного пути воспаления, что целесообразно изучить в дальнейших исследованиях.

### Определение способности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде соли (СНК-578) ингибировать активность ферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2

Показно, что СНК-578 приводит к ингибированию активности ЦОГ-1 и ЦОГ-2 (Рисунок 1). В программном обеспечении GraphPad Prism 9.0 методом нелинейной регрессии был вычислен показатель  $IC_{50}$  и рассчитан индекс селективности СНК-578 (ЦОГ-2/ЦОГ-1 индекс), который составил 0,8.



Примечание: \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$  по сравнению с контрольной группой, однофакторный дисперсионный анализ с последующим тестом по Даннетту. Каждая точка на графике представляет  $Mean \pm SD$ ,  $n=3$ .

Рисунок 1 – График ингибирования ЦОГ-1 и ЦОГ-2 СНК-578

Таким образом, полученные результаты позволяют предполагать, что одним из механизмов поликомпонентного действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина является ЦОГ-опосредованная противовоспалительная активность данного соединения.

### Исследование влияния 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде соли (СНК-578) на клеточный цикл Т-лимфобластной лимфомы человека (Jurkat)

При культивировании клеток культуры Jurkat с доксорубицином и солью СНК-578 в течение 48 часов (Таблица 11) было определено, что под действием доксорубицина в концентрации  $10^{-5}$  М и СНК-578 концентрации  $10^{-4}$  М увеличивается доля клеток, находящихся

в G1 фазе клеточного цикла, и уменьшается доля клеток, находящихся в S фазе клеточного цикла, т.е. доксорубин и СНК-578 действуют в S фазе клеточного цикла.

Таблица 11 – Влияние доксорубина и СНК-578 на клеточный цикл при инкубации в течение 48 часов

Группы, n=8	G1, %	S, %	G2, %	M, %
Контроль	53,50 ±3,27	28,33±2,61	11,37±3,36	6,80±5,75
Доксорубин 10 <sup>-5</sup> М	67,25 ±1,92*а	18,61±1,44*	9,71±2,05	4,43±2,67
СНК-578- 10 <sup>-4</sup> М	57,85 ±2,25*	21,75±2,05*	12,72±4,4	7,68±5,46
СНК-578 -10 <sup>-5</sup> М	55,40 ±3,24	26,90±3,33	12,26±2,91	5,44±5,00

Примечание: n-количество наблюдений; \*- p<0,05 по критерию Тьюки по сравнению с контролем; а – p<0,05 по критерию Тьюки по сравнению с группой СНК-578 10<sup>-4</sup> М.

Таким образом, согласно полученным данным инкубация клеток Jurkat с доксорубином в концентрации 10<sup>-5</sup> М и с СНК-578 в концентрации 10<sup>-4</sup> М приводит к остановке клеточного цикла в фазе G1/S, что, возможно, является одним из механизмов противоопухолевого действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в форме соли.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные на моделях солидных опухолей данные о противоопухолевом действии 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина определяют перспективы дальнейшей его разработки в качестве средства для терапии солидных опухолей или комбинирования с цитостатиками в соответствии с критериями эффективности, приведенными в методических указаниях по доклиническому изучению соединений, обладающих противоопухолевой активностью. Центральным остается вопрос о поликомпонентном механизме действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина, в котором гармонично сочетаются противоопухолевая, противовоспалительная и иммуностропная компоненты. В ходе экспериментов установлено, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин в виде основания (СНК-411) и соли (СНК-578) обладает выраженной фармакологической активностью на трех опухолевых моделях (меланома В16, аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ и молочной железы Са755), а также на моделях системной анафилаксии и адьювантного артрита, указывающие на его иммуностропное и выраженное противовоспалительное действие различного генеза. Основное различие заключается в дозировке: для достижения одинакового эффекта доза соли СНК-578 (10 мг/кг) была в 2,5–3 раза ниже, чем эквивалентная доза основания СНК-411 (25–30 мг/кг). Этот факт, вероятно, обусловлен значительно лучшей растворимостью соли в воде, что приводит к её более высокой биодоступности при в/б введении.

## ВЫВОДЫ

1. 2-Изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин проявляет выраженную антиметастатическую активность на модели меланомы В16 в виде основания (СНК-411) в дозе 25 мг/кг и в виде соли (СНК-578) в дозе 10 мг/кг как в виде монотерапии, так и при сочетанном применении с доксорубицином в дозе 4 мг/кг.

2. 2-Изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин при 14-ти дневном введении как в виде основания (СНК-411) per os в дозе 25 мг/кг, так и в виде соли (СНК-578) в/б в дозе 10 мг/кг обладает способностью к торможению роста аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ более чем на 70% как при монотерапии, так и при сочетанном применении с доксорубицином (двукратное введение; доза 5 мг/кг).

3. 2-Изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин при сочетанном применении с гемцитабином на модели аденокарциномы молочной железы Са755 демонстрирует противоопухолевый эффект, увеличивает продолжительность жизни и предотвращает развитие анемии у мышей-опухоленосителей.

4. В опытах на мышах BALB/c на модели системной реакции анафилаксии на овальбумин показано, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин обладает противоаллергической активностью и снижает содержание иммуноглобулина Е, ИЛ-6 и Th2-цитокинов в сыворотке крови.

5. На модели адьювантного артрита 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин как в виде основания (СНК-411) в дозе 40 мг/кг, так и в виде соли (СНК 578) в дозе 25 мг/кг проявляет умеренные анальгетические и противовоспалительные свойства, также 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин повышает концентрацию гемоглобина в крови животных по сравнению с показателями крыс интактного контроля.

6. Исследования механизма противовоспалительного действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина показали, что СНК-578 ингибирует активность как циклооксигеназы-1, так и циклооксигеназы-2. На модели экссудативного отека, индуцированного полным адьювантом Фрейнда, 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин демонстрирует противовоспалительную активность.

7. Показано, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин в виде соли (СНК-578), как и доксорубицин, приводит к остановке клеточного цикла линии лимфобластной лейкемии Jurkat в фазе G1/S и не обладает генотоксичностью.

8. Согласно полученным данным, более перспективной для дальнейшего изучения формой 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина является его гидрохлорид (СНК-578).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

2-Изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин в виде соли (СНК-578) обладает широким спектром фармакологической активности и поликомпонентным механизмом действия, является перспективным для дальнейшего углубленного изучения механизмов его действия на T2 воспаление и возможного применения в качестве средства, дополняющего противоопухолевую химиотерапию.

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи

1. Никитин, С.В. Синтез, противоопухолевая и антиметастатическая активность производного 5-оксипиримидина / С.В. Никитин, Л.П. Коваленко, А.Г. Ребеко, **Р.В. Журиков** [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – № 8 (53). – С. 20-23.
2. **Журиков, Р.В.** Влияние производного 5-оксипиримидина на рост и метастазирование меланомы В16 у мышей линии С57BL/6 / **Р.В. Журиков**, Л.П. Коваленко, С.В. Никитин [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2021. – № 3 (20). – С. 66-72.
3. **Журиков, Р.В.** Противовоспалительное действие производных 5-оксипиримидина на модели индуцированного полным адьювантом Фрейнда отека стопы и скакательного сустава у крыс. / **Р.В. Журиков**, Л.П. Коваленко, С.В. Никитин // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2022. – № 3. – С. 33-36.
4. **Журиков, Р.В.** Влияние производных 5-оксипиримидина на противоопухолевый эффект гемцитабина, гематологические показатели и продолжительность жизни у мышей с аденокарциномой Са755 [и др.] // **Р.В. Журиков**, Л.П. Коваленко, С.В. Алексеева [и др.] // Вопросы Онкологии. – 2023. – № 2 (69). – С. 238-245.
5. Коваленко, Л.П. Влияние производных 5-оксипиримидина и препарата сравнения Эриус на выраженность системной реакции анафилаксии, уровень иммуноглобулина Е (IgE) и цитокинов у мышей линии BALB/c / Л.П. Коваленко, **Р.В. Журиков**, Е.А. Вальдман [и др.] // Медицинская иммунология. – 2024. – № 6 (26). – С. 1197-1204.
6. **Журиков, Р.В.** Влияние 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина гидрохлорида с противоопухолевой активностью на фазы клеточного цикла на модели Jurkat / **Р.В. Журиков**, А.А. Соколовская, Л.П. Коваленко, Л.Г. Колик // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2026. – № 1. – С.20-24.

### Тезисы

1. **Журиков, Р.В.** Изучение противоопухолевой и антиметастатической активности производного 5-оксипиримидина (СНК-411) / **Р.В. Журиков**, С.В. Никитин // Материалы Всероссийской научной конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора Никулина «Достижения современной фармакологической науки» под ред. Е.Н. Якушевой. – 2018. – С. 49-50.
2. **Журиков, Р.В.** Изучение эффектов производных 5-оксипиримидина на модели адьювантного артрита / **Р.В. Журиков**, С.В. Алексеева, С.В. Никитин // Экспериментальная и клиническая фармакология, Материалы VI съезда фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций. Новые идеи – новые лекарства». 2023. – Т. 86, № 11s. – С.56-57.
3. **Журиков, Р.В.** Влияние производных 5-оксипиримидина и препарата сравнения Эриус на выраженность системной реакции анафилаксии и уровень иммуноглобулина Е у самцов мышей линии BALB/c / **Р.В. Журиков**, Л.П. Коваленко, С.В. Никитин // Экспериментальная и клиническая фармакология, Материалы VI съезда фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций. Новые идеи – новые лекарства» – 2023. – Т.86, № 11S.– С.56.

4. Коваленко, Л.П. Противоопухолевые и антиметастатические свойства производных 5-оксипиримидина и их влияние на содержание проонкогенных цитокинов в сыворотках крови животных-опухоленосителей. / Л.П. Коваленко, **Р.В. Журиков**, Л.Ф. Зайнуллина [и др.] // Материалы I Всероссийской научно-практической конференции «Достижения и перспективы экспериментальной фармакологии в онкологии и радиационной медицине» (1 марта 2024 года). Обнинск: МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. – 2024 – С.32.

5. **Журиков, Р.В.** Доклиническое изучение гематопротекторных свойств производных 5-оксипиримидина на модели аденокарциномы молочной железы Ca755. / Р.В. Журиков, С.В. Алексеева, Л.П. Коваленко [и др.] // Материалы XII Всероссийской конференции с международным участием «Актуальные вопросы доклинических и клинических исследований лекарственных средств и клинических испытаний медицинских изделий» Санкт-Петербург. – 2025. – С.51.

#### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

в/б – внутрибрюшинное, ИЛ – интерлейкин, СПЖ – средняя продолжительность жизни, ТРО – торможение роста опухоли, ИИМ – индекс ингибирования метастазирования, УПЖ – увеличение продолжительности жизни, ЦОГ - циклооксигеназа