

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НОВОГО ПОХІДНОГО  
1,4-ЗАМІЩЕНИХ 5-АМІНО-1,2-ДИГІДРОПІРОЛ-  
3-ОНУ З АНТИПРОЛІФЕРАТИВНОЮ  
АКТИВНІСТЮ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ  
СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ**

**С.В. Яблонська, О.М. Філінська, О.Ю. Ямшанова,  
І.П. Котляр, Г.В. Островська, Ю.М. Воловенко,  
В.К. Рибальченко**

*Київський національний університет ім. Тараса Шевченка*

**Вступ**

В останні 15 років сформувався новий напрямок в лікуванні злоякісних новоутворень - цільова, або таргетна (target - ціль, мішень) терапія [7]. Основною її відмінністю від класичної хіміотерапії є дія на "мішень" в пухлинних клітинах та відсутність впливу на нормальні клітини організму. Таргетна терапія повинна відповідати щонайменше двом критеріям:

- діяти на мішень: рецептор, ростовий фактор, фермент, в т.ч. протеїнкінази і ін., які задіяні в передачі стимулюючого сигналу у пухлинну клітину [4];
- не мати токсичності.

Значна частина розроблених потенційних лікарських засобів не проходить всі стадії доклінічних та клінічних випробувань через низьку ефективність, токсичність для організму, прояв побічних ефектів та виникнення резистентності при тривалому застосуванні. Новосинтезована сполука 1-(4-(2-етил)морфолін)-4-(бензо[d]тіазол-2-іл)-5-аміно-1,2-дигідропірол-3-он (ДК-1) [2] інгібує протеїнкінази клітин, які беруть участь у процесах канцерогенезу і є потенційним протипухлинним засобом таргетної дії. Значна цитостатична дія препарату виявлена, зокрема, на культурах клітин раку молочної залози, товстого кишечника, лейкемії та меланоми [2].

Ферментативні системи клітини, які каталізують ключові реакції клітинного метаболізму і локалізовані в цитозолі та

органелах, завжди чутливо реагують при дії екзогенних речовин на організм. Одним з перших органів, що зазнає впливу речовин екзогенного походження є печінка - саме в ній здійснюються процеси детоксикації ксенобіотиків [5]. Високочутливими показниками стану печінки є активність внутрішньоклітинних ферментів аланін-амінотрансферази (КФ 2.6.1.2; АлАТ), аспартат-амінотрансферази (КФ 2.6.1.1; АсАТ), лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27; ЛДГ), лужної фосфатази (КФ 3.1.3.2; ЛФ) та вміст білірубину - жовтого гемохромного пігменту [1, 6]. Показником функції нирок і печінки є вміст сечовина в крові, він відображає баланс між швидкістю її синтезу в печінці і швидкістю виведення нирками [1]. Креатинін є кінцевим продуктом обміну білків, що утворюється в печінці, а також кінцевим продуктом перетворення креатинфосфату, що бере участь в енергетичному обміні м'язової тканини.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана в рамках науково-дослідної теми "Дослідження механізмів функціонування органів травного тракту та розробка методів їх корекції" (№ державної реєстрації 0104U009878) Київського національного університету імені Тараса Шевченка як складової комплексної державної наукової програми "Здоров'я людини".

**Метою** нашої роботи є вивчення впливу ДК-1 після 30-денного інтрагастрального введення на активність ферментів сироватки крові АлАТ, АсАТ, ЛДГ, ЛФ і вмісту загального білірубину, сечовини і креатиніну.

**Матеріали та методи дослідження**

Для проведення експериментів використовували білих щурів-самців з початковою масою 100-120 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. ДК-1, розчинену в соняшниковій олії та 15% ДМСО, вводили інтрагастрально в об'ємі 0,1 мл протягом 30 днів в дозах 0,024 та 2,4 мг/кг маси тіла, що відповідає концентрації  $10^6$  та  $10^4$  моль/л в крові відповідно. Щурів присипляли, використовуючи інгаляційний ефірний наркоз. З пахової вени тварин збирали кров, залишаючи її на 20 хв для утворення згустку, після чого кров центрифугували 5 хв при

1000g (3000 об/хв) на центрифугі ОПН-8. В сироватці щурів визначали активність АЛАТ, АсАТ, ЛФ та вміст креатиніну за допомогою стандартних наборів реактивів фірми "Філісіт-Діагностика" (Україна), активність ЛДГ, вміст сечовини - фірми "PLIVA Lachema" (Республіка Чехія), вміст загального білірубіну - фірми "Реагент" (Україна).

#### Отримані результати та їх обговорення

Встановлено, що під впливом ДК-1 в дозі 2,4 мг/кг відбувається підвищення активності АЛАТ на 26% (рис. 1, А), тоді як активність АсАТ вірогідно не змінюється (рис. 1, Б).

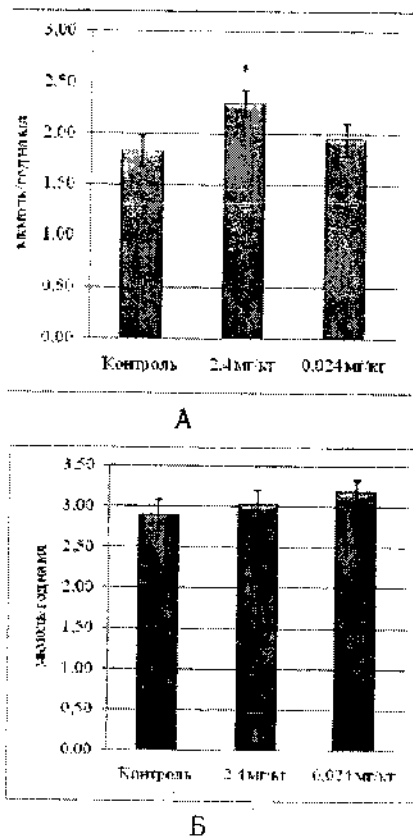


Рис. 1. Активність АЛАТ (А) та АсАТ (Б) в сироватці крові щурів після 30-денного інтрагастрального введення сполуки ДК-1 (\* -  $p < 0,05$ ).

В наслідок цього змінюється коефіцієнт де Рітца (АсАТ/АЛАТ). Так, в контролі він складає 1,6, а під впливом ДК-1 в дозі 2,4 мг/кг дещо знижується і складає 1,32, а в дозі 0,024 мг/кг не відрізняється від норми і складає 1,64. АЛАТ та АсАТ є маркерами синдрому цитолізу та некрозу гепатоцитів, активність цих ферментів може зростати в сироватці крові внаслідок пошкодження цілісності клітин печінки. Отже, ДК-1 в дозі 2,4 мг/кг викликає деяке ушкодження клітин печінки.

ДК-1 в обох дозах після інтрагастрального впливу протягом 30 днів не викликає вірогідних змін вмісту білірубіну в сироватці крові.

Встановлено, що ДК-1 викликає підвищення активності ЛФ на 36% в дозі 2,4 мг/кг і на 25% в дозі 0,024 мг/кг, порівняно з контролем (рис. 2). Це може свідчити про певне порушення біліарної екскреції внаслідок закупорки жовчних протоків в печінці або ураження кісткової тканини.

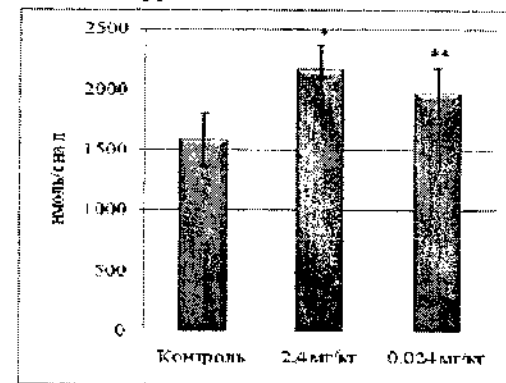


Рис. 2. Активність ЛФ в сироватці крові щурів після 30-денного інтрагастрального введення сполуки ДК-1 (\* -  $p < 0,1$ , \*\* -  $p < 0,2$ ).

ДК-1 після 30-денного інтрагастрального введення викликає пригнічення активності ЛДГ в сироватці крові в обох дозах на 20% порівняно з контролем (рис. 3). Лактатдегідрогеназа це конститутивний фермент будь-яких клітин, що каталізує одну із реакцій гліколізу, підвищення її активності є свідченням ушкодження цілісності клітин печінки, серця, нирок, скелетних м'язів, еритроцитах, а пригнічення може бути наслідком

інгібування процесу гліколізу в клітині. Порушення активності ЛДГ використовується при діагностиці інфаркту міокарда, гемолітичній анемії, пухлинному процесі.

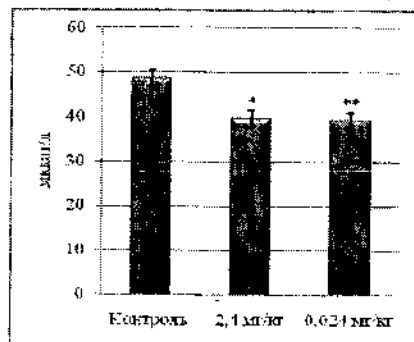


Рис. 3. Активність ЛДГ в сироватці крові щурів після 30-денного інтрагастрального введення сполуки ДК-1 (\* -  $p \leq 0,01$ , \*\* -  $p \leq 0,005$ ).

Встановлено, що ДК-1 викликає зниження вмісту сечовини в сироватці крові на 15% в дозі 2,4 мг/кг та на 30% в дозі 0,024 мг/кг порівняно з контролем (рис. 4).

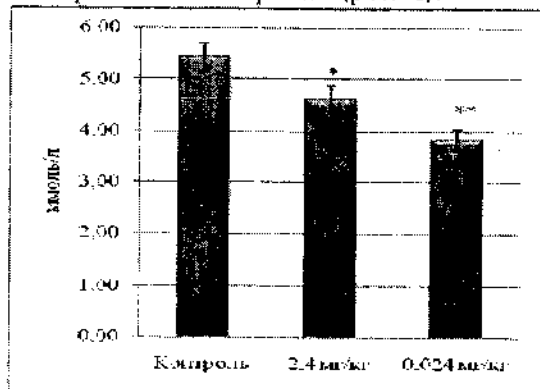


Рис. 4. Вміст сечовини в сироватці крові щурів після 30-денного інтрагастрального введення сполуки ДК-1 (\* -  $p \leq 0,1$ , \*\* -  $p \leq 0,001$ ).

Але це зниження знаходиться в межах норми. Сечовина утворюється із аміаку в печінці і є головним кінцевим продук-

том обміну білків. На її вміст в крові можуть впливати не лише фізіологічні фактори, а також прийом лікарських препаратів при цьому її вміст може помітно зростати. Причин зниження вмісту сечовини може бути багато, одна із них це порушення синтетичної функції печінки.

ДК-1 в дозі 0,024 мг/кг викликає підвищення вмісту креатиніну в сечі на 22% порівняно з контролем (рис. 5).

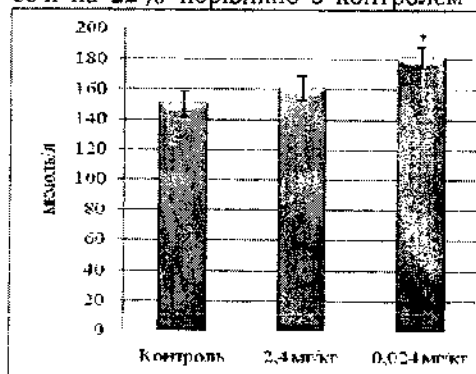


Рис. 5. Вміст креатиніну в сироватці крові щурів після 30-денного інтрагастрального введення сполуки ДК-1 (\* -  $p \leq 0,02$ ).

Креатинін вивільняється із м'язових клітин, потрапляє в кров і транспортується в нирки, а далі виводиться із сечею. Якщо здатність нирок виводити креатинін порушується, то він накопичується в крові. Це є важливим показником порушення фільтрувальної і видільної функції нирок та використовується в діагностиці їх стану.

#### Висновки

1. 1-(4-(2-етил)морфолін)-4-(бензо[d]тіазол-2-іл)-5-аміно-1,2-дигідропірол-3-он (ДК-1) після 30-денного інтрагастрального введення викликає певні порушення цілісності клітин печінки, що більш виражені в дозі 2,4 мг/кг, про що свідчить підвищення активності аланінамінотрансферази та лужної фосфатази.

2. В обох дозах ДК-1 значно пригнічується активність лактатдегідрогенази. В дозі 0,024 мг/кг сполука викликає підвищення вмісту креатиніну, що є показником порушення фільтрувальної і видільної функції нирок.

## Література

1. Маршал В. Дж. *Клиническая биохимия* / В. Дж. Маршал. - М.; С-Пб.: Бином-Невский диалект, 1999. - С. 265-270.
2. Пат № 22204 (Україна). *Сполуки 1,4-двозаміщені 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-діон, що мають протиракову активність* / Дубініна Г.Г., Воловенко Ю.М. Оpubл. 25.04.2007 р.
3. Вплив тривалого інтрагастрального введення щурам 7-гідроксикумарину на ферментативний статус сироватки крові / Є.А. Сластия, О.М. Філінська, С.В. Яблонська, В.К. Рыбальченко // *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: зб. наук. праць.* - Київ; Харків; Луганськ, 2007. - Вип. 3-4 (78-79). - С. 57-61.
4. Novak K. *Conference Report - Protein Kinase Inhibitors in Cancer Treatment: Mixing and Matching?* / K. Novak // *Med. Gen. Med.* - 2004. - Vol. 6, № 2. - P. 25.
5. Pineiro-Carrero V.M. *Liver* / V.M. Pineiro-Carrero, E.O. Pineiro // *Pediatrics.* - 2004. - 113, N 4. - P. 1097-1106.
6. Pratt D.S. *Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients* / D.S. Pratt, M.M. Kaplan // *The New England Journal of Medicine.* - 2000. - 342, N 17 - P. 1266-1271.
7. *Molecularly targeted therapy for malignant glioma* / S. Sathornsumetee, D.A. Reardon, A. Desjardins [et al.] // *Cancer.* - 2007. - V. 110, № 1. - P. 13-24.

## Резюме

**Яблонська С.В., Філінська О.М., Ямшанова О.Ю., Котляр І.П., Островська Г.В., Воловенко Ю.М., Рыбальченко В.К.** Вивчення впливу нового похідного 1,4-заміщених 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-ону з антипроліферативною активністю на біохімічні показники сироватки крові щурів.

Досліджено активність аланін- та аспартамінотрансфераз, лужної фосфатази, лактатдегідрогенази, вміст прямого білірубину, креатиніну, сечовини в сироватці крові щурів за умов субхронічного впливу новосинтезованої сполуки 1-(4-(2-етил)морфолін)-4-(бензо[d]тіазол-2-іл)-5-аміно-1,2-дигідропірол-3-он (ДК-1), що є по-

тенційним протипухлинним засобом таргетної дії. Встановлено, що ДК-1 підвищує активність лужної фосфатази та аланін-амінотрансферази в сироватці крові щурів, що свідчить про ушкодження клітин печінки. ДК-1 не викликає змін активності аспартат-амінотрансферази та знижує активність лактатдегідрогенази. Новосинтезована сполука викликає підвищення вмісту креатиніну, що є показником порушення фільтрувальної і видільної функції нирок.

**Ключові слова:** таргетні препарати, аланін-амінотрансфераза, аспартат-амінотрансфераза, білірубін, лужна фосфатаза, лактатдегідрогеназа, креатинін, сечовина, щури.

## Резюме

**Яблонская С.В., Филинская Е.М., Ямшанова О.Ю., Котляр И.П., Островская Г.В., Воловенко Ю.М., Рыбальченко В.К.** Изучение влияния нового производного 1,4-замещенных 5-амино-1,2-дигидропирирол-3-ону с антипролиферативной активностью на биохимические показатели сыворотки крови крыс.

Исследовано активність аланін- та аспартамінотрансфераз, щелочной фосфатазы, лактатдегідрогеназы, содержание прямого билирубина, креатинина и мочевины в сыворотке крови крыс при условии субхронического влияния новосинтезированного соединения 1-(4-(2-этил)морфолин)-4-(бензо[d]тиазол-2-ил)-5-амино-1,2-дигидропирирол-3-он (ДК-1), которое является новым потенциальным противоопухолевым препаратом таргетного действия. Установлено, что ДК-1 повышает активность щелочной фосфатазы и аланін-амінотрансферазы, что свидетельствует о повреждении клеток печени. ДК-1 не вызывает изменений активности аспартат-амінотрансферазы, понижает активность лактатдегідрогеназы. Новосинтезированное соединение повышает содержание креатинина, что является показателем нарушенной выделительной функции почек.

**Ключевые слова:** таргетные препараты, аланін-амінотрансфераза, аспартат-амінотрансфераза, билирубин, щелочная фосфатаза, лактатдегідрогеназа, креатинин, мочевина, крысы.

## Summary

**Yablonska S.V., Filinska O.M., Yamshanova O.Y., Kotlyar I.P., Ostrovska G.V., Volovenko Y.M., Rybalchenko V.K.** Researching the influence of novel derivative with antiproliferative activity on the biochemical parameters of rat serum.

It was researched the activity of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, and the level of bilirubin, kreatinine, urea in rat serum in effect of the novel derivative - 1-(4-(2-ethyl)morpholine)-4-(benzo[d]thiazol-2-yl)-5-amino-1,2-dihydropyrrole-3-one (DK-1). It is novel potential anticancer medicine with target action. DK-1 causes changes in alanine aminotransferase and alkaline phosphatase in rat serum. It's indicated about the damage of rat liver cells. DK-1 doesn't cause significant changes of aspartate aminotransferase activity, and decreases lactate dehydrogenase activity. The high content of creatinine is indicated about disturbance of kidneys function.

**Key words:** alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, bilirubin, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, creatinine, urea, rats.

*Рецензент: д.біол.н., проф.С.М.Федченко*

# ЕКОЛОГІЧНА І КЛІНІЧНА ІМУНОЛОГІЯ ТА ІМУНОРЕАБІЛІТАЦІЯ