

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

**ПОХІДНІ ПІРОЛУ
В БІОЛОГІЇ І МЕДИЦИНІ
СИНТЕЗ, ПРОТИЗАПАЛЬНА
І ПРОТИПУХЛИННА ДІЯ**

Монографія

*За науковою редакцією заслуженого діяча науки і техніки України,
професора В. К. Рибальченка
і члена-кореспондента НАН України Р. С. Стойки*



УДК 615.276/.277.3:547.74:606+57
П64

Автори:

В. К. Рибальченко (передмова, вступ, розд. 1.1, 1.2, 2.4),
Р. С. Стойка (розд. 1.4, 3.1),
Г. М. Кузнєцова (розд. 1.2, 1.3, 3.2, 3.4, 3.5, узагальнення),
І. В. Белінська (розд. 2.4, 3.3, узагальнення),
А. В. Бичко (розд. 2.4), Н. В. Дзюбенко (розд. 3.2, 3.4, 3.5),
О. Ю. Ключівська (розд. 3.1), М. Д. Луцик (розд. 1.4),
Д. С. Мілохов (розд. 2.1, 2.2, 2.3), Т. В. Рибальченко (розд. 3.3),
Н. С. Фінюк (розд. 3.1), О. В. Хиля (розд. 2.1, 2.2, 2.3)

Рецензенти:

д-р мед. наук, проф. І. С. Дягіль,
д-р біол. наук, ст. наук. співроб. І. І. Ганусевич

*Рекомендовано до друку вченою радою ННІ високих технологій
(протокол 8 від 21 березня 2023 року)*

П64 Похідні піролу в біології і медицині: синтез, протизапальна і протипухлинна дія : монографія / В. К. Рибальченко, Р. С. Стойка, Г. М. Кузнєцова та ін. ; за наук. ред. В. К. Рибальченка, Р. С. Стойки. – К. : ВПЦ "Київський університет", 2023. – 279 с.

ISBN 978-966-933-224-0

Викладено найновіші результати розробок і досліджень, отриманих біологами, хіміками та фізиками у сфері створення нових синтетичних сполук, зокрема й похідних піролу, для протидії запальним процесам і злякисному росту пухлин, а також використання наноматеріалів для підвищення ефективності біологічної дії цих сполук у різних галузях біології, біомедицини й біотехнології. У логічно взаємопов'язаних розділах висвітлено питання молекулярного дизайну, синтезу, біологічної активності та безпечності для організму похідних піролу, що мають протизапальну та протипухлинну активність щодо колоректального раку.

Для дослідників, які розробляють нові препарати для протидії запальним процесам і злякисному росту пухлин, та студентів і викладачів медико-біологічних спеціальностей.

УДК 615.276/.277.3:547.74:606+57

ISBN 978-966-933-224-0

© Рибальченко В. К., Стойка Р. С., Кузнєцова Г. М. та ін., 2023
© Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ВПЦ "Київський університет", 2023

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

ГАТ (НАТ)	– гістонацетилтрансфераза або гістонова ацетилтрансфераза (Histone acetyltransferase)
ГКГС (МНС)	– головний комплекс гістосумісності (major histocompatibility complex)
ІМ	– ідіопатичний мієлофіброз
ДМГ	– диметил-гідрозин
ДМФА (DMF)	– диметилформамід (dimethyl formamide)
ДМСО (DMSO)	– диметилсульфоксид (dimethyl sulfoxide)
ДІ	– похідна піролу
ІЛ (IL)	– інтерлейкіни (interleukin)
ІЧ	– інфрачервона спектроскопія
КРР	– колоректальний рак
КФ	– кисла фосфатаза (КФ 3.1.3.2)
м. ч.	– мільйонна частка
МІ-1	– похідна малесіміду/піролу
міРНК	– мікро-РНК
МКАТ	– моноклональні антитіла
ПАМ (ТАМ)	– пухлино-асоційовані макрофаги (tumor-associated macrophages)
ПКС	– протеїнкіназа С
РСК	– ракові стовбурові клітини
ТБС	– <i>трис</i> -буферний сольовий розчин
ФМА	– форбол-12-мірістат-13-ацетат (індуктор диференціювання, активатор протеїнкінази С)
ФНП	– фактор некрозу пухлин
5-ФУ	– 5-фторурацил
ХЛЛ	– хронічний лімфоцитарний лейкоз
ХМЛ	– хронічний мієлоїдний лейкоз
ЦНС	– центральна нервова система
ЯМР	– ядерний магнітний резонанс

Δ	– нагрівання за температури кипіння
Ac	– acetyl (ацетил)
Alk	– alkyl (алкіл)
Ar	– aryl (арил)
Bcl-2	– Apoptosis regulator Bcl-2 (регулятор апоптозу)
Bfl-1	– Bcl-2 fetal liver (Bcl-2 печінки ембріону)
Bn	– benzyl (бензил)
Bu	– butyl (бутил)
CTLA-4	– cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4; CD152 (глікопротеїн цитотоксичних Т-лімфоцитів-4)
DCM	– dichloromethane (дихлорметан)
DIPEA	– <i>N,N</i> -Diisopropylethylamine (<i>N,N</i> -діізопропілетиламін)
DMAP	– 4-Dimethylaminopyridine (диметиламінопіридин)
EDC, EDCI	– 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (1-етил-3-(3-диметиламінопропіл) карбодіїмід гідрохлорид)
EGF	– epidermal growth factor (епідермальний фактор росту)
EGFR	– epidermal growth factor receptor (рецептор епідермального фактора росту)
EPO	– erythropoietin (еритропоетин)
eq	– equivalent (еквівалент)
Et	– ethyl (етил)
FGF	– fibroblast growth factor (фактор росту фібробластів)
FGFR	– fibroblast growth factor receptor (рецептор фактора росту фібробластів)
FP	– Fluorescence Polarization (флуоресцентна поляризація)
FRET	– Förster energy transfer (ферстерівське перенесення енергії)
GM-CSF	– granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулювальний фактор)
h	– hours (години)

HDAC	– histone deacetylases (деацетилази гістону або гістонові деацетилази)
HER2	– human epidermal growth factor receptor 2 (рецептор епідермального фактора росту людини)
HLA	– human leukocyte antigen (антиген лейкоцитів людини)
hPSC	– human pluripotent stem cell (плюрипотентні стовбурові клітин людини)
<i>in vitro</i>	– у лабораторних умовах
<i>in vivo</i>	– у живому організмі
K562	– клітини хронічного мієлолейкозу людини, що містять філадельфійську хромосому (Ph ⁺) і химерний ген <i>BCR/ABL</i>
L1210	– лейкозні В-клітини миші
Me	– methyl (метил)
min	– minutes (хвилини)
MCV	– Mean Corpuscular Volume (середній об'єм еритроциту)
MCH	– Mean Corpuscular Hemoglobin (середній вміст гемоглобіну в еритроциті)
MCHC	– Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (середня концентрація гемоглобіну в еритроциті)
Nu	– nucleophile (нуклеофіл)
PAS	– Periodic Acid Schiff reaction (реакція з періодною кислотою і реактивом Шифа, методи виявлення глікопротеїнів і глікогену)
PCBA	– [6,6]-Phenyl-C ₆₁ -butyric acid ([6,6]-феніл-С ₆₁ -бутанова кислота)
PCBM	– [6,6]-Phenyl-C ₆₁ -butyric acid methyl ester метиловий (естер[6,6]-феніл-С ₆₁ -бутанової кислоти)
PDGF	– Platelet derived growth factor (тромбоцитарний ростовий фактор)
PDK1	– 3-phosphoinositide-dependentkinase-1 (3-фосфоінозитид-залежна протеїнкіназа-1)
Ph	– phenyl (феніл)
P13K	– phosphoinositide 3-kinases (фосфоінозитид-3-кіназа)
pK _a	– константа кислотної дисоціації

PKB/Akt	– протеїнкіназа B
Pu	– pyridine (піридин)
RAD51	– RAD51 recombinase, RAD51 рекомбіназа (білок, задіяний у процесах пошкодження, репарації та рекомбінації ДНК, ацетилювання, альтернативного сплайсингу).
rt	– room temperature (кімнатна температура)
SCF	– stem cell factor (фактор росту стовбурових клітин)
SEM	– Standard error of the mean (стандартна похибка середнього арифметичного)
SD	Standard deviation (середнє квадратичне відхилення)
Src(h)	– Rous sarcoma oncogene cellular homolog (гомолог онкогену саркоми Рауса)
Syk(h)	– spleen tyrosine kinase human (тирозинкіназа селезінки людини)
TCR (ТКР)	– T-cell receptor (рецептор Т-клітин)
TGF	– transforming growth factor (трансформуючий фактор росту)
THF	– tetrahydrofuran (тетрагідрофуран)
TNF	– tumor necrosis factor (фактор некрозу пухлин)
TNF (ФНП)	– tumor necrosis factor (глюкокортикоїд-індукований фактор некрозу пухлини)
TPO	– thrombopoietin (тромбопоетин)
TR-FRET	– Time-Resolved FRET (Time-resolved fluorescence energy transfer) (часорозділене ферстерівське резонансне перенесення енергії)
TME	– tumor microenvironment (мікросередовище, мікрооточення пухлини)
VEGF	– vascular-endothelial growth factor (васкулярно-ендотеліальний фактор росту)
VEGFR	– vascular-endothelial growth factor receptor (рецептор васкулярно-ендотеліального фактора росту)
YES	– Yamaguchi sarcoma viral oncogene homolog 1 (гомолог 1 онкогену саркоми Ямагучі)
ZAP70	– Zeta-chain-associated protein kinase 70 (зета-ланцюг-асоційована протеїнкіназа 70)

Розділ 3

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ПІРОЛУ

3.1. Антипроліферативна дія MI-1 й індукування ним апоптозу в пухлинних клітинах *in vitro*

Похідне малеїміду 1-(4-хлоробензил)-3-хлоро-4-(3-трифторметил-феніламіно)-1*H*-пірол-2,5-діон (MI-1) було розроблено з використанням підходів молекулярного моделювання *in silico* [1] як АТФ-конкурентний низькомолекулярний інгібітор тирозинкіназ EGF-R, FGF-R1, IGF1-R, INS-R, SRK, TAK, VEGF-R1-3, ZAP70 (інгібітор I типу) [2, 3–7].

Протеїнкінази регулюють різні клітинні процеси, зокрема й проліферування, диференціювання та міграцію клітин, клітинний цикл, апоптоз і метаболізм [8, 9]. Зміни в регулюванні цих процесів унаслідок мутацій або надмірної експресії генів, що кодують структуру кіназ, призводять до різних захворювань [10, 11]. Кінази відіграють важливу роль у канцерогенезі, зокрема й у разі метастазування за різних типів раку [8, 12]. Отже, синтез і подальше дослідження інгібіторів протеїнкіназ є перспективними підходами для створення ефективних засобів лікування раку. Деякі інгібітори протеїнкіназ, таких як іматиніб [13], бензотриазини, хіназоліни, піразолопіримідини, імідазо[1,5-а]піразини, піридопіримідинони й інші гетероциклічні сполуки, а також кон'югати АТФ-фосфопептиду продемонстрували протиракову активність [14–16].

У пропонованому розділі монографії розглянуто результати цитотоксичної дії *in vitro* похідного малеїміду 1-(4-хлоробензил)-3-хлоро-4-(3-трифторметил-феніламіно)-1*H*-пірол-2,5-діону (MI-1)

на пухлинні клітини різного тканинного походження, а також на пухлинні клітини, резистентні до медикаментозних засобів.

3.1.1. Цитотоксична дія MI-1

Для дослідження цитотоксичного впливу похідного малеїміду MI-1 на пухлинні клітини людини різного тканинного походження, а саме товстої кишки, молочної залози, гліобластоми, легені, матки, шийки матки, яєчника людини, підшлункової залози, гепатокарциноми, лейкозу людини використано МТТ-тест [17], а також фарбування клітин трипановим синім [18]. MI-1 розчиняли у диметилсульфоксиді (ДМСО), кінцева концентрація якого в середовищі для культивування клітин становила 0,01, 0,1 та 1,0 %, залежно від дози MI-1 (1, 10, 100 мкг/мл). Цитотоксична дія ДМСО щодо пухлинних клітин була набагато нижчою, ніж така дія застосовуваних розчинів MI-1.

Показано, що речовина MI-1 характеризується різним рівнем токсичності щодо пухлинних клітин людини. MI-1 є токсичною для клітин лінії НСТ116 колоректального раку людини ($IC_{50} = 0,9 \pm 0,1$ мкг/мл, рис. 3.1, табл. 3.1). Відомо, що клітини понад 50 % злюкисних пухлин мають мутації в гені *p53*, що призводить до інактивування його протеїнового продукту та сприяє розвитку пухлини [19, 20]. Досліджено також токсичну дію MI-1 щодо клітин лінії НСТ116 *p53*-/- (сублінія клітин колоректального раку людини із делецією гена *p53*). Ці клітини були чутливими до дії речовини MI-1, а її показник IC_{50} становив $1,2 \pm 0,2$ мкг/мл.

MI-1 пригнічує ріст клітин ліній MCF-7 та MDA-MB-231 аденокарциноми молочної залози людини із IC_{50} $8,7 \pm 0,9$ мкг/мл і $6,8 \pm 0,7$ мкг/мл, відповідно (рис. 3.1, табл. 3.1). Клітини лінії U251 гліобластоми людини, лінії HeLa раку матки людини і лінії A549 раку легені людини були також чутливими до дії MI-1 із IC_{50} $4,8 \pm 0,3$ мкг/мл, $6,0 \pm 0,5$ мкг/мл і $7,8 \pm 0,5$ мкг/мл, відповідно (рис. 3.1, табл. 3.1). MI-1 пригнічувала ріст клітин лінії HepG2 гепатокарциноми людини ($IC_{50} = 9,5 \pm 1,0$ мкг/мл) і клітин лінії Saran-1 аденокарциноми підшлункової залози людини ($IC_{50} = 18,0 \pm 2,1$ мкг/мл). Речовина MI-1 виявляла цитотоксичну дію

щодо клітин лінії Skov3 раку яєчника людини лише за високої дози ($IC_{50} = 51,6 \pm 6,0$ мкг/мл, рис. 3.1, табл. 3.1).

Швидкий розвиток резистентності пухлинних клітин до медикаментозних препаратів є однією з основних проблем, що шкодить ефективному лікуванню раку. Серед механізмів такої стійкості – надмірна експресія транспортних систем ABC на плазматичній мембрані, мутації генів *brca*, *dynll1* й інші механізми, що сприяють інактивуванню дії та/або деградуванню медикаментозних засобів [21, 22]. Проведено порівняння протипухлинної активності MI-1 щодо клітин лінії KB3-1 карциноми шийки матки та їхньої сублінії KBC-1, стійкої до колхіцину, що характеризується надмірною експресією Р-глікопротеїну (ABCВ1). MI-1 виявила у шість разів більшу ефективність пригнічення росту резистентних клітин лінії KBC-1 ($IC_{50} = 0,8 \pm 0,1$ мкг/мл), порівняно з дією доксорубіцину ($IC_{50} = 4,8 \pm 0,7$ мкг/мл [17]). Водночас клітини лінії KB3-1 були чутливішими до дії доксорубіцину ($IC_{50} = 0,8 \pm 0,1$ мкг/мл), ніж до дії MI-1 ($IC_{50} = 7,5 \pm 0,4$ мкг/мл) (рис. 3.1, табл. 3.1). Спираючись на отримані результати, можна припустити, що MI-1 здатна долати механізм резистентності пухлинних клітин до медикаментозних засобів, залежний від надмірної експресії Р-глікопротеїну і від порушення функціонування гена *p53*.

Лейкозні клітини були чутливішими до дії MI-1, ніж клітини різних органів людини. Показник цитотоксичності (IC_{50}) MI-1 становив $0,6 \pm 0,1$ мкг/мл для клітин лінії HL-60 гострого мієлоцитарного лейкозу людини, $0,8 \pm 0,1$ мкг/мл – для клітин лінії K562 хронічного мієлогенного лейкозу людини і $4,3 \pm 0,7$ мкг/мл – для клітин лінії Jurkat T лейкозу людини (рис. 3.2, табл. 3.1).

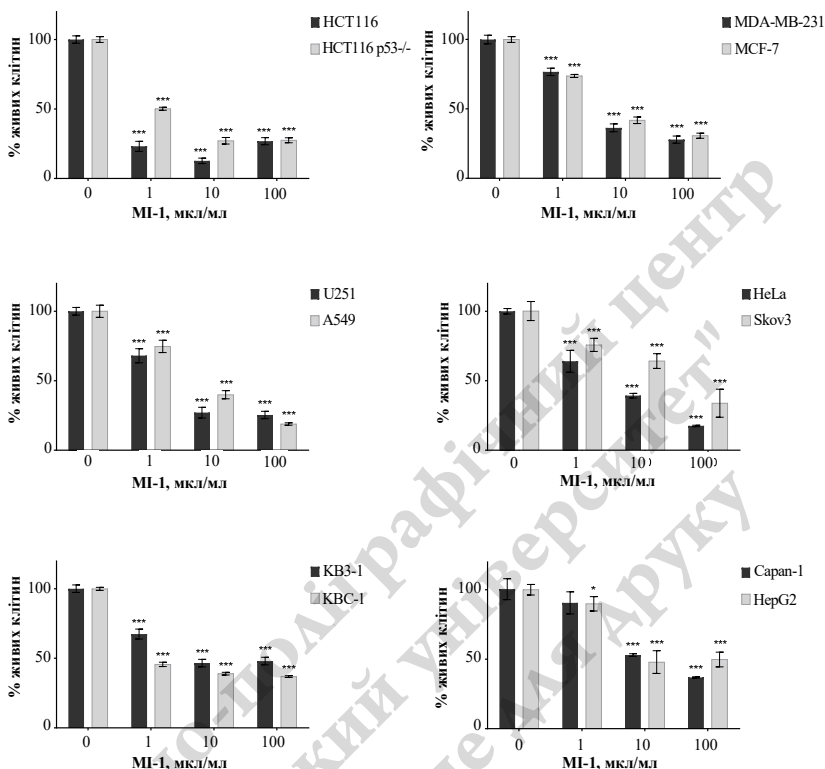


Рис. 3.1. Рівень цитотоксичної дії MI-1 щодо пухлинних клітин ліній HCT116 колоректального раку людини, HCT116 p53-/- (сублінія клітин колоректального раку з делецією гена p53), MDA-MB-231 і MCF-7 (раку молочної залози людини), U251 (гліобластоми), A549 (раку легені людини), HeLa (раку матки людини), Skov3 (раку яєчника), KB3-1 (раку шийки матки), KBC-1 (сублінія клітин раку шийки матки, стійка до дії коахіцину з надмірною експресією Р-глікопротеїну), Saran-1 (раку підшлункової залози людини) і HepG2 (гепатокарциноми людини).

Життєздатність клітин досліджували за допомогою МТТ-тесту через 72 год впливу на клітини сполуки MI-1

Примітки: * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$ (суттєві зміни порівняно з контролем (необробленими клітинами)).

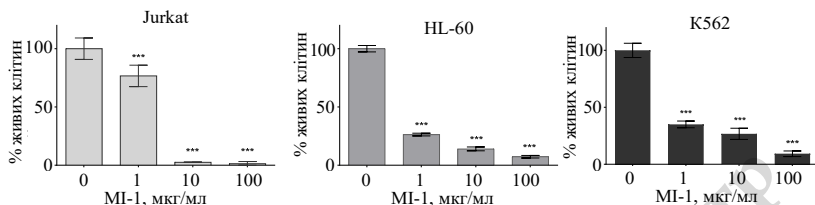


Рис. 3.2. Рівень цитотоксичної дії MI-1 щодо лейкозних клітин людини: лінії HL-60 гострого мієлоцитарного лейкозу, Jurkat T лейкозу і K562 хронічного мієлогенного лейкозу.

Підрахунок кількості клітин здійснювали через 72 год після дії на них сполуки MI-1

Примітка: *** – $p < 0,001$ (суттєві зміни порівняно з контролем (необробленими клітинами)).

Таблиця 3.1
Показник IC₅₀ для похідного малеїміду MI-1

Лінії клітин	IC ₅₀ , мкг/мл (M ± SD)
	MI-1
HCT116 колоректального раку людини	0,9 ± 0,1
HCT116 p53-/- колоректального раку людини (сублінія з делецією гена p53)	1,2 ± 0,2
MDA-MB-231 раку молочної залози	6,2 ± 0,7
MCF-7 раку молочної залози	8,7 ± 0,9
U251 гліобластоми людини	4,8 ± 0,3
A549 раку легені людини	7,8 ± 0,5
HeLa раку матки людини	6,0 ± 0,5
Skov3 раку яєчника людини	51,6 ± 6,0
KB3-1 раку шийки матки	7,5 ± 0,4
KBC-1 раку шийки матки, стійкі до дії колхіцину	0,8 ± 0,1
Sarpan-1 раку підшлункової залози людини	18,0 ± 2,1
HepG2 гепатокарциноми людини	9,5 ± 1,0
HL-60 гострого мієлоцитарного лейкозу людини	0,6 ± 0,1
Jurkat T лейкозу людини	4,3 ± 0,7
K562 хронічного мієлогенного лейкозу людини	0,8 ± 0,1

Речовина MI-1 виявила найбільш виражений токсичний ефект щодо клітин колоректального раку, лейкозних клітин і клітин карциноми шийки матки, стійких до дії колхіцину. IC₅₀ для клітин ліній KB3-1, U251, MDA-MB-231, MCF-7, U251, A549, HepG2,

Саран-1 та Skov3 був набагато вищим, ніж IC_{50} для клітин ліній НСТ116 і НСТ116 р53-/- колоректального раку, сублінії КВС-1 карциноми шийки матки, стійкої до дії колхіцину з надекспресією Р-глікопротеїну, лейкозних клітин ліній Jurkat і K562. Антинеопластична активність MI-1 знижується в такому порядку: колоректальний рак \approx лейкоз \approx сублінія раку шийки матки, стійка до дії колхіцину і з підвищеною експресією Р-глікопротеїну > гліома > рак матки > рак молочної залози \approx рак легені \approx рак шийки матки > гепатокарцинома > рак підшлункової залози > рак яєчника.

Ми також вивчили цитотоксичну дію MI-1 щодо псевдонормальних клітин (ліній HaCaT кератиноцитів людини, NIH3T3 фібробластів миші, HEK293 ембріональної нирки людини, J774.2 макрофагів миші). Показано, що MI-1 має низьку токсичність щодо кератиноцитів людини лінії HaCaT і мишачих фібробластів лінії NIH3T3. MI-1 пригнічувала ріст кератиноцитів людини з IC_{50} $84,4 \pm 3,2$ мкг/мл (рис. 3.3, табл. 3.2). Фібробласти лінії NIH3T3 були менш чутливими до дії MI-1 і показник IC_{50} для клітин цієї лінії перевищував 100 мкг/мл. Наприклад, у дозі 100 мкг/мл MI-1 пригнічувала на 24,3 % життєздатність мишачих фібробластів лінії NIH3T3. Натомість клітини лінії HEK293 ембріональної нирки людини і мишачі макрофаги лінії J774.2 були чутливішими до дії MI-1, ніж клітини ліній HaCaT і NIH3T3. IC_{50} MI-1 становить $4,85 \pm 0,3$ мкг/мл для клітин лінії HEK293 і $7,60 \pm 0,9$ мкг/мл – для клітин лінії J774.2 (рис. 3.3, табл. 3.2).

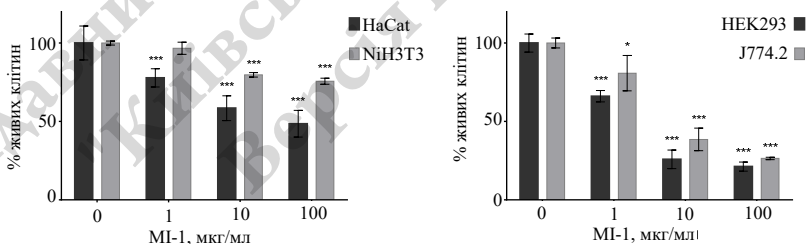


Рис. 3.3. Рівень цитотоксичної дії MI-1 на псевдонормальні клітини (лінії HaCaT кератиноцитів людини, NIH3T3 фібробластів миші, HEK293 ембріональної нирки людини, J774.2 макрофагів миші).

Життєздатність клітин досліджували за допомогою МТТ-тесту через 72 год після впливу сполуки MI-1

Примітки: * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$ (суттєві зміни порівняно з контролем (необробленими клітинами)).

Таблиця 3.2

**Показник IC₅₀ за дії MI-1
на псевдонормальні клітини різного походження**

Клітинні лінії	IC ₅₀ , мкг/мл (M ± SD)
	MI-1
Лінія HaCaT кератиноцитів людини	84,4 ± 3,2
Лінія NIH3T3 фібробластів миші	> 100
Лінія HEK293 ембріональної нирки людини	4,8 ± 0,3
Лінія J774.2 макрофагів миші	7,6 ± 0,9

Щоб дослідити потенційні механізми цитотоксичної дії MI-1 було використано аналіз вестерн-блот для оцінювання здатності цього чинника індукувати апоптоз у клітинах лінії HCT116 [23]. Встановлено, що MI-1 індукує підвищення вмісту розщепленої форми каспази 3, порівняно з контролем. Такий ефект був значно вищим, ніж за дії доксорубіцину (рис. 3.4). Відомо, що ефекторні каспази, зокрема й каспаза 3, розщеплюють різні внутрішньоклітинні білки, які регулюють метаболізм ДНК, гістонів та інших важливих біомолекул [24].

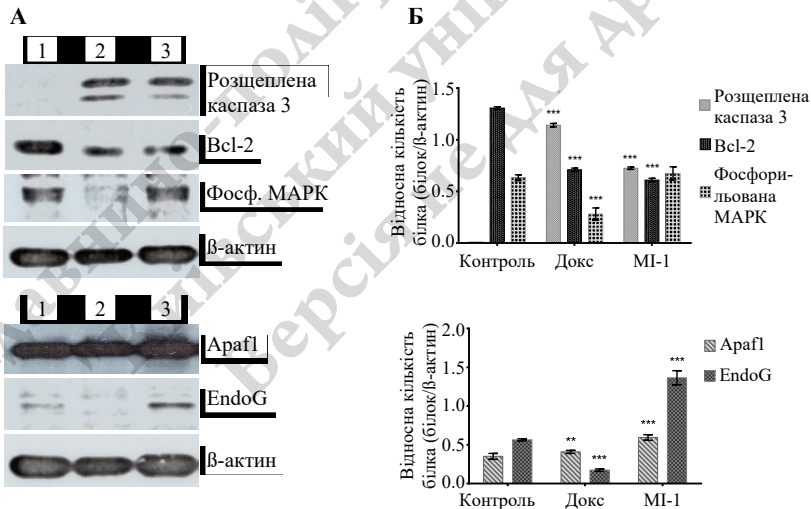


Рис. 3.4. Результати вестерн-блот аналізу асоційованих з апоптозом білків (А) та денситометричний аналіз умісту цих білків (Б) у клітинах лінії HCT116 через 72 год дії на них досліджуваних речовин:

1 – контроль, 2 – доксорубіцин (Докс, 0,9 мкг/мл), 3 – MI-1 (0,9 мкг/мл)

Примітки: ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ (суттєві зміни порівняно з контролем (необробленими клітинами)).

Для дослідження можливості використання мітохондріального шляху апоптозу за дії MI-1 визначено рівень протеїну Bcl-2, що є представником білків родини Bcl, який інгібує розвиток апоптозу, а також протеїнів Araf1 та EndoG, як регуляторів апоптозу. Створення протипухлинних чинників, що стимулюють мітохондріальні зміни в сигнальному шляху апоптозу, є перспективною стратегією в розвитку таргетної протипухлинної хіміотерапії [25, 26].

Установлено, що MI-1 знижує рівень антиапоптотичного протеїну Bcl-2 у клітинах лінії НСТ116. Відомо, що надекспресія білків Bcl-2 і Bcl-xL гальмує апоптоз через зниження продукції активних форм кисню, стабілізації мембранного потенціалу мітохондрій ($\Delta\psi$) та блокування вивільнення з мітохондрій проапоптотичних білків [27].

Як видно з даних, наведених на рис. 3.4, MI-1 підвищує рівень цитозольного білка Araf1 (*apoptotic protease-activating factor 1*) у клітинах лінії НСТ116. Цей білок вважають центральним елементом мітохондріальних шляхів апоптозу, індукованого у відповідь на дію широкого спектру проапоптотичних чинників. Для активування каскаду каспаз у клітинах-мішенях важливим є утворення апоптосоми – мультимолекулярної структури, до складу якої входять Araf1, цитохром *c*, АТФ, а також ініціаторна прокаспаза 9 [28]. Ми не виявили значних змін у вмісті білка Araf1 як за дії MI-1, так і за дії доксорубіцину (рис. 3.4). Зазначений результат дозволяє припускати, що Araf1 має допоміжну роль в апоптосомному комплексі, де центральну роль, очевидно, відіграє каспаза 9, що розщеплює регуляторні білки клітини.

Встановлено, що MI-1 не впливає на рівень MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinase* – протеїнкіназа, що активується мітогенами) у клітинах лінії НСТ116, тоді як доксорубіцин суттєво пригнічує його (рис. 3.4). MAPK – це група серин-треонінових кіназ, що відіграють важливу роль у регулюванні клітинного проліферування (проліферації) та диференціації, а також виживанні та стійкості пухлинних клітин до медикаментозних засобів [29]. Дія доксорубіцину і MI-1 призводила до подібного зниження рівня антиапоптотичного протеїну Bcl-2 у пухлинних клітинах лінії НСТ116 (рис. 3.4), що узгоджується із проапоптотичною дією цих чинників.

3.1.2. Взаємодія MI-1 із ДНК

Раніше на підставі результатів молекулярного моделювання *in silico* було припущено, що MI-1 слугує інгібітором тирозинових протеїнкіназ [1]. Відомо, що схвалені Управлінням з продовольства і медикаментів США (*Food and Drug Administration*) протипухлинні субстанції, такі як доксорубіцин, цисплатин, блеоміцин, хлорамбуцил, етопозид, мефалан, здатні взаємодіяти з ДНК і, таким чином, вони впливають на її структуру та функції. Ми припустили, що молекула ДНК може також бути молекулярною мішенню за цитотоксичної дії сполуки MI-1 [30].

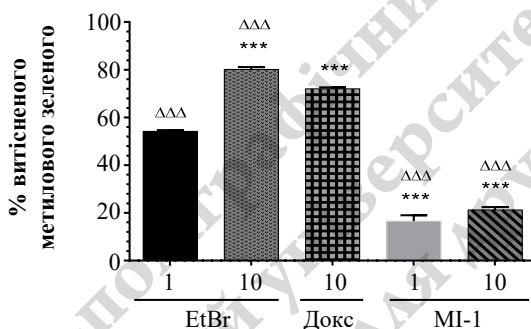


Рис. 3.5. Рівень заміщення барвника метилового зеленого в комплексі ДНК-метиловий зелений сполукою MI-1, доксорубіцином й етидію бромідом (EtBr) [17]

Примітки: *** – $p < 0,001$ (суттєві зміни порівняно з ефектом EtBr (1 мкг/мл)); ΔΔΔ – $p < 0,001$ (суттєві зміни порівняно з ефектом Докс (10 мкг/мл)).

Встановлено, що MI-1 у концентраціях 1 та 10 мкг/мл витісняє барвник метиловий зелений на $21,2 \pm 1,2$ та $16,5 \pm 2,4$ %, відповідно, з комплексу ДНК-метиловий зелений (рис. 3.5). Це менше, ніж за дії доксорубіцину в дозі 10 мкг/мл ($72,1 \pm 0,6$ %) чи етидію броміду (1 і 10 мкг/мл), що демонструє заміщення метилового зеленого в ДНК, відповідно на $54,1 \pm 0,6$ і $80,1 \pm 1,0$ % (рис. 3.5), але все ж достатньо, щоб забезпечити помітну частину цитотоксичної дії MI-1. Отже, MI-1 має здатність інтеркалювати у структуру ДНК.

MI-1, діючи в концентраціях 1, 10 і 100 мкг/мл, не спричиняє затримання руху плазмідної ДНК pEGFPc-1 під час електрофорузу (рис. 3.6, смуги 4–6), тоді як доксорубіцин (позитивний контроль) у концентраціях 1 та 10 мкг/мл уповільнює електрофоретичну рухливість суперспіралізованої форми плазмідної ДНК в агарозному гелі (рис. 3.6, смуга 2). Слід зауважити, що після 1-годинної інкубації плазмідної ДНК зі сполукою MI-1 було виявлено три смуги плазмідної ДНК внаслідок збільшення кількості суперспіралізованої форми ДНК. Цей ефект MI-1 був більше вираженим, ніж такий ефект доксорубіцину, комерційного хіміотерапевтичного протипухлинного препарату, здатного інтеркалювати в молекулу ДНК для вияву цитотоксичної дії. Отримані результати дозволяють припустити, що MI-1 здатний пошкоджувати суперспіральну форму плазмідної ДНК, яка може при цьому втрачати свої функціональні властивості.

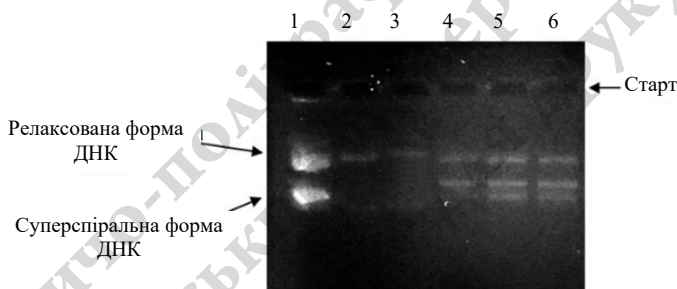


Рис. 3.6. Електрофореграма плазмідної ДНК pEGFP c-1 зі сполукою MI-1 чи доксорубіцином:

смуга 1 – нативна плазмідна ДНК pEGFP c-1 (негативний контроль);
 2 – Докс (1 мкг/мл) + пДНК; 3 – Докс (10 мкг/мл) + пДНК; 4 – MI-1 (1 мкг/мл) + пДНК; 5 – MI-1 (10 мкг/мл) + пДНК; 6 – MI-1 (100 мкг/мл) + пДНК.
 Досліджувані чинники додавали до плазмідної ДНК (pEGFPc-1), суміш інкубували протягом 1 год за кімнатної температури, а потім піддавали електрофорузу в гелі агарози 1 % [17]

За дії MI-1 виявлено зростання вмісту фрагментованої ДНК у клітинах лінії НСТ116 (рис. 3.7). Встановлено, що MI-1 в концентрації 0,9 мкг/мл спричиняє $14,2 \pm 3,8$ % фрагментації ДНК у клітинах лінії НСТ116. Дія доксорубіцину в дозі 0,5 мкг/мл призводить до фрагментації $19,1 \pm 3,5$ % ДНК (рис. 3.7).

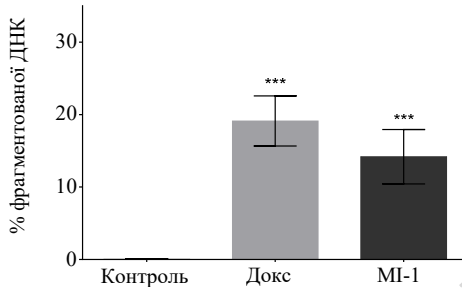


Рис. 3.7. Відсоток фрагментованої ДНК у клітинах лінії HCT116 за дії MI-1 та доксорубіцину. Для кількісного ідентифікування фрагментації ДНК застосовували метод Бартона з використанням дифеніламіну

Примітка: *** – $p < 0,001$ (суттєві зміни порівняно з контролем (необробленими клітинами)).

Фрагментація ДНК обумовлюється дією ендонуклеаз і є одним із маркерів катаболічних змін під час апоптотичної загибелі клітин. Відомо, що протипухлинні чинники індукують апоптоз, який супроводжується ендонуклеазною фрагментацією ДНК, зокрема й за участі вже згаданої ендонуклеази G (EndoG). Натомість інгібування активності специфічних ендонуклеаз захищає пухлинні клітини від загибелі [31].

Активні форми кисню, продукція яких індукується у клітинах-мішенях протипухлинними препаратами, спричиняють окиснювальне пошкодження молекули ДНК, а отже, підвищують ефективність цитотоксичної дії цих препаратів [32].

Ще одним методом вивчення пошкодження ДНК за дії фізичних (гама-випромінювання) чи хімічних (протипухлинні препарати) чинників є аналіз ДНК-комет клітин-мішеней за їхнього горизонтального електрофорезу за лужних [33] чи нейтральних умов [34]. Зазначений метод ґрунтується на аналізі електрофоретичної рухливості ДНК одиноких клітин, іммобілізованих у гелі агарози. За наявності розривів ДНК порушується структурна організація хроматину, втрачається надспіралізація ДНК, що призводить до її релаксації, і формуються фрагменти ДНК. В електричному полі релаксовані петлі і фрагменти ДНК витягуються в напрямку до анода, що і надає об'єктам, за якими спостерігають,

вигляду "комет". Кількість ДНК, що рухалася в напрямку до анода, може використовуватися як показник, який характеризує рівень пошкоджень ДНК у клітинах. Метод ДНК-комет за лужних умов дозволяє виявити одностричкові розриви в молекулі ДНК, а ДНК-комет за нейтральних умов – двостричкові розриви в ДНК [33, 34]. Клітини лінії НСТ116 інкубували протягом 24 год з додаванням МІ-1 чи доксорубіцину в концентраціях, що відповідають їхньому показнику IC_{50} . Аналіз ДНК-комет цих клітин-мішеней за лужних умов дав змогу виявити за дії МІ-1 одностричкові розриви в молекулі ядерної ДНК. Наприклад, за дії МІ-1 у концентрації 0,9 мкг/мл ОТМ (*Olive Tail Moment*, [35]) становив $13,2 \pm 1,0$, тоді як доксорубіцин індукував дещо нижчий ОТМ ($10,9 \pm 0,9$). У контролі (необроблені клітини лінії НСТ116) рівень пошкодження ДНК був незначним (ОТМ = $1,8 \pm 0,3$) (рис. 3.8). Отже, за дії речовини МІ-1 у клітинах лінії НСТ116 колоректального раку відбуваються одноланцюгові розриви в молекулі ядерної ДНК.

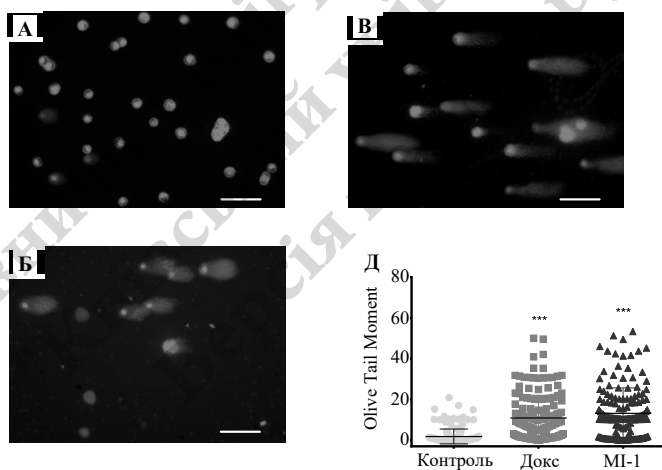


Рис. 3.8. Показник ДНК-пошкоджувального ефекту (результати аналізу ДНК-комет за лужних умов) досліджуваних чинників у пухлинних клітинах лінії НСТ116:

А – контроль, Б – доксорубіцин (0,9 мкг/мл), В – МІ-1 (0,9 мкг/мл), Г – кількісні дані щодо пошкодження ДНК у клітинах на 24-ту год дії цих чинників

Примітка: *** – $p < 0,001$ (суттєві зміни порівняно з контролем (необробленими клітинами)).

Отже, MI-1 (похідне малеїміду – 1-(4-хлоробензил)-3-хлоро-4-(3-трифторметил-феніламіно)-1*H*-пірол-2,5-діон) пригнічує ріст пухлинних клітин-мішеней із IC₅₀ в межах 0,8–51,6 мкг/мл, залежно від їхніх ліній і тканинного походження. Клітини ліній KB3-1 та KBC-1 раку шийки матки людини, а також лінії HCT116 карциноми товстої кишки людини є найчутливішими до токсичної дії MI-1. Зазначений чинник виявляв у шість разів більшу цитотоксичність щодо сублінії з медикаментозною резистентністю клітин лінії KBC-1 раку шийки матки людини, порівняно з дією на ці клітини доксорубіцину. Протипухлинна активність MI-1 знижується в такому порядку: колоректальний рак ≈ лейкоз ≈ сублінія раку шийки матки, стійка до дії колхіцину і з надекспресією Р-глікопротеїну > гліома > рак матки > рак молочної залози ≈ рак легені ≈ рак шийки матки > гепатокарцинома > рак підшлункової залози > рак яєчника. Встановлено, що MI-1 індукує розщеплення прокаспазу 3 з появою її активної форми, а також призводить до збільшення кількості специфічної мітохондріальної нуклеази EndoG, апоптотичного фактора Araf1, і зниження рівня антиапоптотичного білка Bcl-2 у клітинах лінії HCT116 колоректального раку людини. Уперше виявлено здатність MI-1 інтеркалювати у структуру молекули ДНК, що було підтверджено витісненням близько 20 % метилового зеленого із комплексу цього барвника з ДНК. За дії MI-1 зростає кількість суперспіральної форми ДНК, детектованої під час електрофорезу плазмідної ДНК в агарозному гелі. Такий ефект MI-1 був більш вираженим, ніж ефект доксорубіцину, відомого протипухлинного препарату. Останній для своєї цитотоксичної дії інтеркалює у структуру молекули ДНК. Аналіз ДНК-комет за лужних умов допоміг виявити, що MI-1 пошкоджує структуру ДНК у клітинах-мішенях, викликаючи одониткові розриви в її молекулі.

Джерела

1. Kuznietsova N. M., Hurmach V. V., Bychko A. V., Tykhoniuk O. I., Milokhov D. S., Khilya O. V., Volovenko Y. M., Rybalchenko V. K. Synthesis and biological activity of 4-amino-3-chloro-1*H*-pyrrole-2,5-diones. In *Silico Pharmacol.* 2019;7:2. DOI: 10.1007/s40203-019-0051-2.

2. Dubinina G. G., Chupryna O. O., Platonov M. O., Borisko P. O., Ostrovska G. V., Tolmachov A. O., Shtil A. A. *In silico* design of protein kinase inhibitors: successes and failures. *Anticancer Agents Med. Chem.* 2007;7(2):171-188. DOI: 10.2174/187152007780058704.

3. Zhang J., Yang P. L., Gray N. S. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nature Rev. Cancer.* 2009;9(11):28-39. DOI: 10.1038/nrc2559.

4. Kuznietsova H. M., Yena M. S., Kotlyar I. P., Ogloblya O. V., Rybalchenko V. K. Anti-inflammatory effects of protein kinase inhibitor pyrrol derivative. *Sci. World J.* 2016;2016:2145753. DOI: 10.1155/2016/2145753.

5. Kuznietsova H. M., Lynchak O. V., Danylov M. O., Kotliar I. P., Rybalchenko V. K. Effect of dihydropyrrol and maleimide derivatives on the state of liver and colon in normal rat and those with colorectal carcinogenesis induced by dimethylhydrazine. *Ukr. Biochem. J.* 2013;85(3):74-84. DOI: 10.15407/ubj85.03.074.

6. Харчук І. В., Андрухова О. О., Рибальченко В. К., Андрухов О. Механізми нефротоксичності нової протицхлінної сполуки – похідного малеїміду МІ-1. *Фізіологічний журнал.* 2013;59 (3):50–57.

7. Кузнєцова Г. М., Дзюбенко Н. В., Линчак О. В., Тихонюк О. І., Мілохов Д. С., Хиля О. В., Рибальченко В. К. Гепатопротекторна дія інгібітора протеїнкіназ 1-(4-СІ-бензил)-3-хлор-4-(СF3-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діону за умов розвитку гострого холангіту щурів. *Доповіді НАН України.* 2018;5:83–90. DOI: 10.15407/dopovidi2018.05.083.

8. Bhullar K. S., Lagarón N. O., McGowan E. M., Parmar I., Jha A., Hubbard B. P., Rupasinghe H. Kinase-targeted cancer therapies: progress, challenges and future directions. *Mol. Cancer.* 2018;17(1):48. DOI: 10.1186/s12943-018-0804-2.

9. Kannaiyan R., Mahadevan D. A comprehensive review of protein kinase inhibitors for cancer therapy. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2018;18(12):1249-1270. DOI: 10.1080/14737140.2018.1527688.

10. Ismail N. S. M., Ali G. M. E., Ibrahim D. A., Elmetwali A. M. Medicinal attributes of pyrazolo[1,5-a]pyrimidine based scaffold derivatives targeting kinases as anticancer agents. *Future J. Pharm. Sci.* 2016;2:60-70. DOI: 10.1016/j.fjps.2016.08.004.

11. Köstler W. J., Zielinski C. C. Targeting receptor tyrosine kinases in cancer. In *Receptor Tyrosine Kinases: Structure, Functions and Role in Human Disease.* New York: Cold Spring Harbor, 2015:225-278.

12. Mudgapalli N., Nallasamy P., Chava H., Chava S., Pathania A. S., Gunda V., Gorantla S., Pandey M. K., Gupta S. C., Challagundla K. B. The role of exosomes and MYC in therapy resistance of acute myeloid leukemia: Challenges and opportunities. *Mol. Aspects Med.* 2019;70:21-32. DOI: 10.1016/j.mam.2019.10.001.

13. Druker B. J., Guilhot F., O'Brien S. G., Gathmann I., Kantarjian H., Gattermann N., Deininger M. W., Silver R. T., Goldman J. M., Stone R. M. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2006;355:2408-2417. DOI: 10.1056/NEJMoa062867.

14. Kumar A., Ahmad I., Chhikara B. S., Tiwari R., Mandal D., Parang K. Synthesis of 3-phenylpyrazolopyrimidine-1,2,3-triazole conjugates and evaluation of their Src kinase inhibitory and anticancer activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011;21:1342-1346. DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.01.047

15. Lombardo L. J., Lee F. Y., Chen P., Norris D., Barrish J. C., Behnia K., Castaneda S., Cornelius L. A., Das J., Doweyko A. M. Discovery of N-(2-chloro-6-methyl-phenyl)-2-(6-(4-(2-hydroxyethyl)-piperazin-1-yl)-2-methylpyrimidin-4-ylamino)-thiazole-5-carboxamide (BMS-354825), a dualSrc/Abl kinase inhibitor with potent antitumor activity in preclinical assays. *J. Med. Chem.* 2004;47:6658-6661. DOI: 10.1021/jm049486a.

16. Fabian M. A., Biggs W. H., Treiber D. K., Atteridge C. E., Azimioara M. D., Benedetti M. G., Carter T. A., Ciceri P., Edeen P. T., Floyd M. A small molecule-kinase interaction map for clinical kinase inhibitors. *Nat. Biotechnol.* 2005;23:329-336. DOI: 10.1038/nbt1068.

17. Finiuk N. S., Ivasechko I. I., Klyuchivska O. Yu., Kuznietsova H. M., Rybalchenko V. K., Stoika R. S. Cytotoxic action of maleimide derivative 1-(4-Cl-benzyl)-3-chloro-4-(CF(3)-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione toward mammalian tumor cells and its capability to interact with DNA. *Ukr. Biochem. J.* 2020;92(4):55-62. DOI: 10.15407/ubj92.04.055.

18. Kobylynska L. I., Boiko N. M., Panchuk R. R., Grytsyna I. I., Klyuchivska O. Y., Biletska L. P., Lesyk R. B., Zimenkovsky B. S., Stoika R. S. Putative anticancer potential of novel 4-thiazolidinone derivatives: cytotoxicity toward rat C6 glioma in vitro and correlation of general toxicity with the balance of free radical oxidation in rats. *Croat. Med. J.* 2016;57(2):151-163. DOI: 10.3325/cmj.2016.57.151.

19. Etti I. C., Rasedee A., Hashim N. M., Abdul A. B., Kadir A., Yeap S. K., Waziri P., Malami I., Lim K. L., Etti C. J. Artonin E

induces p53-independent G1 cell cycle arrest and apoptosis through ROS-mediated mitochondrial pathway and living suppression in MCF-7 cells. *Drug Des. Devel. Ther.* 2017;11:865–879. DOI: 10.2147/DDDT.S124324.

20. Blandino G., Di Agostino S. New therapeutic strategies treat human cancers expressing mutant p53 proteins. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2018;37(1):30. DOI: 10.1186/s13046-018-0705-7.

21. Schlacher K. A new road to cancer-drug resistance. *Nature* 2018;563:478-480. DOI: 10.1038/d41586-018-07188-1.

22. Housman G., Byler S., Heerboth S., Lapinska K., Longacre M., Snyder N., Sarkar S. Drug resistance in cancer: an overview. *Cancers.* 2014;6(3):1769-1792. DOI: 10.3390/cancers6031769.

23. Mahmood T., Yang P. C. Western blot: technique, theory, and trouble shooting. *N. Am. J. Med. Sci.* 2012;4(9):429–434. DOI: 10.4103/1947-2714.100998.

24. McIlwain D. R., Berger T., Mak T. W. Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2013;5(4):a008656. DOI: 10.1101/cshperspect.a008656.

25. Hsu C. C., Tseng L. M., Lee H. C. Role of mitochondrial dysfunction in cancer progression. *Exp. Biol. Med. (Maywood).* 2016;241(12):1281–1295. DOI: 10.1177/1535370216641787.

26. Ngoi N., Choong C., Lee J., Bellot G., Wong A., Goh B. C., Pervaiz S. Targeting mitochondrial apoptosis to overcome treatment resistance in cancer. *Cancers.* 2020;12(3):574. DOI: 10.3390/cancers12030574.

27. Campbell K. J., Tait S. Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer. *Open Biol.* 2018;8(5):180002. DOI: 10.1098/rsob.180002.

28. Yoshida H., Kong Y. Y., Yoshida R., Elia A. J., Hakem A., Hakem R., Penninger J. M., Mak T. W. Apaf1 is required for mitochondrial pathways of apoptosis and brain development. *Cell.* 1998;94(6):739–750. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81733-x.

29. Lu M., Wang Y., Zhan X. The MAPK pathway-based drug therapeutic targets in pituitary adenomas. *Front. Endocrinol.* 2019;10:330. DOI: 10.3389/fendo.2019.00330.

30. Palchadhuri R., Hergenrother P. J. DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007;18:497-503. DOI: 10.1016/j.copbio.2007.09.006.

31. Basnakian A. G., Apostolov E. O., Yin X., Abiri S. O., Stewart A. G., Singh A. B., Shah S. V. Endonuclease G promotes cell death of

non-invasive human breast cancer cells. *Exp. Cell Res.* 2006;312(20): 4139-4149. DOI: 10.1016/j.yexcr.2006.09.012.

32. Mitra S., Nguyen L. N., Akter M., Park G., Choi E. H., Kaushik N. K. Impact of ROS generated by chemical, physical, and plasma techniques on cancer attenuation. *Cancers.* 2019;11(7):1030. DOI: 10.3390/cancers11071030.

33. Finiuk N. S., Ivasechko I. I., Klyuchivska O. Yu., Ostapiuk Yu. V., Hreniukh V. P., Shalai Ya. R., Matiychuk V. S., Obushak M. D., Babsky A. M., Stoika R. S. Apoptosis induction in human leukemia cells by novel 2-amino-5-benzyl thiazole derivatives. *Ukr. Biochem. J.* 2019;91(2):29-39. DOI: 10.15407/ubj91.02.029.

34. Lu Y., Liu Y., Yang C. Evaluating In Vitro DNA Damage Using Comet Assay. *J. Vis. Exp.* 2017;128:56450. DOI: 10.3791/56450.

35. Liao W., McNutt M. A., Zhu W. G. The comet assay: a sensitive method for detecting DNA damage in individual cells. *Methods.* 2009;48(1):46–53. DOI: 10.1016/j.ymeth.2009.02.016.

3.2. Токсичність похідних піролу *in vivo*

Під час розроблення будь-якого медикаменту на основі активної речовини важливим, поряд з ефективністю його терапевтичної дії, є відсутність негативного впливу на стан організму за тривалого застосування. З огляду на це дослідження потенційних негативних наслідків дії на організм щодо нетоксичних похідних піролу МІ-1 та Д1 за підгострої, субхронічної та хронічної дії й уведення повторних доз є необхідним етапом доклінічних досліджень цих похідних піролу.

3.2.1. Підгостра дія похідних піролу на органи шлунково-кишкового тракту

Похідні піролу МІ-1 та Д1, що виявляють цитостатичну дію щодо багатьох пухлинних ліній, були нетоксичними для нормальних клітин ($LC_{50} > 100 \mu M$) і практично нетоксичними за їхньої гострої дії *in vivo* у лабораторних щурів ($LD_{50} = 400\text{--}500 \text{ мг/кг}$) [1, 7]. Досліджуючи ефекти похідних піролу після введення повторних доз, що перевищують терапевтично ефективну у 5 та 10 разів (поріг, прийнятий і достатній у доклінічних дослідженнях) [18], встановлено, що зазначені сполуки, діючи в умовно

ЗМІСТ

Список скорочень	3
Передмова	7
Вступ	11
Розділ 1. Молекулярно-генетичні механізми канцерогенезу	17
1.1. Коротка історія дослідження канцерогенезу	17
1.2. Механізми канцерогенезу. Колоректальний рак	24
1.2.1. Генетичні механізми канцерогенезу	24
1.2.2. Епігенетичні механізми канцерогенезу	34
1.2.3. Концепція ракової стовбурової клітини	42
1.2.4. Колоректальний канцерогенез: сучасні уявлення	43
1.3. Підходи в лікуванні раку. Хіміотерапія	55
1.3.1. Класична хіміотерапія	56
1.3.2. Таргетна терапія	58
1.3.3. Персоналізована терапія – новітній підхід у лікуванні	62
1.3.4. Медикаментозна резистентність	64
1.4. Імунна система і канцерогенез	70
1.4.1. Анतिकанцерогенна і проканцерогенна дія імунних клітин	71
1.4.1.1. Імунна чекпойнт-блокада: роль рецептора PD-1 і його ліганда	71
1.4.1.2. Роль молекули MR1 у маскуванні пухлинних клітин	72
1.4.1.3. Роль системи CAR-T у націлюванні імунних клітин на клітини пухлин	74
1.4.1.4. Протуморогенні регуляторні Т-клітини (Treg)	75
1.4.1.5. Протуморогенний регуляторний потенціал $\gamma\delta$ Т-клітин	80

1.4.2. Дослідження механізмів резистентності лабораторних мишей до прищеплення їм експериментальних пухлин	83
1.4.3. Гетерогенність клітин асцити мишачої лімфоми NK/Ly за розміром і вмістом поверхневих рецепторів до галактозоспецифічного лектину арахісу	90
1.4.4. Макрофаги, асоційовані з пухлиною, та їхня роль у канцерогенезі	96
1.4.4.1. Роль макрофагів у мікросередовищі пухлини	96
1.4.4.2. Взаємодія макрофагів з пухлинними клітинами та клітинами-свідками	100

Розділ 2. Протипухлинні препарати на основі похідних піролу

2.1. Молекулярний дизайн і синтез похідного піролу MI-1	110
2.1.1. Методи синтезу 3,4-дихлоромалеїнімідів та їхня взаємодія з нуклеофільними агентами	112
2.2. Взаємодія 3,4-дихлоромалеїнімідів з амінами, амінокислотами, нуклеофілами й іншими сполуками	127
2.3. Синтез наноконструкцій фулерену C60 з похідним піролу MI-3OH	137
2.4. Мембранотропна активність похідних піролу	142

Розділ 3. Біологічна активність похідних піролу

3.1. Антипроліферативна дія MI-1 й індукування ним апоптозу в пухлинних клітинах <i>in vitro</i>	159
3.1.1. Цитотоксична дія MI-1	160
3.1.2. Взаємодія MI-1 із ДНК	167
3.2. Токсичність похідних піролу <i>in vivo</i>	175
3.2.1. Підгостра дія похідних піролу на органи шлунково-кишкового тракту	175
3.2.2. Субхронічна дія похідних піролу	178
3.2.3. Хронічна дія похідних піролу	179
3.3. Вплив похідних піролу на гемопоез	184
3.3.1. Роль протеїнкіназ у проліферуванні і диференціюванні гемопоетичних клітин	185
3.3.2. Пухлиноасоційовані зміни гемопоезу за розвитку неопластичного процесу в організмі на прикладі раку товстої кишки	190

3.3.3. Гематологічні ефекти похідних піролу на тлі пухлиноасоційованих змін гемопоезу на моделі ДМГ-індукованого канцерогенезу товстої кишки у щурів	193
3.3.4. Вплив похідних піролу на нормальний гемопоез щурів у дозах, що пригнічують колоректальний канцерогенез	199
3.3.5. Морфофункціональний стан клітин крові та кісткового мозку за впливу 5- і 10-кратних від ефективної доз похідного піролу МІ-1 порівняно із цитостатиком 5-фторурацилом.....	203
3.3.6. Інгібітори протеїнкіназ як протипухлинні препарати	207
3.3.7. Клітини лейкозів як мішень для протипухлинної дії похідних піролу.....	210
3.3.8. Неопластичні клітини гемопоетичного походження лінії U-937, K562, L1210 як модель для дослідження лейкозів	212
3.3.9. Вплив похідного піролу на неопластичні клітини гемопоетичного походження різних напрямів диференціювання	214
3.3.10. Вплив похідного піролу (МІ-1) на морфофункціональний стан неопластичних монобластних клітин лінії U-937.....	216
3.3.11. Вплив похідного піролу (МІ-1) на морфофункціональний стан мишачих лейкозних В-клітин лінії L1210.....	220
3.3.12. Вплив похідного піролу (МІ-1) на морфофункціональний стан неопластичних мієлоїдних, еритробластних і мегакаріобластних клітин.....	222
3.4. Вплив похідних піролу на процеси запалення	243
3.4.1. Інгібітори протеїнкіназ як засоби для терапії запальних захворювань кишечника.....	246
3.4.2. Протизапальна активність похідних піролу за гострого та хронічного виразкового коліту й механізми її реалізації.....	249
3.5. Вплив похідних піролу на злоякісний ріст (на прикладі колоректального раку)	256
Узагальнення.....	271

Наукове видання

РИБАЛЬЧЕНКО Володимир Корнійович
СТОЙКА Ростислав Степанович
КУЗНЕЦОВА Галина Миколаївна
та ін.

ПОХІДНІ ПІРОЛУ В БІОЛОГІЇ І МЕДИЦИНІ СИНТЕЗ, ПРОТИЗАПАЛЬНА І ПРОТИПУХЛИННА ДІЯ

Монографія

Редактор Т. Гуз

Оригінал-макет виготовлено ВПЦ "Київський університет"



Формат 60x84^{1/16}. Ум. друк. арк. 16,27. Наклад 100. Зам. № 223-10637.
Гарнітура Times New Roman. Папір офсетний. Друк офсетний. Вид. № ВТ6.
Підписано до друку 15.09.23

Видавець і виготовлювач
ВПЦ "Київський університет"

Б-р Тараса Шевченка, 14, м. Київ, 01601, Україна
☎ (044) 239 32 22; (044) 239 31 72; тел./факс (044) 239 31 28
e-mail: vpc@knu.ua; vpc_div.chief@univ.net.ua; redaktor@univ.net.ua
http: vpc.knu.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1103 від 31.10.02