

Міністерство освіти і науки України
Львівський національний університет імені Івана Франка



ПРОТИПУХЛИННІ ПЕРСПЕКТИВИ СУЛЬФУРОВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ

Монографія

За редакцією професора *А. М. Бабського*

Львів
2022

УДК 615.277.3:547.8

П 83

Автори: А. М. Бабський, В. П. Гренюх, О. С. Заїченко, О. Ю. Ключівська, Л. І. Кобилінська, О. Р. Кулачківський, С. М. Мандзинець, Н. Є. Мігіна, М. Д. Обушак, Ю. В. Остап'юк, Р. Р. Панчук, М. В. Попович, Р. С. Стойка, Н. С. Фінюк, Я. Р. Шалай

Рецензенти: д. б. н., акад. НАН України, проф. С. О. Костерін
(Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України, Київ);
д. х. н., акад. НАН України, проф. В. І. Кальченко
(Інститут органічної хімії НАН України, Київ)

Друкується за ухвалою Вченої ради Львівського національного університету імені Івана Франка (протокол № 16/9 від 25 вересня 2021 р.)

П 83 **Противухлинні перспективи сульфуровмісних гетероциклів** : монографія [А. М. Бабський, В. П. Гренюх, О. С. Заїченко та ін.] ; за ред. проф. А. М. Бабського. – Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2022. – 112 с. – (Серія “Біологічні Студії”).

ISBN 978-966-613-752-7 (серія)

ISBN 978-617-10-0691-1

Монографія охоплює важливі аспекти досліджень потенційно противухлинної дії сульфуровмісних гетероциклів на молекулярному, субклітинному, клітинному та органному рівнях організації. Встановлено, що новосинтезовані похідні 2-аміно-5-бензилтіазолу є ефективними інгібіторами клітинного циклу у фазі G2/M ракових клітин ліній U251 і T98G гліобластоми людини та лінії MDA231 аденокарциноми молочної залози людини. Виявлено сполуку цитотоксичну щодо медикаментозно стійкої сублінії клітин HL-60/ADR гострого промієлоцитарного лейкозу людини. Поряд із тим, похідні тіазолу були малотоксичні щодо псевдонормальних ембріональних клітин нирки людини та клітин шкіри – кератиноцитів. Похідні 2-аміно-5-бензилтіазолу також індукують мітохондріальний механізм апоптозу в гліомних клітинах ліній U251 і T98G та лейкозних клітинах ліній HL-60 і K562. Дія досліджуваних похідних тіазолу важливим чином скерована також на активність ферментів антиоксидантної системи клітин лімфоми. Ці речовини призводять до підвищення активності супероксиддисмутази у клітинах лімфоми та знижують активність каталази і глутатіонпероксидази, що може зумовлювати токсичне накопичення H₂O₂ у пухлинних клітинах і спричиняти розриви ДНК, апоптоз і зниження інтенсивності гліколізу. Ці ключові ферменти антиоксидантного захисту можуть бути мішенями для противухлинних препаратів, оскільки зміни ферментативної активності впливатимуть на рівень вмісту первинних і вторинних продуктів ПОЛ, які можуть бути токсичними для ракових клітин. З іншого боку похідні тіазолу в концентраціях рівновеликих значенню IC₅₀ для пухлинних клітин і навіть у десять разів вищих не проявляли цитотоксичної та генотоксичної активності в ана-телофазному тесті. Похідні на основі 4-тіазолідинону мають антинеопластичну активність *in vitro* та противухлинну активність *in vivo*. Окрім противухлинної активності, похідні 4-тіазолідинону здатні знижувати рівень вільних радикалів, який є важливим для інактивації шкідливих вільнорадикальних метаболітів у біологічних системах. Оскільки досліджувані похідні тіазолу виявляють високу селективну цитотоксичність стосовно пухлинних клітин і суттєво менше впливають на неракові клітини, то ці речовини є перспективними як противухлинні препарати і надалі можуть бути використані для доклінічних досліджень.

Для біологів, хіміків і медиків, яких цікавлять проблеми онкології та пошук нових противухлинних препаратів, а також для студентів і аспірантів медико-біологічного профілю.

УДК 615.277.3:547.8

ISBN 978-966-613-752-7 (серія)

ISBN 978-617-10-0691-1

© А. М. Бабський, В. П. Гренюх,
О. С. Заїченко та ін., 2022

© Львівський національний
університет імені Івана Франка, 2022

ЗМІСТ

Від редактора	4
Список прийнятих скорочень	6
<i>Ю. В. Остап'юк, М. Д. Обушак</i> Синтез похідних 2-амінотіазолу	7
<i>Н. С. Фінюк, Р. Р. Панчук, Р. С. Стойка</i> Вплив сульфуровмісних сполук на клітинний цикл пухлинних клітин	21
<i>Н. С. Фінюк, О. Ю. Ключівська, Р. С. Стойка</i> Індукція апоптозу сульфуровмісними сполуками в пухлинних клітинах	27
<i>Я. Р. Шалай, М. В. Попович, С. М. Мандзинець, А. М. Бабський</i> Роль вільнорадикальних процесів у антинеопластичній активності похідних тіазолу	41
<i>Я. Р. Шалай, Н. С. Фінюк, М. В. Попович, С. М. Мандзинець, А. М. Бабський</i> Аналіз імовірних побічних ефектів похідних тіазолу	49
<i>В. П. Гренюх, А. М. Бабський</i> Біоенергетичні процеси у мітохондріях ракових клітин	57
<i>Н. С. Фінюк, Н. Є. Мітіна, О. С. Заїченко, Р. С. Стойка</i> Антинеопластична активність <i>in vitro</i> похідного бензилтіазолу в комплексі з полімерними носіями	71
<i>Я. Р. Шалай, С. М. Мандзинець, М. В. Попович, В. П. Гренюх, О. Р. Кулачковський, А. М. Бабський</i> Вплив похідного тіазолу на ультраструктуру клітин лімфоми Немет–Келнера	81
<i>Л. І. Кобилінська</i> Характеристика похідних 4-тіазолідинону й аналіз їхньої протипухлинної активності	85
<i>Р. С. Стойка</i> Гетероциклічні сполуки: підсумки і перспективи	101

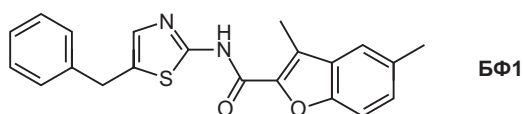
ІНДУКЦІЯ АПОПТОЗУ СУЛЬФУРОВМІСНИМИ СПОЛУКАМИ В ПУХЛИННИХ КЛІТИНАХ

Хіміотерапія поряд із хірургічним втручанням і променевою терапією належить до основних методів лікування онкологічних хворих. Хіміотерапію застосовують для пригнічення проліферації пухлинних клітин, прогресування захворювання та метастазування [Bailly *et al.*, 2020; Foster *et al.*, 2020; Rivera Vargas and Apetoh, 2017]. Одним із найголовніших протипухлинних механізмів дії хіміопрепаратів є індукція апоптозу злякисних клітин [Johnstone *et al.*, 2002; Fulda & Debatin, 2006; de Bruin & Medema, 2008]. Апоптоз – це регульована клітинна загибель, перевагою якої є те, що поява апоптотичних клітин не зумовлює запальний процес в організмі [de Bruin & Medema, 2008; D’Arcy, 2019]. Проте більшість хіміотерапевтичних чинників мають низьку селективність і тому пошкоджують як пухлинні, так і здорові клітини/тканини, що призводить до важких побічних ефектів в організмі [Gagliardi *et al.*, 2021; Wen *et al.*, 2019; Monteiro *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2017]. Іншою серйозною проблемою протипухлинної хіміотерапії є те, що більшість її чинників спричиняють розвиток множинної медикаментозної резистентності, тому треба постійно вдосконалювати наявні та створювати нові протипухлинні субстанції [Johnstone *et al.*, 2002; Fulda & Debatin, 2006; de Bruin & Medema, 2008].

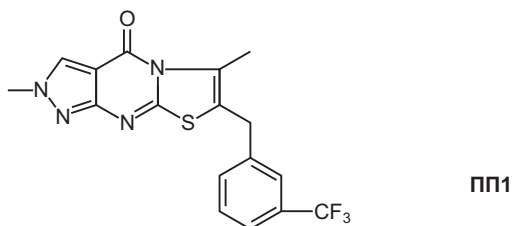
У цьому розділі описано результати дослідження цитотоксичної дії нових похідних 2-аміно-5-бензилтіазолу (рис. 1) щодо пухлинних і псевдонормальних клітин людини *in vitro* [Finiuk *et al.*, 2017; 2018]. Для оцінювання цитотоксичної активності сполук використовували показник IC_{50} (inhibiting concentration – концентрація речовини, за дії якої гине 50 % клітин, порівняно з контролем). Для тестування життєздатності клітин використовували реагент 3-[4,5-диметилтіазол-2-іл]-2,5-дифеніл-тетразолій бромід (МТТ).

Встановлено, що похідні 2-аміно-5-бензилтіазолу проявляють токсичну дію щодо пухлинних клітин різного тканинного походження [Finiuk *et al.*, 2017; 2018]. Наприклад, похідне тіазолу *N*-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід (сполука **БФ1**) діяло токсично на клітини лінії HepG2 гепатокарциноми людини ($IC_{50} = 0,8 \pm 0,04$ мкМ) [Finiuk *et al.*, 2021a], лінії WM793 меланоми людини ($IC_{50} = 7,2 \pm 0,48$ мкМ) [Finiuk *et al.*, 2017], лінії U251 гліобластоми людини ($IC_{50} = 9,8 \pm 0,82$ мкМ), лінії T98G гліобластоми людини

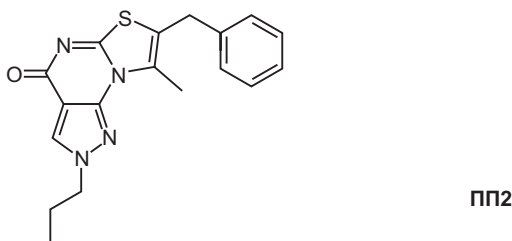
($IC_{50} = 9,44 \pm 0,03$ мкМ) [Finiuk *et al.*, 2017; Finiuk *et al.*, 2019a], лінії HCT116 карциноми товстої кишки людини ($IC_{50} = 15,5 \pm 1,07$ мкМ), лінії MCF-7 карциноми молочної залози людини ($IC_{50} = 15,8 \pm 1,4$ мкМ) і лінії MDA-MB-231 карциноми молочної залози людини ($IC_{50} = 26,5 \pm 2,1$ мкМ) [Finiuk *et al.*, 2021b] (табл. 1). БФ1 має приблизно у 20 разів більш виражену цитотоксичність щодо клітин гліобластоми людини ліній U251 і T98G порівняно з ефектами темозоламіду, який традиційно використовують у хіміотерапії гліом і гліобластом, та удвічі більшу цитотоксичність, ніж доксорубіцин [Finiuk *et al.*, 2019a]. БФ1 також має виражену токсичність щодо клітин лінії HCT116 p53/- карциноми прямої кишки людини, що характеризується делецією гена *P53*, задіяного в регуляції апоптозу ($IC_{50} = 6,1 \pm 0,44$ мкМ).



N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід



2,8-Диметил-7-(3-трифторметил-бензил)піразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4-он



7-Бензил-8-метил-2-пропілпіразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-он

Рис. 1. Хімічна структура *N*-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід (сполука БФ1), 2,8-диметил-7-(3-трифторметил-бензил)піразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4-он (сполука ПП1) і 7-бензил-8-метил-2-пропілпіразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-он (ПП2)

Похідні тіазолу 2,8-диметил-7-(3-трифторметил-бензил)піразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4-он (сполука ПП1) і 7-бензил-8-метил-2-пропілпіразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-он (ПП2) виявляли токсичність щодо клітин ліній HL-60, Jurkat і K562 лейкозу людини із показником IC_{50} на рівні 0,09–3,1 мкМ [Finiuk *et al.*, 2018, Finiuk *et al.*, 2019b]. Речовина ПП1 проявила удвічі більшу токсичність щодо стійкої до медикаментів сублінії клітин HL-60/ADR

гострого промієлоцитарного лейкозу людини, що характеризується надекспресією білка MRP-1, порівняно з ефектом доксорубіцину ($IC_{50} = 3,9 \pm 0,27$ мкМ – для ПП2, $IC_{50} = 8,9 \pm 0,65$ мкМ – для доксорубіцину) [Finiuk *et al.*, 2018] (табл. 2). Антинеопластичний ефект речовин ПП1 і ПП2 знижувався у порядку: лейкоз > меланома > гепатокарцинома > гліобластома > рак прямої кишки > карцинома молочної залози та карцинома яєчника [Finiuk *et al.*, 2018].

Таблиця 1

Цитотоксичність (показник IC_{50}) для похідного *N*-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксаміду (БФ1) щодо різних клітинних ліній ссавців (МТТ тест, дія чинника протягом 72 год)

Лінії клітин	IC_{50} для БФ1, мкМ ($M \pm \sigma$)
Клітини HL-60 гострого промієлоцитарного лейкозу людини	$0,6 \pm 0,07$
Клітини HepG2 гепатокарциноми людини	$0,8 \pm 0,04$
Клітини C6 гліоми щура	$2,1 \pm 0,04$
Клітини WM793 меланоми людини	$7,2 \pm 0,48$
Клітини U251 гліобластоми людини	$9,8 \pm 0,82$
Клітини U373 гліобластоми людини	$9,4 \pm 0,03$
Клітини T98G гліобластоми людини	$12,6 \pm 1,35$
Клітини HCT116 карциноми товстої кишки людини	$15,5 \pm 1,07$
Клітини MCF-7 карциноми молочної залози людини	$15,8 \pm 1,4$
Клітини MDA-MB-231 карциноми молочної залози людини	$26,5 \pm 2,1$
Т-клітини Jurkat лейкозу людини	$27,0 \pm 2,13$
Клітини SKOV3 карциноми яєчника людини	$43,0 \pm 5,0$
Клітини A549 карциноми легень людини	> 50
Клітини K562 хронічного мієлоїдного лейкозу людини	> 50
Кератиноцити HaCaT людини	> 50
Клітини HEK293 нирки ембріона людини	> 50
Фібробласти NIH3T3 миші	> 50

Встановлено, що похідні 2-аміно-5-бензилтіазолу мають низьку токсичність щодо псевдонормальних клітин ссавців. Наприклад, речовина БФ1 не досягала показника IC_{50} за 50 мкМ щодо клітин ліній HaCaT, HEK293, NIH3T3 (табл. 1). Показник цитотоксичності (IC_{50}) похідного ПП1 становив $30,0 \pm 2,88$ мкМ для клітин лінії HEK293, $17,4 \pm 0,15$ мкМ – для клітин лінії HaCaT, $20,8 \pm 2,1$ мкМ – для клітин лінії J774.2. Речовина ПП2 проявила подібну токсичну дію щодо клітин ліній HEK293, HaCaT, J774.2, показник IC_{50} становив $33,2 \pm 3,27$ мкМ, $29,5 \pm 0,31$ мкМ і $22,7 \pm 2,2$ мкМ, відповідно. Похідні 2-аміно-5-бензилтіазолу були менш токсичними щодо псевдонормальних клітин, ніж доксорубіцин [Finiuk *et al.*, 2017; Finiuk *et al.*, 2018].

Таблиця 2

Цитотоксичність (показник IC_{50}) для похідного 2,8-диметил-7-(3-трифторметил-бензил) піразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4-он (сполука ПП1) і 7-бензил-8-метил-2-пропілпіразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-он (ПП2) щодо різних ліній клітин ссавців (за даними МТТ тесту через 72 год дії чинника)

Лінії клітин	IC_{50} для ПП1, мкМ ($M \pm \sigma$)	IC_{50} для ПП2, мкМ ($M \pm \sigma$)
Клітини HL-60 гострого промієлоцитарного лейкозу людини	0,090 \pm 0,008	0,096 \pm 0,010
Клітини HL-60/ADR гострого промієлоцитарного лейкозу людини (резистентні до дії доксорубіцину)	3,9 \pm 0,27	11,2 \pm 0,97
Клітини K562 хронічного еритромієлолейкозу людини	3,0 \pm 0,09	3,1 \pm 0,13
Клітини SK-MEL-28 меланоми людини	7,2 \pm 0,57	8,2 \pm 0,93
Клітини HepG2 гепатокарциноми людини	25,2 \pm 1,47	26,4 \pm 2,24
Клітини U251 гліобластоми людини	31,9 \pm 2,22	21,5 \pm 1,93
Клітини HCT116 карциноми товстої кишки людини	32,4 \pm 2,87	40,0 \pm 4,20
Клітини MCF-7 карциноми молочної залози людини	> 50	> 50
Клітини SKOV3 карциноми яєчника людини	> 50	> 50
Клітини HEK293 нирки ембріона людини	30,0 \pm 2,88	33,2 \pm 3,27
Клітини HaCaT кератиноцити людини	17,4 \pm 0,15	29,5 \pm 0,31
Мишачі макрофаги J774.2	20,8 \pm 2,1	22,7 \pm 2,2

Відомо, що похідні тіазолу, які мають протипухлинну активність, діють як інгібітори полімеризації мікротрубочок і протеїнкіназ (таких як PI3K, CDK, LIM кінази, EGFR and VEGF), впливаючи на білок p53, який є супресором пухлин, як індуктори апоптозу, як інгібітори мітозу, а також як антиметастатичні засоби [Aly *et al.*, 2020; Ayati *et al.*, 2019; Jain *et al.*, 2018; Sharma *et al.*, 2020].

Апоптоз регулюється як через внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, так і через рецептор-опосередкований шлях. Інактивація апоптозу є однією з основних причин прогресування раку й уникнення пухлинними клітинами апоптозу, що призводить до розвитку медикаментозної резистентності клітин [Johnstone *et al.*, 2002; Fulda and Debatin, 2006; de Bruin and Medema, 2008]. Морфологічне дослідження апоптотичних клітин виявило такі зміни, як вип'ячування мембрани, фрагментація та/чи конденсація ядра, утворення апоптотичних тіл [D'Arcy, 2019; Näcker, 2000].

Протеолітичні клітинні ензими, зокрема, каспази 2, 3, 6, 7, 8, 9 та 10 є ключовими медіаторами апоптозу. Каспази 2, 8, 9 та 10 належать до ініціаторних каспаз (initiator caspases), тоді як каспази 3, 6 та 7 є виконавчими каспазами під час апоптозу (executioner caspases), активуються висхідними промоторами, можуть розщеплювати багато структурних і функціональних білків, зокрема,

полі-АДФ-рибозилполімерази (PARP) [Kumar, 2007]. PARP – важливий ензим, необхідний для відновлення ДНК, який виявляє пошкоджену ДНК і зв’язується з нею та білками, пов’язаними з репарацією ДНК, підтримуючи виживання клітин і стабільність їхнього геному. Однак, коли ДНК сильно пошкоджена, надмірно активований PARP призводить до загибелі клітин через вичерпання енергії, необхідної для процесів відновлення пошкодженої ДНК. Крім того, полі(АДФ-рибоза), яка утворюється у разі активації PARP, може руйнувати мітохондрії та вивільняти чинник, що індукує апоптоз [Ivana Scovassi & Diederich, 2004].

Активація каспаз-виконавців ініціює каскад подій, який призводить до фрагментації ДНК унаслідок активації ендонуклеаз, руйнування ядерних білків і цитоскелету, ковалентного зшивання білків, експресії лігандів для фагоцитарних клітин і утворення апоптотичних тіл [D’Arcy, 2019; Poon *et al.*, 2014]. Білки родини Bcl-2 відіграють значну роль у виживанні клітин. Родина Bcl-2 містить як проапоптотичні, так і антиапоптотичні білки. Bad, Bax і PUMA є проапоптотичними білками родини Bcl-2, які в основному розташовані в цитоплазмі. Після індукції апоптотичними факторами вони сходяться до зовнішньої мембрани мітохондрій, утворюючи трансмембранні канали, що дають мітохондріям змогу вивільняти цитохром *c* й активувати каспази, сприяючи апоптозу. Білок Bcl-2 є антиапоптотичним чинником із родини Bcl-2, який розташований на зовнішній мембрані мітохондрій та інгібує апоптоз клітин, блокуючи вивільнення цитохрому *c* з мітохондрій. Bcl-2 може також локалізуватись у мембрані ендоплазматичного ретикулуму та ядра і здійснювати там антиапоптотичні функції [Oltersdorf *et al.*, 2005; Murphy *et al.*, 2013; D’Arcy, 2019].

Досліджено морфологічні зміни за дії сполуки БФ1 на клітини ліній U251 і T98G гліобластоми людини. Досліджувана речовина спричиняла помітні морфологічні зміни у клітинах лінії U251 і T98G. Більшість клітин за дії сполуки БФ1 набули заокругленої форми із вип’ячуваннями плазматичної мембрани, також спостерігали фрагментацію ядра і конденсацію хроматину клітин лінії U251 (рис. 2) і T98G (рис. 3). Зростання інтенсивності червоного світіння флуоресцентного барвника пропідію йодиду в клітинах свідчить про те, що речовина БФ1 зумовлювала також некротичні зміни у клітинах лінії U251 (рис. 2) і T98G (рис. 3) гліобластоми людини [Finiuk *et al.*, 2019a].

Речовина БФ1 індукує однострункові розриви в ДНК клітин ліній U251 і T98G (рис. 4), речовини ПП1 і ПП2 – у клітинах лінії HL-60 гострого промієлоцитарного лейкозу людини і K562 хронічного еритромієлолейкозу людини. Показник ОТМ (Olive Tail Moment) використовували як параметр для аналізу пошкодження ДНК за результатами ДНК-комет аналізу за лужних умов. Речовина БФ1 (10 мкМ) пошкоджувала ДНК у клітинах лінії U251 (ОТМ = 8,43) і клітинах лінії T98G (ОТМ = 8,76) [Finiuk *et al.*, 2019a]. Сполука ПП1 індукувала пошкодження ДНК у клітинах лінії HL-60 з показником ОТМ = 11,0, сполука ПП2 – з показником ОТМ = 14,9. Подібний показник пошкодження ДНК спостерігали у клітинах лінії K562 за дії ПП1 і ПП2 (ОТМ = 10,5 для сполуки ПП1 та ОТМ = 10,1 для сполуки ПП2 [Finiuk *et al.*, 2019b]. Певне пошкодження ДНК

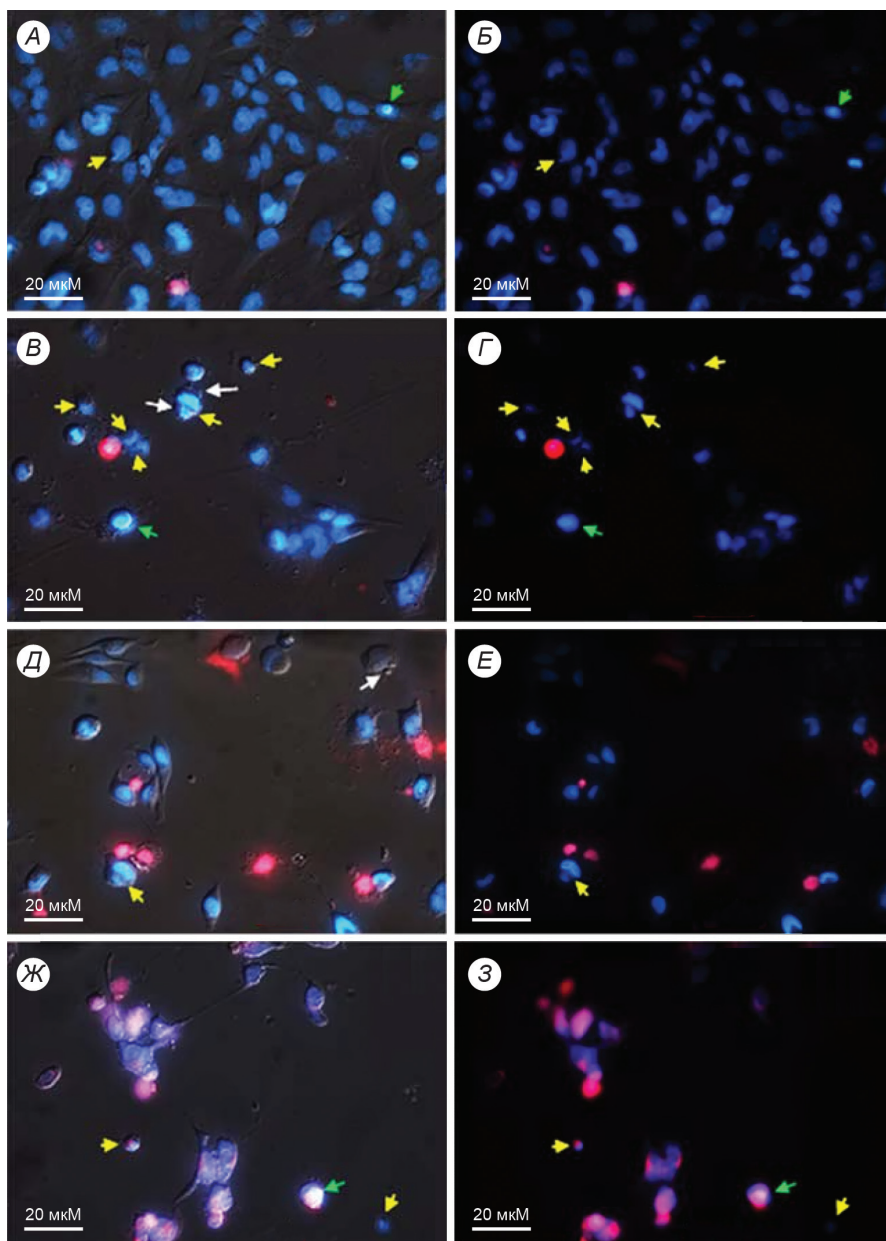


Рис. 2. Фотографії клітин лінії U251 гліобластоми людини за дії досліджуваних речовин: А, Б – контрольна група клітин; В, Г – сполуки БФ1 (10 мкМ); Д, Е – темозоломід (300 мкМ); Ж, З – доксорубіцину (20 мкМ). Зліва – комбіноване зображення клітин у режимі диференційно-інтерференційного контрасту (ДІК) та забарвлених флуоресцентними барвниками Hoechst-33342 і пропідію йодидом. Праворуч – флуоресцентне зображення оброблених клітин (синій колір – забарвлення флуоресцентним ДНК-специфічним барвником Hoechst-33342, червоний – забарвлення ДНК/РНК-специфічним флуоресцентним барвником пропідію йодидом). Жовті стрілки позначають фрагментацію хроматину, зелені стрілки – конденсацію хроматину, білі стрілки – вип'ячування плазматичної мембрани

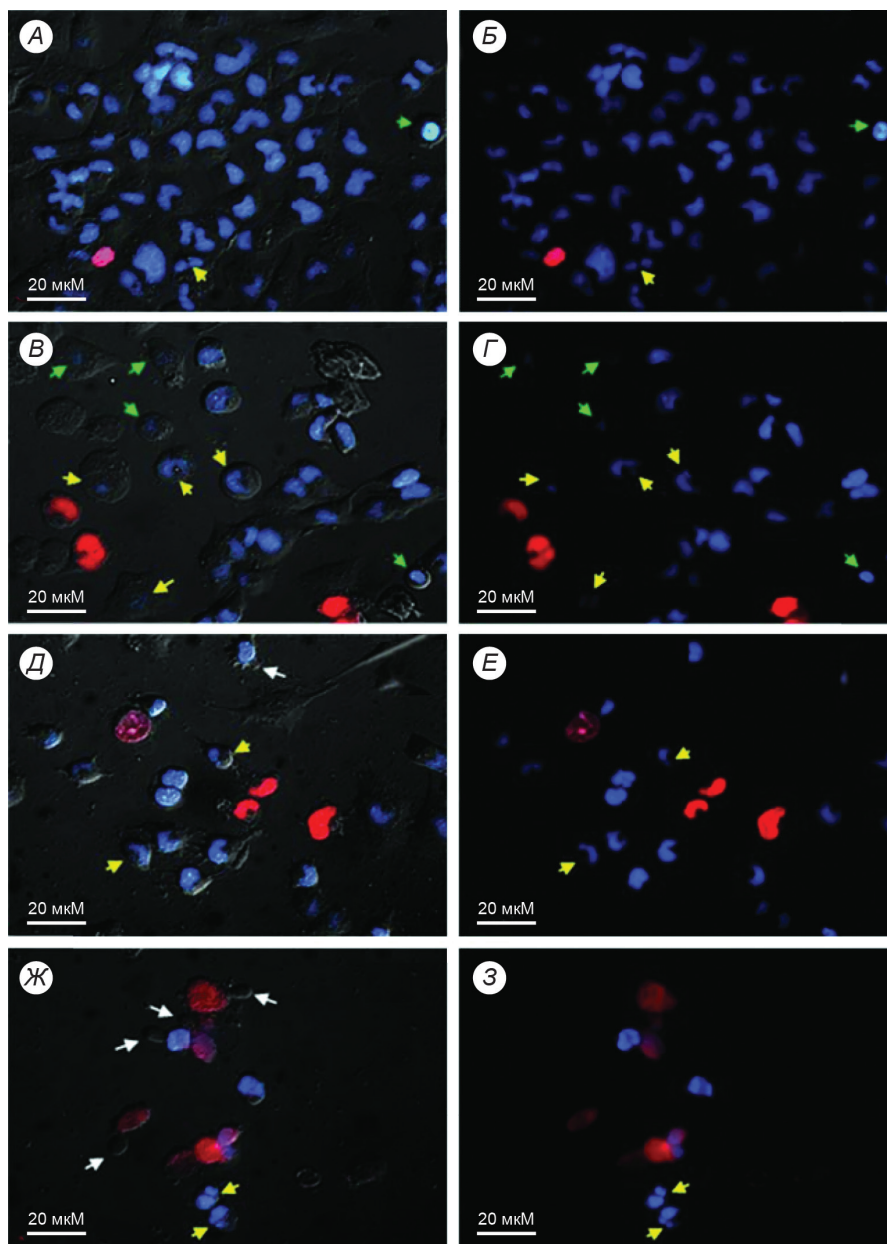


Рис. 3. Фотографії клітин лінії T98G гліобластоми людини за дії досліджуваних речовин: А, Б – контрольна група клітин; В, Г – сполуки БФ1 (10 мкМ); Д, Е – темозоломід (250 мкМ); Ж, З – доксорубіцину (20 мкМ). Зліва – комбіноване зображення клітин у режимі диференційно-інтерференційного контрасту (ДІК) і забарвлених флуоресцентними барвниками Hoechst-33342 та пропідію йодидом. Праворуч – флуоресцентне зображення оброблених клітин (синій колір – забарвлення флуоресцентним ДНК-специфічним барвником Hoechst-33342, червоний – забарвлення ДНК/РНК-специфічним флуоресцентним барвником пропідію йодидом). Жовті стрілки позначають фрагментацію хроматину, зелені стрілки – конденсацію хроматину, білі стрілки – вип'ячування плазматичної мембрани

виявлено в контрольних (необроблених) клітинах: ОТМ = 2,11 для клітин лінії U251, ОТМ = 1,86 для клітин лінії T98G [Finiuk *et al.*, 2019a], ОТМ = 2,4 для клітин лінії HL-60, ОТМ = 1,7 для клітин лінії K562 [Finiuk *et al.*, 2019b]. Сполуки ПП1 і ПП2 стимулюють фрагментацію ДНК у лейкозних клітинах лінії HL-60 і K562 [Finiuk *et al.*, 2019b].

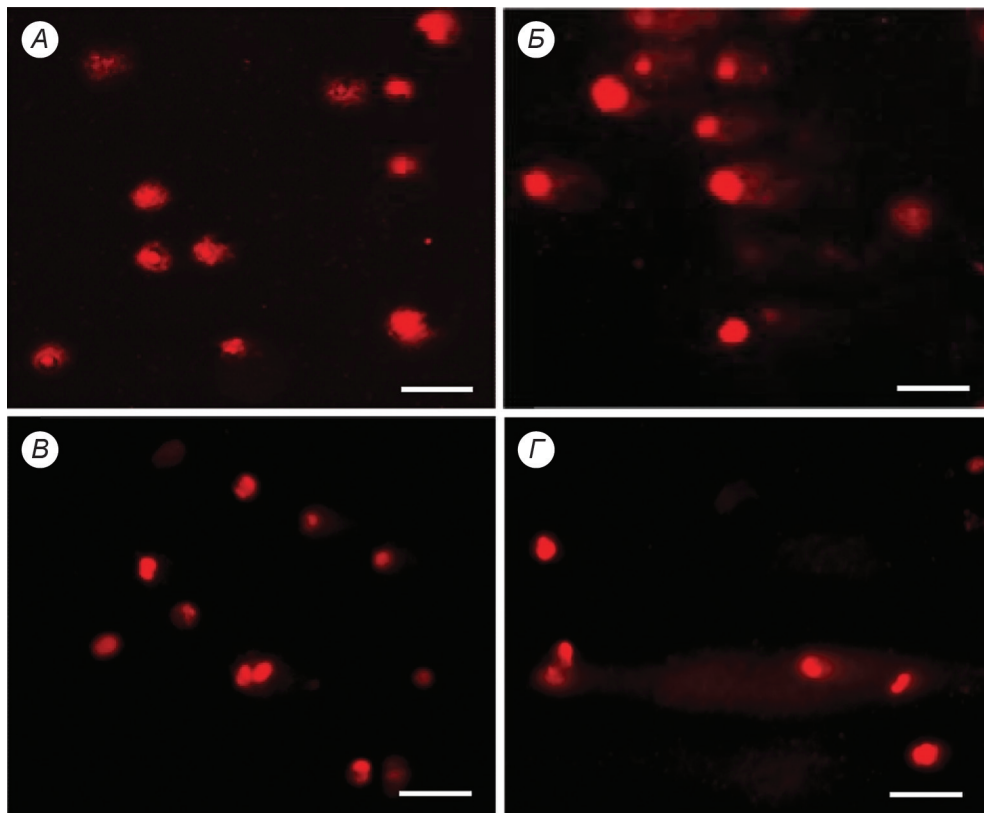


Рис. 4. Ілюстрація пошкодження ДНК за дії БФ1 у клітинах гліобластоми людини (за результатами ДНК-комет аналізу за лужних умов): фото комет у контрольній групі клітин лінії U251 (А), за дії БФ1 (10 мкМ) на клітини лінії U251 (Б), у контрольній групі клітин лінії T98G (В), за дії БФ1 (10 мкМ) на клітини лінії T98G (Г) на 6-ту годину дії досліджуваних речовин. Лінійка на фотографіях відповідає 40 мкм

Антинеопластичний потенціал більшості протипухлинних чинників, які використовують у хіміотерапії (алкілюючі чинники, рослинні алкалоїди, анти-метаболіти, сполуки платини, антрацикліни), значною мірою реалізується через індукцію апоптозу.

За дії БФ1 спостерігали зростання рівня активної форми каспази 3 і розщепленої PARP1 (полі-АДФ-рибозилполімерази) в клітинах ліній U251 і T98G порівняно з контролем, що свідчить про втрату здатності клітин до репарації ДНК, а отже, про запуск процесу апоптозу в гліомних клітинах ліній U251

і T98G. Речовина БФ1 збільшувала кількість проапоптотичних білків Вах та Вім у гліомних клітинах людини. За дії БФ1 виявлено зменшення вмісту фосфорильованої форми білка ERK1/2, задіяного у MAPK-кіназному сигнальному шляху [Finiuk *et al.*, 2019a].

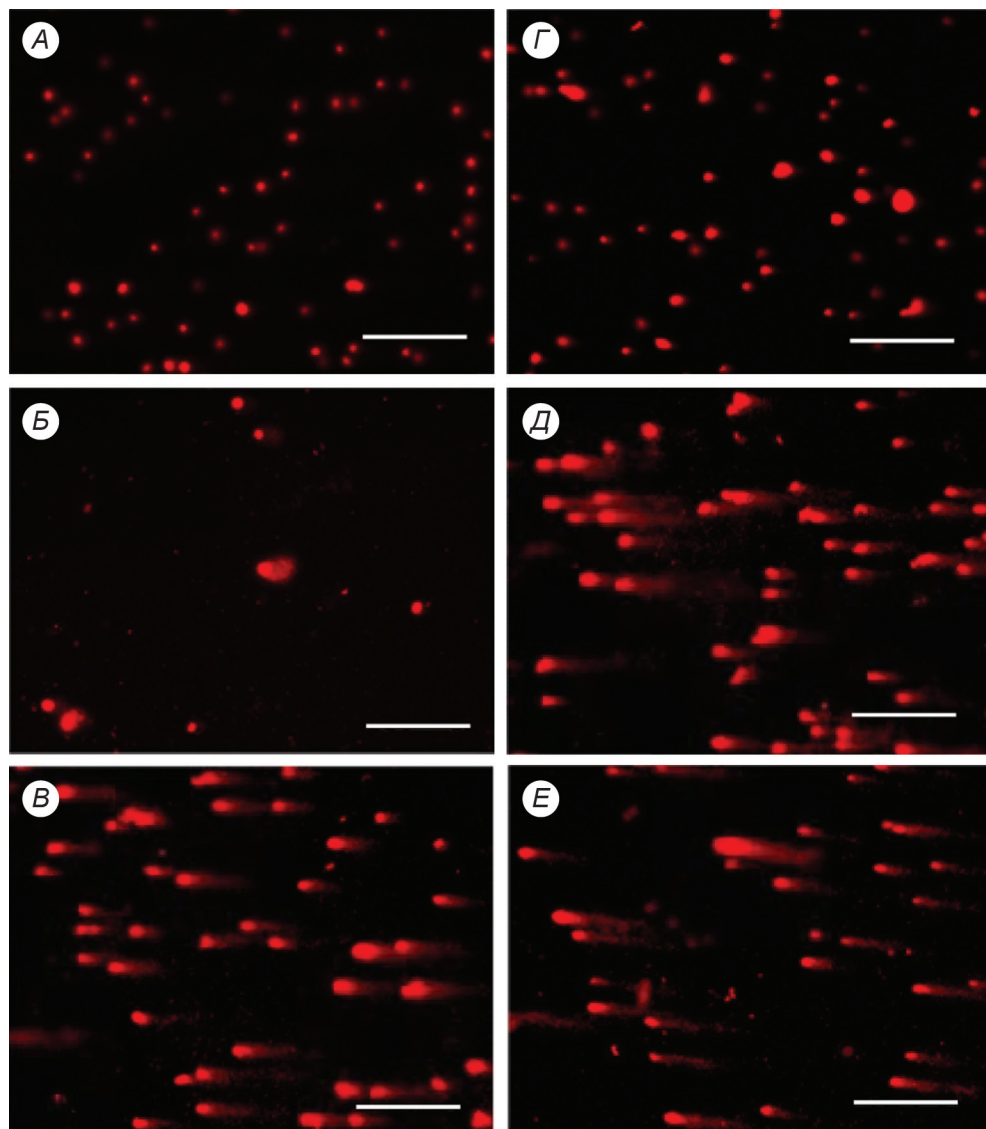


Рис. 5. Ілюстрація пошкодження ДНК за дії похідних ПП1 і ПП2 у клітинах лінії HL-60 гострого промієлоцитарного лейкозу людини і K562 хронічного еритромієлолейкозу людини (за результатами ДНК-комет аналізу за лужних умов): фото комет у контрольній групі клітин лінії HL-60 (А), за дії ПП1 (0,09 мкМ) на клітини лінії HL-60 (Б), за дії ПП2 (0,09 мкМ) на клітини лінії HL-60 (В), у контрольній групі клітин лінії K562 (Г), за дії ПП1 (3 мкМ) на клітини лінії K562 (Д), за дії ПП1 (3 мкМ) на клітини лінії K562 (Е) на 24-ту годину дії досліджуваних речовин. Лінійка на фотографіях відповідає 40 мкм

Виявлено зростання кількості активованої форми ефекторної каспази 3, розщепленої форми PARP1 та збільшення кількості ендонуклеази EndoG за дії речовин ПП1 і ПП2 в клітинах лінії HL-60 гострого промієлоцитарного лейкозу людини і лінії K562 хронічного еритромиєлолейкозу людини. Білок EndoG вивільняється з мітохондрій упродовж апоптозу і зумовлює фрагментацію ДНК в ядрі [Zhdanov *et al.*, 2015]. За дії речовин ПП1 і ПП2 спостерігали зниження рівня Bcl-2, антиапоптотичного білка родини Bcl-2, і зростання кількості Bim, проапоптотичного білка родини Bcl-2. Речовина ПП2 зменшувала кількість фосфорильованої форми ERK1/2, задіяного у MAPK-кіназному сигнальному шляху [Finiuk *et al.*, 2019b].

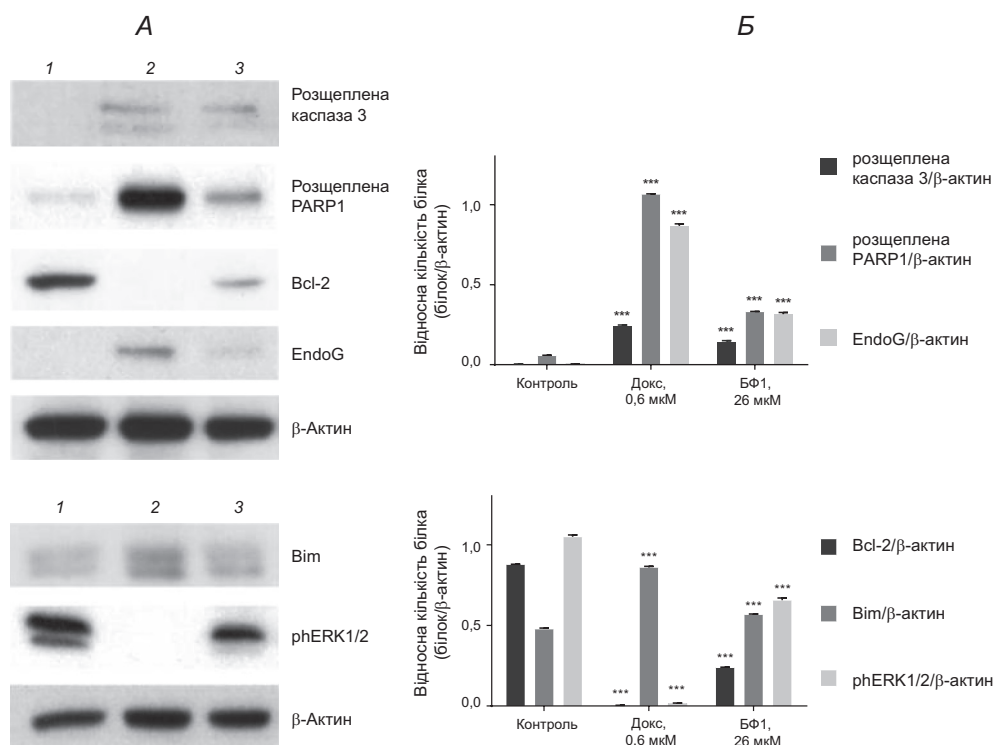


Рис. 6. Результати Вестерн-блот аналізу (А) і денситометрії (Б) білків, задіяних в індукції апоптозу в клітинах MDA231 аденокарциноми молочної залози людини за дії досліджуваних речовин: 1 – контроль; 2 – доксорубіцин (Докс, 0,6 мкМ); 3 – БФ1 (26 мкМ) через 48 год дії речовин

За дії БФ1 спостерігали зростання активної форми каспази 3 і розщепленої інактивованої PARP1 у клітинах лінії MDA-MB-231 аденокарциноми молочної залози людини порівняно з контролем. Речовина БФ1 збільшувала вміст проапоптотичного білка Bim і зменшувала вміст антиапоптотичного білка Bcl-2 у клітинах лінії MDA-MB-231. За дії БФ1 виявлено зменшення фосфорильованої форми білка ERK1/2 у клітинах лінії MDA-MB-231. БФ1 збільшувала вміст ендонуклеази EndoG у клітинах лінії MDA-MB-231 (рис. 6).

Отже, розщеплення каспази 3 та ензиму PARP1 відіграє важливу роль у пошкодженні ДНК клітин-мішеней за дії похідних БФ1, ПП1 і ПП2. Вплив цих похідних на кількість фосфорильованої форми ERK1/2 свідчить про їхній опосередкований вплив на ендоплазматичний ретикулум клітини. Варто відзначити й залучення мітохондріального шляху апоптозу в цитотоксичну дію похідних БФ1, ПП1 і ПП2 щодо пухлинних клітин гліобластоми, карциноми молочної залози та лейкозу (рис. 7).

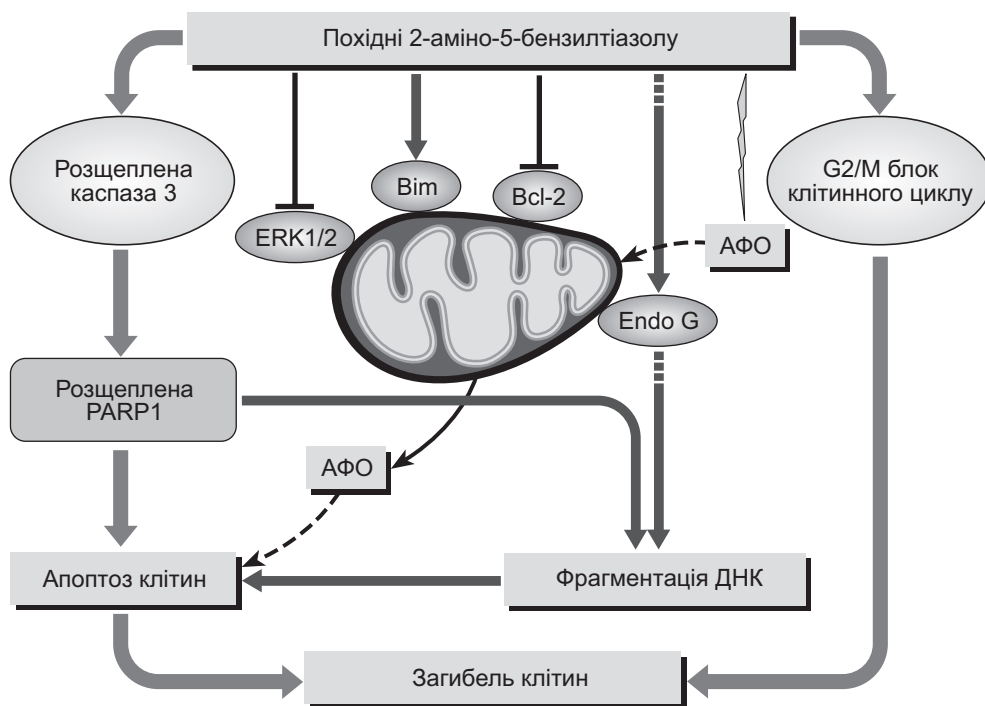


Рис. 7. Узагальнена схема сигнальних шляхів, індукованих похідними 2-аміно-5-бензилтіазолу в пухлинних клітинах лейкозного і гліомного походження

Отже, похідні тіазолу – *N*-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід, 2,8-диметил-7-(3-трифторметил-бензил)піразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4-он і 7-бензил-8-метил-2-пропілпіразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-он – мають цитотоксичну дію на клітини гліобластоми та мієлолейкозу людини. Сполука 7-бензил-8-метил-2-пропілпіразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-он є цитотоксичною також щодо медикаментозно стійкої сублінії клітин HL-60/ADR гострого промієлоцитарного лейкозу людини. Похідні 2-аміно-5-бензилтіазолу індукують апоптоз у гліомних клітинах ліній U251 і T98G та лейкозних клітинах ліній HL-60 і K562.

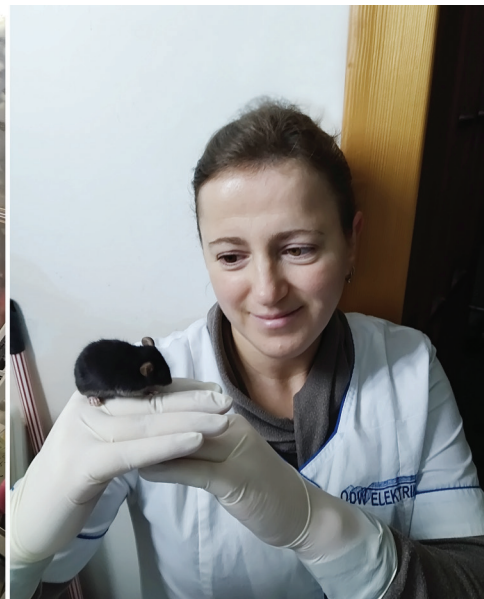
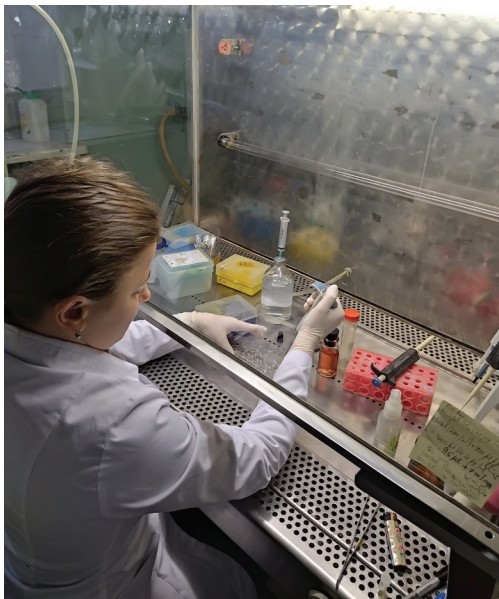
- Aly AA, Bräse S, Hassan AA, Mohamed NK, El-Haleem LEA, Nieger M, et al. Design, synthesis, and molecular docking of paracyclophanyl-thiazole hybrids as novel CDK1 inhibitors and apoptosis inducing anti-melanoma agents. *Molecules* [Internet]. MDPI AG; 2020 Nov 27;25(23):5569. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25235569>
- D’Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biology International* [Internet]. Wiley; 2019 Apr 25;43(6):582–592. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/cbin.11137>
- Ayati A, Emami S, Moghimi S, Foroumadi A. Thiazole in the targeted anticancer drug discovery. *Future Medicinal Chemistry* [Internet]. Future Science Ltd; 2019 Aug;11(15):1929–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.4155/fmc-2018-0416>
- Bailly C, Thuru X, Quesnel B. Combined cytotoxic chemotherapy and immunotherapy of cancer: modern times. *NAR Cancer* [Internet]. Oxford Academic Journals; 2020 Feb;2(1):zcaa002. Available from: <https://doi.org/10.1093/narcan/zcaa002>
- De Bruin EC, Medema JP. Apoptosis and non-apoptotic deaths in cancer development and treatment response. *Cancer Treatment Reviews* [Internet]. Elsevier BV; 2008 Dec;34(8):737–49. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2008.07.001>
- Finiuk NS, Hreniuh VP, Ostapiuk YV, Matiychuk VS, Frolov DA, Obushak MD, et al. Antineoplastic activity of novel thiazole derivatives. *Biopolymers and Cell* [Internet]. Institute of Molecular Biology and Genetics (NAS Ukraine); 2017 Apr 30;33(2):135–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.00094b>
- Finiuk NS, Ostapiuk YV, Hreniukh VP, Shalai YR, Matiychuk VS, Obushak MD, et al. Evaluation of antiproliferative activity of pyrazolothiazolopyrimidine derivatives. *The Ukrainian Biochemical Journal* [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2018 Apr 23;90(2):25–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj90.02.025>
- Finiuk N, Klyuchivska O, Ivasechko I, Hreniukh V, Ostapiuk Y, Shalai Y, et al. Proapoptotic effects of novel thiazole derivative on human glioma cells. *Anti-Cancer Drugs* [Internet]. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2019 Jan;30(1):27–37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/cad.0000000000000686>
- Finiuk NS, Klyuchivska OY, Ivasechko II, Mitina NE, Ostapiuk YV, Obushak MD, et al. Effect of a novel thiazole derivative and its complex with a polymeric carrier on stability of DNA in human breast cancer cells. *The Ukrainian Biochemical Journal* [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2021 May 20;93(2):39–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj93.02.039>
- Finiuk NS, Ivasechko II, Klyuchivska OY, Ostapiuk YV, Hreniukh VP, Shalai YaR, et al. Apoptosis induction in human leukemia cells by novel 2-amino-5-benzylthiazole derivatives. *The Ukrainian Biochemical Journal* [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2019 Apr 1;91(2):29–39. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj91.02.029>
- Finiuk NS, Popovych MV, Shalai YR, Mandzynets’ SM, Hreniuh VP, Ostapiuk YV, et al. Antineoplastic activity *in vitro* of 2-amino-5-benzylthiasol derivative in the complex with nanoscale polymeric carriers. *Cytology and Genetics* [Internet]. Allerton Press; 2021 Jan;55(1):19–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.3103/s0095452721010084>
- Foster CH, Dave P, Sherman JH. Chemotherapy for the management of cerebral metastases. *Neurosurgery clinics of North America* [Internet]. Elsevier BV; 2020 Oct;31(4):603–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nec.2020.06.009>

- Fulda S, Debatin K-M. Modulation of apoptosis signaling for cancer therapy. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2006 May 2;54(3):173–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00005-006-0019-x>
- Gagliardi A, Giuliano E, Venkateswararao E, Fresta M, Bulotta S, Awasthi V, et al. Biodegradable polymeric nanoparticles for drug delivery to solid tumors. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. Frontiers Media SA; 2021 Feb 3;12. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2021.601626>
- Häcker G. The morphology of apoptosis. *Cell and Tissue Research* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2000 Mar 30;301(1):5–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s004410000193>
- Jain S, Pattnaik S, Pathak K, Kumar S, Pathak D, Jain S, et al. Anticancer potential of thiazole derivatives: A retrospective review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* [Internet]. Bentham Science Publishers Ltd.; 2018 Apr 16;18(8):640–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.2174/1389557517666171123211321>
- Johnstone RW, Ruefli AA, Lowe SW. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy. *Cell* [Internet]. 2002 Jan 25;108(2):153–64. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00625-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00625-6)
- Ivana Scovassi A, Diederich M. Modulation of poly(ADP-ribosylation) in apoptotic cells. *Biochemical Pharmacology* [Internet]. Elsevier BV; 2004 Sep; 68(6): 1041–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2004.04.023>
- Kumar S. Caspase function in programmed cell death. *Cell Death & Differentiation* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2006 Nov 3;14(1):32–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.cdd.4402060>
- Li Z, Tan S, Li S, Shen Q, Wang K. Cancer drug delivery in the nano era: An overview and perspectives. *Oncology Reports* [Internet]. Spandidos Publications; 2017 Feb;38(2):611–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.3892/or.2017.5718>
- Monteiro PF, Travanut A, Conte C, Alexander C. Reduction-responsive polymers for drug delivery in cancer therapy – Is there anything new to discover? *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology* [Internet]. Wiley; 2020 Nov 5;13(2). Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/wnan.1678>
- Murphy JM, Czabotar PE, Hildebrand JM, Lucet IS, Zhang J-G, Alvarez-Diaz S, et al. The pseudokinase MLKL mediates necroptosis via a molecular switch mechanism. *Immunity* [Internet]. Elsevier BV; 2013 Sep;39(3):443–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2013.06.018>
- Oltersdorf T, Elmore SW, Shoemaker AR, Armstrong RC, Augeri DJ, Belli BA, et al. An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumours. *Nature* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2005 May 15;435(7042):677–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nature03579>
- Poon IKH, Lucas CD, Rossi AG, Ravichandran KS. Apoptotic cell clearance: basic biology and therapeutic potential. *Nature Reviews Immunology* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2014 Jan 31;14(3):166–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri3607>
- Rivera Vargas T, Apetoh L. Danger signals: Chemotherapy enhancers? *Immunological reviews* [Internet]. John Wiley & Sons, Inc; 2017 Nov;280(1):175–93. Available from: <https://doi.org/10.1111/imr.12581>

- Sharma PC, Bansal KK, Sharma A, Sharma D, Deep A. Thiazole-containing compounds as therapeutic targets for cancer therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2020 Feb;188:112016. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.112016>
- Wen R, Umeano AC, Kou Y, Xu J, Farooqi AA. Nanoparticle systems for cancer vaccine. *Nanomedicine* [Internet]. Future Medicine Ltd; 2019 Mar;14(5):627–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.2217/nnm-2018-0147>
- Zhdanov DD, Fahmi T, Wang X, Apostolov EO, Sokolov NN, Javadov S, et al. Regulation of apoptotic endonucleases by EndoG. *DNA and Cell Biology* [Internet]. Mary Ann Liebert Inc; 2015 May;34(5):316–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1089/dna.2014.2772>



XII Український біохімічний конгрес (Тернопіль, 2019). Зліва направо: М. Григор'єва (редактор Українського біохімічного журналу), G. Vari Sandor (Director International Research and Innovation in Medicine Program Cedars – Sinai Medical Center & RECOOP HST Association, Los Angeles, CA, USA), Л. І. Кобилінська, Р. С. Стойка



К. б. н. Н. С. Фінюк (Інститут біології клітини НАН України, Львів)



Світова конференція TechConnect World Innovation and NanoTech 2017 (Вашингтон, США, 2017). Зліва направо: д. б. н. Р. Р. Панчук, доц. Л. І. Кобилінська, проф., член-кор. Р. С. Стойка



К. б. н., доц. Я. Р. Шалай (Львівський національний університет імені Івана Франка)





К. б. н. В. П. Гренюх у Міжнародній школі з клітинної біоенергетики у Львівському національному університеті імені Івана Франка, 2018



Автори монографії серед учасників III Міжнародної школи з клітинної біоенергетики у Львівському національному університеті імені Івана Франка, 2019

Наукове видання

Серія “Біологічні Студії”

ПРОТИПУХЛИННІ ПЕРСПЕКТИВИ СУЛЬФУРОВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ

Монографія

За редакцією професора *А. М. Бабського*

Редактор *Лариса Сідлович*
Технічний редактор *Ігор Старунько*
Комп'ютерна графіка та верстання *Ігор Старунько*
Дизайн обкладинки *Андрій Бабський, Ігор Старунько*

Формат 70×100/16. Умовн. друк. арк. 9,03. Тираж 150 прим.

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Університетська, 1, Львів 79000, Україна

Свідоцтво
про внесення суб'єкта видавничої справи до державного реєстру
видавців, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції
Серія ДК № 3059 від 13.12.2007 р.

Видруковано з готових діапозитивів у книжковій друкарні “Коло”
(Свідоцтво серії ДК № 498 від 20.06.2001 року)
вул. Бориславська, 8, м. Дрогобич 82100, Україна
тел. +380 3244 29060; ел. пошта: kolodruk@gmail.com
Замовлення №