

Міністерство освіти і науки України
Львівський національний університет імені Івана Франка



ПРОТИПУХЛИННІ ПЕРСПЕКТИВИ СУЛЬФУРВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ

Монографія

За редакцією професора *А. М. Бабського*

Львів
2021

УДК

П-

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

Рецензенти: д-р біол. наук, акад. НАН України, проф. С. О. Костерін (Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України, Київ); д-р біол. наук, проф. О. В. Цимбалюк (Київський національний університет імені Тараса Шевченка)

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

Противухлинні перспективи сульфурвмісних гетероциклів : монографія [А. М. Бабський, В. П. Гренюх, О. С. Заїченко та ін.] ; за ред. проф. А. М. Бабського. – П- Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2021. – с. – (Серія “Біологічні Студії”).

ISBN 978-966-613-752-7 (серія)

ISBN

Монографія охоплює важливі аспекти досліджень потенційно противухлинної дії сульфурвмісних 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 лінії 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 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-тіазолідину мають антинеопластичну активність *in vitro* та противухлинну активність *in vivo*. Окрім противухлинної активності, похідні 4-тіазолідину 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, 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

ISBN 978-966-613-752-7 (серія)

ISBN

© А. М. Бабський, В. П. Гренюх,
О. С. Заїченко та ін., 2021

© Львівський національний
університет імені Івана Франка, 2021

ЗМІСТ

Від редактора	5
<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 сульфурвмісних сполук на клітинний цикл пухлинних клітин	21
<i>Н. С. Фінюк, О. Ю. Ключівська, Р. С. Стойка</i> Індукція апоптозу сульфурвмісними 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,</i> <i>М. В. Попович, С. М. Мандзинець, А. М. Бабський</i> Аналіз можливих побічних ефектів похідних тіазолу	49
<i>В. П. Гренюх, А. М. Бабський</i> Біоенергетичні процеси у мітохондріях клітин лімфоми Немет–Келнера як потенційна мішень дії похідних тіазолу	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,</i> <i>М. В. Попович, В. П. Гренюх, О. Р. Кулачковський</i> Вплив похідного тіазолу на ультраструктуру клітин лімфоми	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

ВІД РЕДАКТОРА

Онкологічним патологіям належить провідне місце у світі серед причин смертності населення. В Україні найбільш поширеними є неоплазія молочної залози, легенів, простати, шкіри, центральної нервової системи, лімфатичної та кровоносної систем. Хіміотерапія є дієвим способом лікування онкологічних захворювань. Однак, негативні побічні реакції протипухлинних препаратів послаблюють їхню ефективність. Це в першу чергу стосується неспецифічності препаратів, коли елімінуються не тільки ракові, а й здорові клітини організму, що може призводити до гепато-, кардіо-, нейро- та нефротоксичності. За лікування онкологічних захворювань також часто розвивається резистентність до тих чи інших хіміопрепаратів. На сьогодні вже зрозуміло, що немає універсальних цитотоксичних засобів, які можна було б використати для більшості пухлин на різних стадіях їхнього розвитку. Відтак існує гостра необхідність у створенні нових більш ефективних фармпрепаратів з мінімальною побічною дією і максимально можливою точністю адресної доставки препаратів у ракові клітини. Одним із сучасних напрямків вирішення цих проблем є використання нанобіотехнологій. Сучасні наноносії можуть утворювати комплекси з хімічними протипухлинними препаратами, знижувати дозу діючої речовини, покращувати ефективність і знижувати їхню токсичність.

Сульфурвмісні гетероциклічні сполуки є високоактивними синтетичними речовинами, а тіазольне ядро входить до складу низки біологічно і фармакологічно активних речовин. Похідні тіазолу виявляють противірусну, протибактерійну, протигрибкову, протизапальну, протисудомну та антидепресивну активність. Останнім часом їх також інтенсивно досліджують як потенційні протипухлинні препарати. Для їх синтезу використовують сучасні методи органічної хімії. Однак, як і більшість протипухлинних речовин, похідні тіазолів і тіазолідинонів погано розчиняються у воді та спирті, що перешкоджає їх транспорту крізь клітинні мембрани і фізіологічні бар'єри, а відтак знижує ефективність *in vivo* і перспективи клінічного використання. Для підвищення розчинності протипухлинних речовин інтенсивно вивчають можливості їх інкапсуляції чи комплексності із нанорозмірними носіями на основі полімерів.

У цій монографії підведено підсумок шестирічної роботи колективу науковців кафедри біофізики та біоінформатики і кафедри фізіології людини і тварин

Львівського національного університету імені Івана Франка у співпраці із провідними спеціалістами з різних галузей органічної хімії, фізіології, біохімії та біофізики, які інтенсивно і продуктивно працюють над проблемними питаннями сучасної онкології. Зокрема активну участь у проєкті беруть науковці кафедри органічної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка, Інституту біології клітини НАН України, кафедри органічної хімії Національного університету “Львівська політехніка” та Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Фінансову підтримку наші дослідження мали від Міністерства освіти та науки України у формі наукових грантів № 0116U001533 “Енергетичні процеси у мітохондріях ракових клітин та гепатоцитів за дії азолів і похідних фурану з протипухлинною активністю” (2016 – 2018 рр.) та № 0119U002201 “Механізми подолання резистентності та підвищення ефективності протипухлинної дії похідних тіазолу в комплексі з нанорозмірними полімерними носіями” (2019 – 2021 рр.).

Автори щиро вдячні рецензентам монографії академіку НАН України, д.б.н., проф. С. О. Костеріну та д.б.н. О. В. Цимбалюк за цінні зауваження та побажання, а завідувачеві редакції наукового журналу “Біологічні студії/Studia Biologica” І. М. Старунькові за технічну підготовку ілюстративного матеріалу та макетування книжки. Сподіваємось, що монографія буде корисною і повчальною для біологів, хіміків і медиків, яких цікавлять проблеми онкології і вони працюють над пошуком нових протипухлинних препаратів, а також для студентів і аспірантів медико-біологічного профілю. Будемо вдячні читачам за їхні побажання, уточнення та критику, які ми обов’язково візьмемо до уваги у наших наступних дослідженнях із мрією побачити колись досліджувані нами речовини у переліку рекомендованих протипухлинних препаратів.

Андрій Бабський,
завідувач кафедри біофізики та біоінформатики
Львівського національного університету імені Івана Франка,
доктор біологічних наук, професор

СИНТЕЗ ПОХІДНИХ 2-АМІНОТІАЗОЛУ

Ракові захворювання стали другою за смертністю загрозою для здоров'я та життя людей, поруч із серцево-судинними патологіями. Незважаючи на титанічні зусилля у розробці методів і препаратів для діагностики і терапії раку та значні досягнуті результати, сучасних протиракових засобів першої лінії недостатньо, головню, через побічні ефекти та появу резистентності. Тому і надалі є нагальна потреба у розробці нових протипухлинних засобів з високою активністю, вибірковістю дії та низькою токсичністю.

Відомо, що у багатьох природних та синтетичних сполуках з різноманітними фармакологічними ефектами, включаючи потенційну протиракову активність, міститься тiazольний цикл. А 2-амінотіазольний скафолд зараховують до привілейованих структур [Wan et al., 2021] під час розробки протиракових агентів на основі таких біологічних мішеней, як тубулін, гістонацетилаза/гістондеацетилаза (НАТ/HDAC), фосфатидилінозитол-3-кінази (PI3Ks), Src/Abl-кіназа, BRAF-кіназа, кіназа рецептора епідермального фактора росту (EGFR) і сфінгозин-кіназа (SphK). Проводять також дослідження взаємозв'язку структури й активності (SAR) похідних тiazолу [Leoni et al., 2017; Mahmoodi et al., 2015; Sharma et al., 2020; Mishra et al., 2017].

Ядро тiazолу – це п'ятичленний гетероцикл із атомами сірки та азоту в положеннях 1 та 3 відповідно, який є фрагментом багатьох біоактивних сполук природного походження, наприклад, вітаміну В₁ (тіамін) [Das et al., 2016]. Аміногрупа у 2-амінотіазолі є активною функційною групою, що дає змогу зв'язати тiazольний цикл з іншими біоактивними фрагментами. Завдяки можливості таких модифікацій заміщені 2-амінотіазоли виступають універсальними структурними блоками для створення різноманітних похідних з біологічною активністю [Klose et al., 1983]. Багато сполук, що містять 2-амінотіазольний фрагмент, були схвалені як фармацевтичні засоби. Наприклад, фамотидин (див. рис. 1), антагоніст гістамінового H₂-рецептора, застосовують для лікування пептичної виразки та гастроєзофагеального рефлюксу, інгібуючи секреції шлункових соків (1) [Laine et al., 2012]. Абафунгін (2), протигрибковий препарат, застосовують у терапії дерматомікозів [Borelli et al., 2008]. Цефдінір (3), цефалоспориновий антибіотик третього покоління, може бути використаний для

лікування пневмонії, хронічного бронхіту, синуситу, фарингіту, тонзилітів [Guay et al., 2002]. Рилузол (4) – затверджений для лікування бічного аміотрофічного склерозу, що містить 2-амінотіазольний каркас (рис. 1) [Bellingham et al., 2011]. Нещодавно похідні 2-амінотіазолу показали перспективні результати у лікуванні раку молочної залози [Speyer et al., 2011, Speyer et al., 2014, Speyer et al., 2016, Teh et al., 2015], меланоми [Namkoong et al., 2007, Le et al., 2010, Khan et al., 2011, Lee et al., 2011, Wall et al., 2015, Wen et al., 2014, Rosenberg et al., 2015], гліоми [Zhang et al., 2015] та раку простати [Akamatsu et al., 2009].

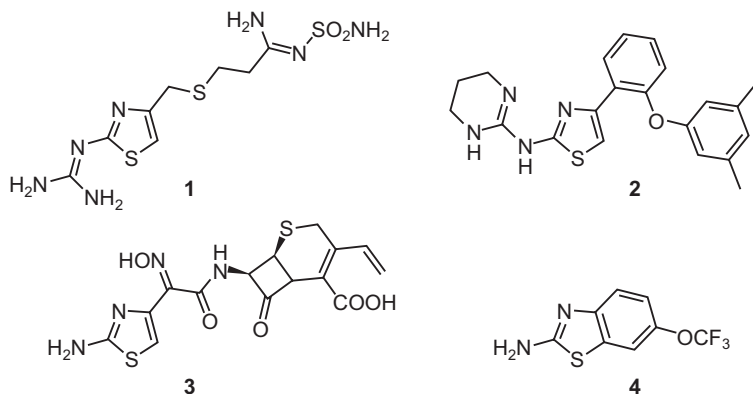
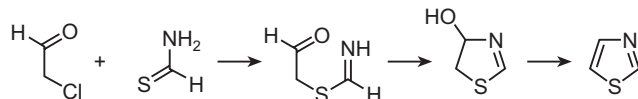


Рис. 1. Деякі затверджені фармацевтичні препарати із 2-амінотіазольним скафолдом: 1 –фамотидин; 2 – абафунгін; 3 – цефідінір; 4 – рилузол

Зважаючи на перспективність досліджень біологічної активності сполук на основі тіазолу, безсумнівною є потреба у розробці нових, зручних підходів до конструювання та модифікації тіазольного ядра.

Синтез тіазолів

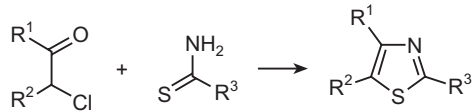
Класичним підходом до конструювання тіазольного циклу є синтез Ганча, що полягає у взаємодії галогенокетонів з тіоамідами. Сам тіазол із високим виходом можна отримати конденсацією α -хлорацетальдегіду з тіоформамідом [Hantzsch, 1889]:



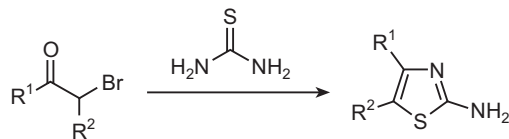
Молекула тіазолу є гетероароматичною 6π -електронною системою. Завдяки наявності у кільці атома азоту піридинового типу тіазол за своїми хімічними властивостями близький до піридину і у дечому – до тіофену. Зокрема, тіазол хоча й вступає у реакції електрофільного заміщення, але його реакційна здатність знижується внаслідок *N*-протонування або комплексоутворення з кислотами Льюїса. Без застосування кислот Льюїса реакції електрофільного заміщення, наприклад, нітрування у середовищі оцтового ангідриду чи бромовання у тетрахлорометані, йдуть у положення 5. У цьому разі реакційна здатність положень тіазольного

ядра зменшується в ряду $5 > 2 > 4$. Тіазолу властиві також реакції нуклеофільного заміщення, найлегше – у положення 2. Як приклад можна навести амінування за реакцією Чичибабіна чи реакції металювання. Зважаючи на це, за синтезу цільових тіазоловмісних сполук намагаються ввести необхідні замісники на стадії формування тіазольного циклу, і синтез Ганча у цьому випадку є одним з найзручніших підходів. Або ж це можна зробити модифікацією функційних груп (наприклад, аміногрупи), наявних в циклі.

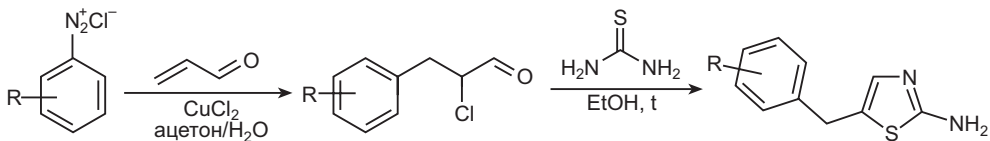
Межі застосування реакції Ганча досить широкі. Взаємодію α -галогенокарбонільних сполук з реагентами, що містять тіоамідну групу, використовують для введення алкільних, арильних, арилалкільних або гетероарильних замісників у 2-, 4- чи 5-положення тіазольного каркасу [Obushak et al., 1997, 2004]:



Використання у такому синтезі тіосечовини є ефективним підходом до одержання 2-амінотіазолів з практично кількісними виходами [Hantzsch et al., 1889]:

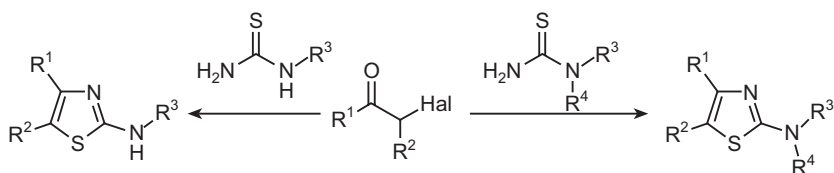


Окремо варто відзначити спосіб синтезу за такою схемою 2-амінотіазолів з бензильними замісниками у положенні 5, оскільки ці замісники є фармакофорними. Сполуки такого типу стали доступними після того як був опрацьований метод одержання відповідних реагентів – 3-арил-2-хлорпропанальв хлорарилуванням акролеїну хлоридами арендіазонію за реакцією Мерсвейна [Obushak et al., 1997, 2004]:

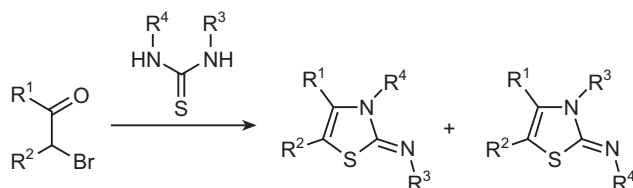


Важливою обставиною у цій синтетичній схемі, суттєвою для досліджень біологічної активності сполук, є можливість варіювати у широких межах замісник R, оскільки вихідні аміни для діазотування комерційно доступні.

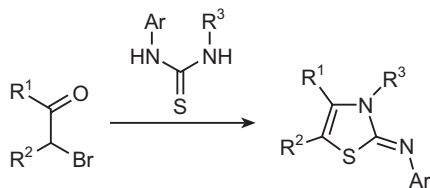
Заміщені тіосечовини також придатні для використання у такому синтезі. Наприклад, *N*-монозаміщені та *N,N*-дизаміщені тіосечовини під час взаємодії з α -галогенокарбонільними сполуками утворюють 2-монозаміщені чи 2,2-дизаміщені 2-амінотіазоли [Matiyuchuk et al., 2010]. Однак, варто відзначити, що у разі використання *N,N*-дизаміщених тіосечовин виходи у реакції з галогенокарбонільними сполуками зазвичай помітно зменшуються і становлять 30–70 %.



У разі використанні у синтезі Ганча N,N' -дизаміщених тіосечовин можуть утворюватись суміші продуктів [Metzger, 1979]:



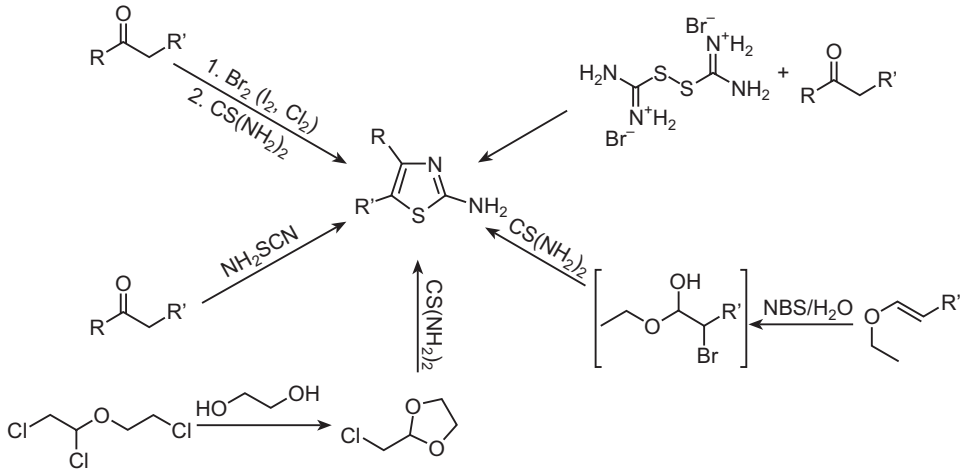
Лише якщо замісники (Ar, R^3) забезпечують суттєву різницю у нуклеофільності атомів азоту тіосечовини (наприклад, арильний та алкільний замісники), то селективно утворюється один продукт [Матійчук та ін., 2002]:



Отже, типовим попередником для одержання 2-амінотіазолів слугують α -галогенокарбонільні сполуки. Найпоширенішим підходом до синтезу сполук цього типу є пряме галогенування кетонів чи альдегідів.

На сьогоднішній день розроблені численні підходи до конструювання 2-амінотіазольного ядра, які часто є модифікаціями методу Ганча. Вони включають взаємодію α -галогенокарбонільних сполук, чи навіть карбонільних сполук, з тіосечовинами або тіоамідами за наявності бром/йоду, тетраклоросилану, 1,3-ди-*n*-бутилмідазолію тетрафтороборату, амонію молібдофосфату, циклодекстрину, NaCl_2 або різних гомогенних та гетерогенних каталізаторів [Potewar et al., 2007, Ghodse et al., 2015, Abedi-Jazini et al., 2016]. Наприклад, карбонільні сполуки можуть бути перетворені дією бром у відповідні бромпохідні, які реагують з тіосечовиною формуючи тіазольне кільце [Dziuk et al., 2018]. Реакція трихлоретеру з етиленгліколем веде до формування циклічного α -галогенацеталю, який слугує хорошим синтетичним попередником 2-амінотіазолу [Aistle et al., 1955]. Ще один підхід ґрунтується на конденсації роданаміну (H_2NSCN) з десятикратним надлишком заміщеного ацетооцтового естеру в розплаві при 100–120 °C [Schmitz et al., 1970]. Аналогічно проходить конденсація етилацетоацетату (чи інших заміщених ацетооцтових естерів) з гідробромідом дисульфід формамідину, в якій утворюються заміщені 2-амінотіазоли з виходами 57–62% [King et al., 1947]. Під час взаємодії етил β -етоксиакрилату з *N*-бромсукцинімідом утворюється напівцеталь етил α -бром- α -формілацетату, циклізація якого *in situ*

з тіосечовинами веде до 2-амінотіазол-5-карбоксилатів [Zhao et al., 2001]. Ці синтетичні підходи до формування 2-амінотіазолів узагальнені на схемі:

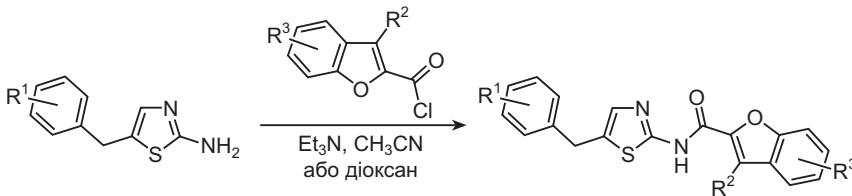


Підходи до модифікації аміногрупи у 2-амінотіазолах

Синтез амідів. Аміді заміщених 2-амінотіазолів – це великий масив органічних сполук, біологічну активність яких активно досліджують в останні десятиліття.

На рис. 2 представлено вибрані представники 2*N*-ацильованих похідних 2-амінотіазолу, що виявили високу активність під час дослідження протипухлинної активності [Wan et al., 2021; Leoni et al., 2017; Mahmoodi et al., 2015; Sharma et al., 2020; Mishra et al., 2017].

Варто зазначити, що понижена нуклеофільність аміногрупи у положенні 2 тіазолу не дає змоги використовувати естери карбонових кислот як ацилюючі агенти, однак ці аміни легко реагують з ангідридами чи хлорангідрідами карбонових кислот за наявності основ. Такі реакції проходять у м'яких умовах та з високими, чи навіть кількісними виходами [Finiuk et al., 2019]:



Модифікація 2-аміногрупи до (2-тіазоліл)сечовин та тіосечовин. В останнє десятиліття ведуть успішні розробки тіазоловмісних інгібіторів ліпід кіназ, фосфатидилінозитол-3-кінази альфа (PI3K α) та фосфатидилінозитол-4-кінази бета (PI4K β) як протипухлинних агентів. Високу ефективність інгібування показали похідні (2-тіазоліл)сечовин та тіосечовин (наприклад, сполуки представлені на рис. 3). Низка цих сполук проходять I чи II фазу клінічних досліджень [Fairhurst et al., 2015].

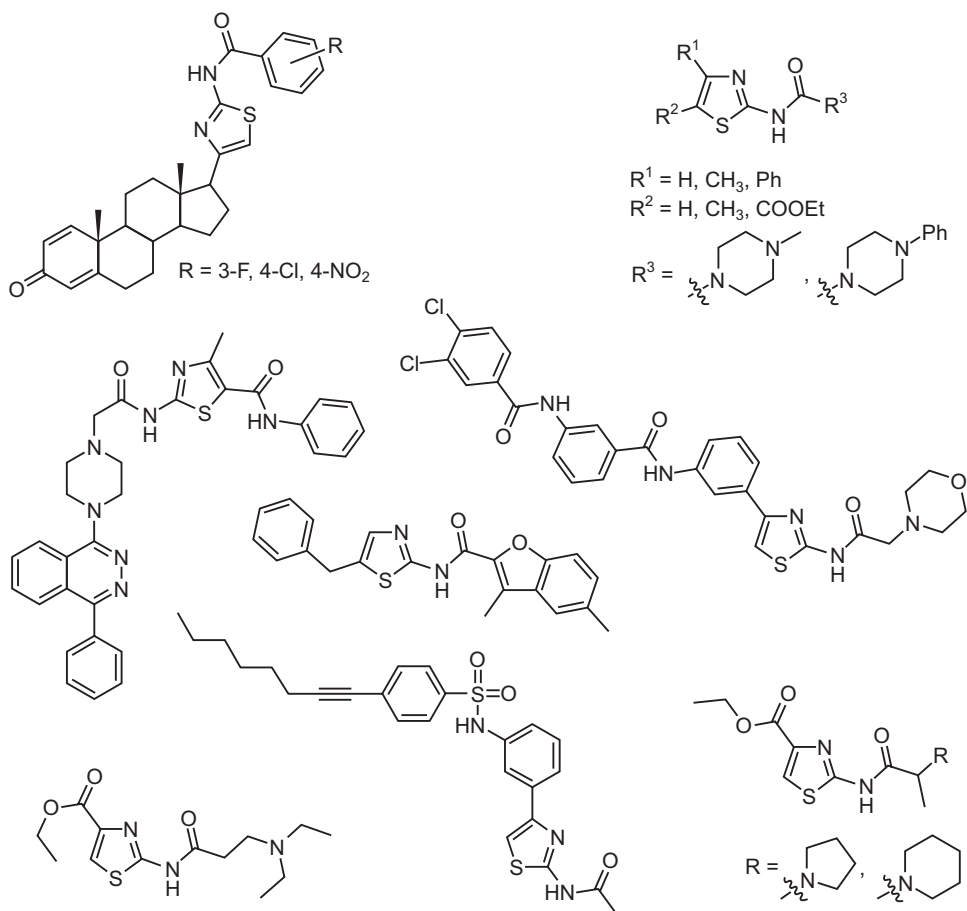
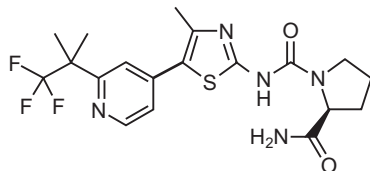


Рис. 2. Деякі аміди на основі 2-амінотіазолу, що виявили протипухлинну активність

Альпелісіб, який був схвалений для медичного використання у США у травні 2019 року і який продають під торговою маркою Piqray, є представником тіазолілсечовин:



Це препарат для перорального застосування виробництва Novartis, що є інгібитором фосфоінозитид 3-кінази, який використовують для лікування деяких видів раку молочної залози [FDA approve, 2019; Drug Approv al., 2019].

Сполуки такого типу синтезують, модифікуючи аміногрупу в амініотіазолі послідовною дією карбодімідазолу та відповідного аміну [Fairhurst et al., 2015, Li et al., 2016]:

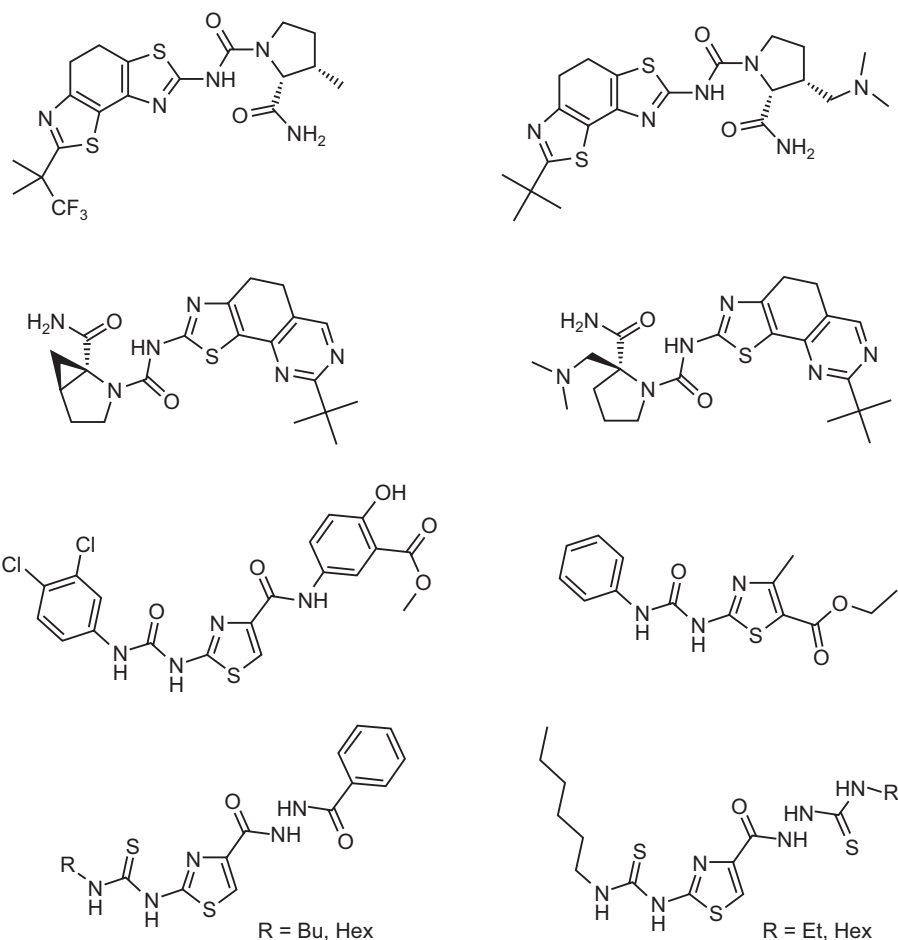
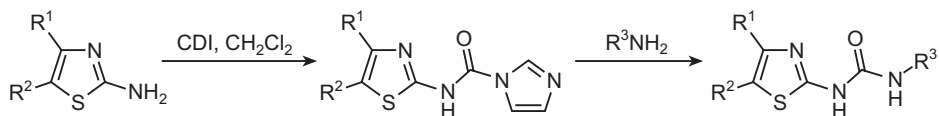
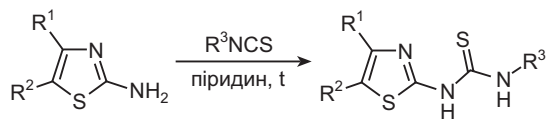


Рис. 3. Деякі тіазоліпсечовини та тіазоліпітсечовини, що виявили протипухлинну активність

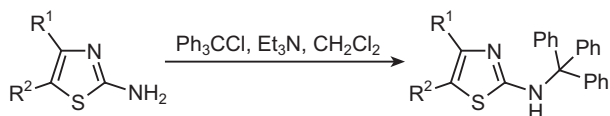


Фрагмент тіосечовини у положенні 2 конструюють взаємодією 2-амінотіазолів з відповідними ізотіоціанатами при нагріванні [Rostom et al., 2014]:



Модифікація 2-аміногрупи до 2-алкіламіно- чи 2-ариламіногрупи. *N*-Алкільовані та *N*-арильовані 2-амінотіазоли проявляють протипухлинну активність як

інгібітори фарнезилтрансферази [Bolchi et al., 2011, Straniero et al., 2014], топо-II [Sang et al., 2018], Na^+/K^+ -АТФ-ази [Lefranc et al., 2013], EGFR тирозинкінази [Walaa et al., 2016] і як ДНК-інтеркалюючі агенти [Qian et al., 2007]. У синтезі *N*-алкільованих похідних зрідка використовують пряме алкільовання аміногрупи [Bolchi et al., 2011]:

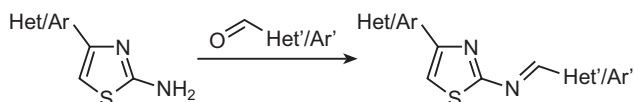


Однак такий підхід придатний лише для введення стерично утруднених груп, на кшталт тритильної чи адамантільної. Універсальнішим є згаданий раніше метод: взаємодія α -галогенокарбонільних сполук з *N*-алкіл- чи *N*-арилтіосечовинами [Ding et al., 2013].

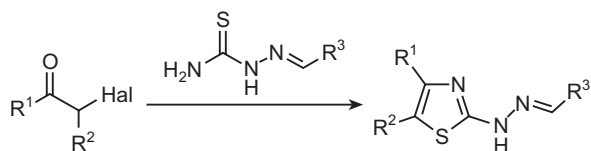
Модифікація аміногрупи 2-амінотіазолів до основ Шиффа. Через наявність функційних груп у комплексах металів з основами Шиффа, що містять гетероциклічні фрагменти, вони здатні до утворення хелатних комплексів. Було з'ясовано, що багато основ Шиффа виявляє протиракові властивості. Перспективними у цьому аспекті є тіазоловмісні основи Шиффа, які дають змогу формувати *N*- і *S*-хелатні ліганди. Ці атоми відіграють важливу роль у координації металів в активних місцях різноманітних металовмісних біомолекул, що визначає їхню біоактивність. Протипухлинну активність часто виявляють також комплекси таких основ Шиффа з металами.

Наприклад, комплекс Zn(II) та (Е)-2-(((5-метил-4-фенілтіазол-2-іл) іміно)метил)фенолу виявився активним інгібітором тирозинкінази і ефективним проти раку молочної залози MCF-7, печінки HepG2, легенів A549 і прямої кишки HCT116 [Abd-Elzaher et al., 2016].

Класичним підходом до сполук такого типу, що здатні індукувати апоптоз ракових клітин, є взаємодія 2-амінотіазолу та відповідного альдегіду [Ye J et al., 2014, Zhou et al., 2007, Parekh et al., 2017]:



Модифікація 2-аміногрупи до 2-тіазолілгідразонів. Використання у синтезі Ганча тіосемікарбазонів замість тіосечовини дозволяє отримувати гідразони 2-тіазолілгідразинів:



Сполуки такого типу виступають селективними інгібіторами протеїнкіназ Akt [Altintop et al., 2018], комплексу E1/CDK2 [El-Karim et al., 2019], чи ефективними індукторами апоптозу ракових клітин з невстановленим механізмом дії [Altintop et al., 2014, Mohamed et al., 2018] (рис. 4).

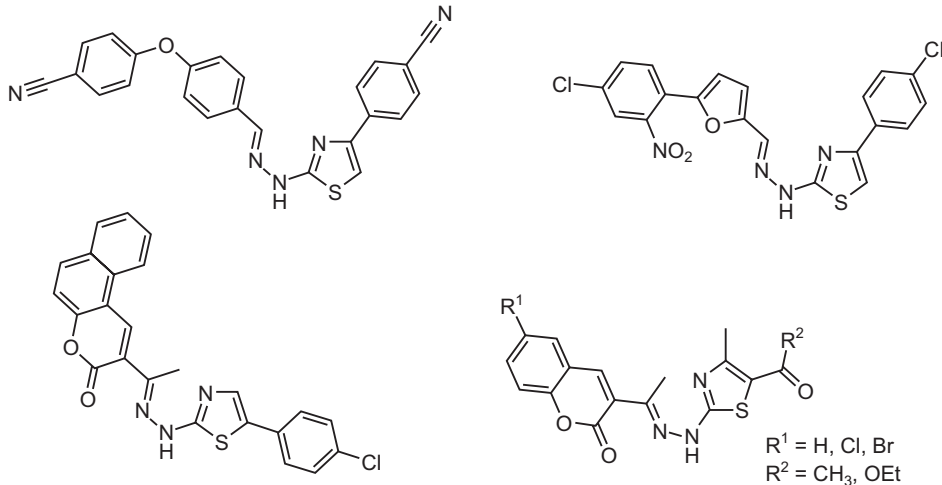


Рис. 4. Деякі 2-тіазолілгідрозони, що виявили антипроліферативну активність

Як видно з наведених даних, амінотіазольний фрагмент входить до складу багатьох сполук, що є протипухлинними агентами. Згідно з даними ВООЗ у 2030 році смертність від ракових захворювань сягне понад 20 мільйонів. Незважаючи на колосальні зусилля і досягнуті результати у діагностиці та лікуванні раку, чимало пацієнтів нечутливі до наявних зареєстрованих засобів чи страждають від рецидивів хвороби. Однак хіміотерапія є важливим, і, мабуть, домінуючим, підходом у сучасній терапії онкологічних захворювань. Ефективність хіміотерапії може нівелюватися виникненням стійкості ракових клітин до дії відомих препаратів і високою інтоксикацією внаслідок збільшення дози препарату у відповідь на стійкість до нього. Тому є нагальна потреба розробки нових протипухлинних засобів з високою активністю та низькою токсичністю.

2-Амінотіазольний каркас поширений у природних та синтетичних сполуках, що проявляють різноманітні фармакологічні ефекти. У дослідженнях з медичної хімії його розглядають як перспективну стартову структуру для розробки протиракових агентів [Wan et al., 2021]. Виявлені можливі способи поліпшення протиракової активності та терапевтичного індексу через модифікацію за аміногрупою 2-амінотіазольного ядра. Крім того, важливим підходом для отримання нових високоактивних протиракових агентів є конструювання гібридних структур з 2-амінотіазольним фрагментом та іншими фармакофорами. Завдяки широким можливостям модифікації тіазольного ядра в ході підбору вихідних ациклічних попередників чи функціоналізацією аміногрупи у другому положенні можна створювати комбінаторні бібліотеки нових тіазоловмісних сполук для скринінгу на біологічну активність.

- Магійчук ВС, Обушак МД, Василишин РЯ, Паславський ВВ. Новий підхід до синтезу 4-тіазолідинонів – аналогів гіпоглікемічних препаратів. Фармацевтичний журнал [Видання]. Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України; 2002; 3: 60–63.
- Abd-Elzاهر MM, Labib AA, Mousa HA, Moustafa SA, Ali MM, El-Rashedy AA, et al. Synthesis, anticancer activity and molecular docking study of Schiff base complexes containing thiazole moiety. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences [Internet]. Elsevier BV; 2016 March; 5 (1): 85–96. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2016.01.001>
- Abedi-Jazini Z, Safari J, Zarnegar Z, Sadeghi M. A simple and efficient method for the synthesis of 2-Aminothiazoles under mild conditions. Polycyclic Aromatic Compounds [Internet]. Taylor and Francis group; 2016 Dec 29; 38: 231–235. Available from: <https://doi.org/10.1080/10406638.2016.1200104>
- Akamatsu K, Shibata MA, Ito Y, Sohma Y, Azuma H, Otsuki Y. Riluzole induces apoptotic cell death in human prostate cancer cells via endoplasmic reticulum stress. Anticancer Research [Internet]. International Institute of Anticancer Research; 2009 July; 29 (6): 2195–2204.
- Altıntop MD, Özdemir A, Turan-Zitouni G, Ilgin S, Atlı Ö, Demirci F, et al. Synthesis and *in vitro* evaluation of new nitrosubstituted thiazolyl hydrazone derivatives as anticandidal and anticancer agents. Molecules [Internet]. MDPI; 2014 Sep 17; 19 (9): 14809–14820. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules190914809>.
- Altıntop MD, Sever B, Akalın Çiftçi G, Özdemir A. Design, synthesis, and evaluation of a new series of thiazole-based anticancer agents as potent Akt inhibitors. Molecules [Internet]. MDPI; 2018 May 31; 23 (6): 1318. Available from: doi: 10.3390/molecules23061318.
- Astle MJ, Pierce JB. The preparation of 2-aminothiazole from cyclic acetals. The Journal of Organic Chemistry [Internet]. American Chemical Society; 1955 Feb; 20:178–181. Available from: <https://doi.org/10.1021/jo01120a004>
- Bellingham MC. A review of the neural mechanisms of action and clinical efficiency of riluzole in treating amyotrophic lateral sclerosis: what have we learned in the last decade? CNS Neuroscience & Therapeutics [Internet]. Wiley-Blackwell; 2011 Feb; 17 (1): 4–31. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2009.00116.x>
- Bolchi C, Pallavicini M, Bernini SK, Chiodini G, Corsini A, Ferri N, et al. Thiazole- and imidazole-containing peptidomimetic inhibitors of protein Farnesyltransferase. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters [Internet]. Elsevier BV; 2011 Sep 15; 21 (18): 5408–5412. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.07.003>.
- Borelli C, Schaller M, Niewerth M, Nocker K, Baasner B, Berg D, Tiemann R, Tietjen K, Fugmann B, Lang-Fugmann S, Korting HC. Modes of action of the new arylguanidine abafungin beyond interference with ergosterol biosynthesis and *in vitro* activity against medically important fungi. Chemotherapy [Internet]. Karger; 2008; 54 (4): 245–259. Available from: <https://doi.org/10.1159/000142334>
- FDA approves first PI3K inhibitor for breast cancer. U.S. Food and Drug Administration (FDA) (Press release); 2019 May 24.
- Drug Approval Package: Piqray. U.S. Food and Drug Administration (FDA); 2019 June 18.
- Das D, Sikdar P, Bairagi M. Recent developments of 2-aminothiazoles in medicinal chemistry. European Journal of Medicinal Chemistry [Internet]. Elsevier; 2016 Feb 15; 109: 89–98. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.12.022>

- Ding C, Zhang Y, Chen H, Yang Z, Wild C, Chu L, et al. Novel nitrogen-enriched oridonin analogues with thiazole-fused A-ring: protecting group-free synthesis, enhanced anticancer profile, and improved aqueous solubility. *Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. American Chemical Society; 2013 Jun 27;56 (12): 5048–5058. Available from: <https://doi.org/10.1021/jm400367n>
- Dziuk B, Kyzioł JB, Zaleski J, Ejsmont K, Zarychta B. Synthesis of 2-aminothiazole derivatives in easy two-step, one-pot reaction. *Journal of Heterocyclic Chemistry* [Internet]. Wiley-Blackwell; 2018 March; 55 (3):763–768. Available from: <https://doi.org/10.1002/jhet.3086>
- El-Karim SSA, Syam YM, El Kerdawy AM, Abdelghany TM. New thiazol-hydrazone-coumarin hybrids targeting human cervical cancer cells: synthesis, CDK2 inhibition, QSAR and molecular docking studies. *Bioorganic Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2019 May; 86: 80–96. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.01.026>
- Fairhurst RA, Gerspacher M, Imbach-Weese P, Mah R, Caravatti G, Furet P, et al. Identification and optimisation of 4, 5-dihydrobenzo [1, 2-d: 3, 4-d] bithiazole and 4,5-dihydrothiazolo [4, 5-h]quinazoline series of selective phosphatidylinositol-3 kinase alpha inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* [Internet]. Elsevier; 2015 Sep 1; 25 (17): 3575–3581. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.06.067>
- Finiuk N, Klyuchivska O, Ivasechko I, Hreniukh V, Ostapiuk Y, Shalai Y, Panchuk R, Matiychuk V, Obushak M, Stoika R, Babsky A. Proapoptotic effects of novel thiazole derivative on human glioma cells. *Anti-Cancer Drugs* [Internet]. Lippincott Williams & Wilkins; 2019 Jan; 30 (1): 27–37. Available from: doi: 10.1097/CAD.0000000000000686.
- Ghodse SM, Telvekar VN. Synthesis of 2-aminothiazole derivatives from easily available thiourea and alkyl/aryl ketones using aqueous NaCl₂. *Tetrahedron Letters* [Internet]. Elsevier; 2015 Jan 8; 56: 472–474. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.11.140>
- Guay DR. Cefdinir: an advanced-generation, broad-spectrum oral cephalosporin. *Clinical Therapeutics* [Internet]. Elsevier; 2002 Apr; 24 (4): 473–489. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0149-2918\(02\)85125-6](https://doi.org/10.1016/s0149-2918(02)85125-6)
- Hantzsch A. Thiazoles from thiamides. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* [Internet]. Wiley-VCH; 1889; 250: 257–273. Available from: <https://doi.org/10.1002/jlac.18892500302>
- Khan AJ, Wall B, Ahlawat S, Green C, Schiff D, Mehnert JM, Goydos JS, Chen S, Haffty BG. Riluzole enhances ionizing radiation-induced cytotoxicity in human melanoma cells that ectopically express metabotropic glutamate receptor 1 *in vitro* and *in vivo*. *Clinical Cancer Research* [Internet]. American Association for Cancer Research; 2011 Apr 1; 17 (7): 1807–1814. Available from: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-1276>
- King LC, Rydb I. The reaction of Ketones with formamidine disulfide. *Journal of the American Chemical Society* [Internet]. American Chemical Society; 1947 Jul; 69 (7): 1813. Available from: <https://doi.org/10.1021/ja01199a072>
- Klose W, Niedballa U, Schwarz K, Böttcher I. Nonsteroidal anti-inflammatory agents. 17. 4,5-Bis-(4-methoxyphenyl)-2-arylthioazoles with antiphlogistic activity. *Arch Pharm (Weinheim)* [Internet]. Wiley-VCH GmbH; 1983 Nov; 316 (11): 941–51. Available from: <https://doi.org/10.1002/ardp.19833161108>
- Laine L, Kivitz AJ, Bello AE, Grahn AY, Schiff MH, Taha AS. Double-blind randomized trials of single-tablet ibuprofen/high-dose famotidine vs ibuprofen alone for reduction of gastric and duodenal ulcers. *American Journal of Gastroenterology* [Internet]. Lippincott Williams & Wilkins; 2012 Mar; 107 (3): 379–386. Available from: <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.443>

- Le MN, Chan JL, Rosenberg SA, Nabatian AS, Merrigan KT, Cohen-Solal KA, Goydos JS. The glutamate release inhibitor Riluzole decreases migration, invasion, and proliferation of melanoma cells. *Journal of Investigative Dermatology* [Internet]. Elsevier; 2010 May; 130 (9), 2240–2249. Available from: <https://doi.org/10.1038/jid.2010.126>
- Lee HJ, Wall BA, Wangari-Talbot J, Shin SS, Rosenberg S, Chan JL, Namkoong J, Goydos JS, Chen S. Glutamatergic pathway targeting in melanoma: single-agent and combinatorial therapies. *Clinical Cancer Research* [Internet]. American Association for Cancer Research; 2011 Nov 15; 17 (22): 7080–7092. Available from: doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0098
- Lefranc F, Xu Z, Burth P, Mathieu V, Revelant G, Faria MVdC, et al. 4-Bromo-2-(piperidin-1-yl) thiazol-5-yl-phenyl methanone (12b) inhibits Na⁺/K⁺-ATPase and Ras oncogene activity in cancer cells. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2013 May; 63: 213–223. Available from: doi: 10.1016/j.ejmech.2013.01.046.
- Leoni A, Locatelli A, Morigi R, Rambaldi M. A Patent Review on Thiazole Derivatives (2008–2013). *Acta Chimica and Pharmaceutica Indica* [Internet]. Trade Science Inc; 2017 Apr 17; 7 (1): 103.
- Li L, Zhang CL, Song HR, Tan CY, Ding HW, Jiang Y-Y, et al. Discovery of novel dual inhibitors of VEGFR and PI3K kinases containing 2-ureidothiazole scaffold. *Chinese Chemical Letters* [Internet]. Elsevier; 2016; 27: 1–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2015.09.008>
- Mahmoodi NO, Pirbasti FG. Overview on the recently developed thiazolyl heterocycles as useful therapeutic agents. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* [Internet]. Taylor and Francis group; 2015 May 28; 191 (6):811–843. Available from: <https://doi.org/10.1080/10426507.2015.1119143>
- Matiychuk V, Obushak N, Pidlypnyi N, Ostapiuk Yu, Voloshchuk R. Synthesis of heterocycles based on the basis of products of arylation of unsaturated compounds. 22. 3-Aryl-2-chloropropanals in the synthesis of N-aryl-5-(R-benzyl)-1,3-thiazole-2-amines. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* [Internet]. Springer; 2010; 46 (4): 495–499.
- Metzger JV. *Thiazole and Its Derivatives*. Wiley & Sons, Inc. 1979.
- Mishra R, Sharma PK, Verma PK, Tomer I, Mathur G, Dhakad PK. Biological Potential of Thiazole Derivatives of Synthetic Origin. *Journal of Heterocyclic Chemistry* [Internet]. Wiley-Blackwell; 2017 July; 54 (4): 2103–2116. Available from: <https://doi.org/10.1002/jhet.2827>
- Mohamed FZ, Abdelhamid MS, Elbaz HA. Biochemical studies of (5-P-chlorophenyl-2-benzo 5, 6-coumarin-3-yethylidene aminothiazole) as antitumor agent. *Asian Journal of Research in Biochemistry* [Internet]. Academic Journals Inc; 2018 Jan; 3: 1–16. Available from: <https://doi.org/10.9734/ajrb/2018/v3i329831>
- Namkoong J, Shin SS, Lee HJ, Marín YE, Wall BA, Goydos JS, Chen S. Metabotropic glutamate receptor 1 and glutamate signaling in human melanoma. *Cancer Research* [Internet]. American Association for Cancer Research; 2007 Mar 1; 67 (5): 2298–2305. Available from: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-3665>
- Obushak N, Matiichuk V, Ganushchak N. Heterocyclic Syntheses on the Basis of Anionarylation Products of Unsaturated Compounds. I. 2-Amino-5-arylmethyl-1,3-thiazoles. *Russian Journal of Organic Chemistry* [Internet]. Pleiades Publishing, Ltd; 1997; 33 (7): 1010–1013. Available from: <https://doi.org/10.1023/B:RUJO.0000034976.75646.85>
- Obushak N, Matiichuk V, Vasylyshin R, Ostapyuk Y. Heterocyclic Syntheses on the Basis of Arylation Products of Unsaturated Compounds: X. 3-Aryl-2-chloropropanals as Reagents

- for the Synthesis of 2-Amino-1,3-thiazole Derivatives. Russian Journal of Organic Chemistry [Internet]. Pleiades Publishing, Ltd; 2004; 40 (3): 383–389. Available from: <https://doi.org/10.1023/B:RUJO.0000034976.75646.85>
- Parekh NM, Mistry BM, Pandurangan M, Shinde SK, Patel RV. Investigation of anticancer potencies of newly generated Schiff base imidazolylphenylheterocyclic-2-ylmethylenethiazole-2-amines. Chinese Chemical Letters [Internet]. Elsevier; 2017; 28:602–606. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2016.10.021>
- Potewar TM, Ingale SA, Srinivasan KV. Efficient synthesis of 2,4-disubstituted thiazoles using ionic liquid under ambient conditions: a practical approach towards the synthesis of Fanetizole. Tetrahedron. [Internet]. Elsevier; 2007; 63:11066–11069. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.08.036>
- Qian X, Li Z, Yang Q. Highly efficient antitumor agents of heterocycles containing sulfur atom: linear and angular thiazonaphthalimides against human lung cancer cell *in vitro*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters [Internet]. Elsevier BV; 2007 Nov 1; 15 (21): 6846–6851. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.07.008>
- Rosenberg SA, Niglio SA, Salehomoum N, Chan JL, Jeong BS, Wen Y, Li J, Fukui J, Chen S, Shin SS, Goydos JS. Targeting Glutamatergic Signaling and the PI3 Kinase Pathway to Halt Melanoma Progression. Translational Oncology. [Internet]. Elsevier; 2015 Feb; 8 (1): 1–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2014.11.001>
- Rostom SA, Faidallah HM, Radwan MF, Badr MH. Bifunctional ethyl 2-amino-4-methylthiazole-5-carboxylate derivatives: synthesis and *in vitro* biological evaluation as antimicrobial and anticancer agents. European Journal of Medicinal Chemistry [Internet]. Elsevier; 2014; 76: 170–181. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.02.027>
- Sang CY, Tian HZ, Chen Y, Liu JF, Chen SW, Hui L. Synthesis and biological evaluation of 4β-(thiazol-2-yl) amino-4'-Odemethyl-4-deoxypodophyllotoxins as topoisomerase-II inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters [Internet]. Elsevier BV; 2018; 28: 71–76. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.12.012>
- Schmitz VE, Striegler H. Aminothiazole aus Ketonen und Rhodanamin. Journal für praktische Chemie. [Internet]. Verlag von Johann Ambrosius Barth until 1942; 1970; 312: 359–365. Available from: <https://doi.org/10.1002/prac.19703120222>
- Sharma PC, Bansal KK, Sharma ASharma D, Deep A. Thiazole-containing compounds as therapeutic targets for cancer therapy. European Journal of Medicinal Chemistry [Internet]. Elsevier; 2020 February 15; 188: 122016. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.112016>
- Speyer CL, Smith JS, Banda M, DeVries JA, Mekani T, Gorski DH. Metabotropic glutamate receptor-1: a potential therapeutic target for the treatment of breast cancer. Breast Cancer Research and Treatment [Internet]. Springer; 2011 Jun 17; 132 (2), 565–573. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1624-x>
- Speyer CL, Hachem AH, Assi AA, Johnson JS, DeVries JA, Gorski DH. Metabotropic glutamate receptor-1 as a novel target for the antiangiogenic treatment of breast cancer. PLoS One [Internet]. Public Library of Science; 2014 March 14; 9 (3): e88830. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088830>
- Speyer CL, Nassar MA, Hachem AH, Bukhsh MA, Jafry WS, Khansa RM, Gorski DH. Riluzole mediates anti-tumor properties in breast cancer cells independent of metabotropic glutamate receptor-1. Breast Cancer Research and Treatment [Internet]. Springer; 2016 May 04; 157 (2): 217–228. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3816-x>

- Straniero V, Pallavicini M, Chiodini G, Ruggeri P, Fumagalli L, Bolchi C, et al. Farnesyltransferase inhibitors: CAAX mimetics based on different biaryl scaffolds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* [Internet]. Elsevier BV; 2014 July; 24: 2924–2927. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.04.078>
- Teh JL, Shah R, La Cava S, Dolfi SC, Mehta MS, Kongara S, Price S, Ganesan S, Reuhl KR, Hirshfield KM, Karantza V, Chen S. Metabotropic glutamate receptor 1 disrupts mammary acinar architecture and initiates malignant transformation of mammary epithelial cells. *Breast Cancer Research and Treatment* [Internet]. Springer; 2015; 151 (1): 57–73. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3365-8>
- Ye J, Qiu S, Hu A, Peng J, Qin Z. Synthesis and antitumor activity of 4-tert-butyl-5-benzyl-2-benzyliminothiazoles. *Chemical Research in Chinese Universities* [Internet]. Springer International Publishing AG; 2014; 30: 49–54. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40242-013-3345-6>
- Walaa S, Mohamed NA, Weam S, Nossier ES, Mahmoud K. Synthesis, molecular modeling studies and biological evaluation of novel pyrazole derivatives as antitumor and EGFR inhibitors. *International Journal of Pharmacy and Technology* [Internet]. Dr.B.A.Reddy; 2016; 8: 25192–25209. Available from: https://www.researchgate.net/publication/312490371_Synthesis_molecular_modeling_studies_and_biological_evaluation_of_novel_pyrazole_derivatives_as_antitumor_and_egfr_inhibitors
- Wall BA, Yu LJ, Khan A, Haffty B, Goydos JS, Chen S. Riluzole is a radio-sensitizing agent in an in vivo model of brain metastasis derived from GRM1 expressing human melanoma cells. *Pigment Cell & Melanoma Research* [Internet]. John Wiley & Sons; 2015; 28 (1): 105–109. Available from: <https://doi.org/10.1111/pcmr.12327>
- Wan Y, Long J, Gao H, Tang Z 2-Aminothiazole: a privileged scaffold for the discovery of anti-cancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2021 January 15; 210: 112953. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112953>.
- Wen Y, Li J, Koo J, Shin SS, Lin Y, Jeong BS, Mehnert JM, Chen S, Cohen-Sola KA, Goydos JS. Activation of the glutamate receptor GRM1 enhances angiogenic signaling to drive melanoma progression. *Cancer Research* [Internet]. American Association for Cancer Research; 2014; 74 (9): 2499–2509. Available from: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-1531>
- Zhou X, Shao L, Jin Z, Liu JB, Dai H, Fang JX, et al. Synthesis and antitumor activity evaluation of some schiff bases derived from 2-aminothiazole derivatives. *Heteroatom Chemistry* [Internet]. John Wiley & Sons Inc.; 2007 Jan; 18: 55–59. Available from: <https://doi.org/10.1002/hc.20256>
- Zhang C, Yuan XR, Li HY, Zhao ZJ, Liao YW, Wang XY, Su J, Sang SS, Liu Q. Anti-cancer effect of metabotropic glutamate receptor 1 inhibition in human glioma U87 cells: involvement of PI3K/Akt/mTOR pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry* [Internet]. Cell Physiol Biochem Press; 2015; 35 (2): 419–432 Available from: <https://doi.org/10.1159/000369707>
- Zhao R, Gove S, Sundeen JE, Chen BC. A new facile synthesis of 2-aminothiazole-5-carboxylates. *Tetrahedron Letters* [Internet]. Elsevier; 2001; 42: 2101–2102. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)00161-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)00161-7)

ВПЛИВ СУЛЬФУРВМІСНИХ СПОЛУК НА КЛІТИННИЙ ЦИКЛ ПУХЛИННИХ КЛІТИН

Клітинний цикл – це строго визначена послідовність біохімічних процесів і морфологічних змін протягом існування клітини від одного мітотичного поділу до іншого. Коли клітина завершує мітоз і на неї діють мітогени (як правило, спеціальні поліпептидні фактори росту), то ініціюється новий клітинний цикл, який розпочинається зі стадії G1, під час якої найбільш інтенсивно відбувається синтез матричної РНК і білків. Опісля настає стадія S із максимальним синтезом ДНК, далі відбувається стадія G2 (синтез білків, необхідних для мітотичного поділу клітини, після чого настає мітоз (стадія М), коли синтетичні процеси різко сповільнюються, але відбувається структурна реорганізація ядерного хроматину. Якщо на клітину не діють мітогени (фактори росту), то вона може певний час перебувати у стані спокою – G0. Нормальні (соматичні) клітини тканин і органів тварин і людини здатні здійснити 50–100 клітинних циклів, тоді як стовбурові і пухлинні клітини мають теоретично необмежену кількість клітинних циклів. Більшість протипухлинних чинників блокують окремі процеси клітинного циклу, що призводить до загибелі клітин, як правило шляхом апоптозу [Wang et al., 2018; Otto & Sicinski, 2017; Aarts et al., 2013].

Перехід клітин від однієї до іншої стадії (G1, S, G2, M), який ще називають прогресуванням клітини, регулюється спеціальними ензимами – циклін-залежними протеїнкіназами (Cdk), які активуються короткоживучими білками циклінами. Активність Cdk може пригнічуватися інгібіторами циклін-залежних протеїнкіназ і це відбувається не будь-коли, а в певні періоди клітинного циклу. Впродовж клітинного циклу функціонують часові контрольні точки (checkpoints), наприклад, наприкінці стадій G1 і G2, а також за переходу з метафази в анафазу на стадії мітозу [Roskoski, 2019; Malumbres & Barbacid, 2009]. Окремі протипухлинні чинники здатні зупиняти розвиток клітини саме в цих контрольних точках [Ding et al., 2020].

Реакція клітин на пошкодження ДНК (DNA damage response, DDR), визначається спеціальними регуляторними білками, які виявляють таке пошкодження і сигналізують про нього за допомогою ефекторних чинників, здатних зупиняти прогресування клітинного циклу, даючи клітині час, необхідний для відновлення пошкодженої ДНК, або запускаючи механізми самознищення клітини

(апоптозу), коли таке відновлення недоцільне через надмірне пошкодження ДНК [Visconti et al., 2016]. Таким ефекторним чинником можна вважати білок p53.

Чек-пойнт G1/G0 запобігає переходу клітин з пошкодженою ДНК в S фазу. Під час чек-пойнту S затримується запуск реплікації ДНК, щоб мінімізувати помилки реплікації. Чек-пойнт G2/M запобігає передчасному вступу клітин у мітоз, а отже, мінімізує помилкове розходження хромосом. Чек-пойнт збору веретена (spindle assembly checkpoint), також відомий як мітотична контрольна точка, і є основним механізмом контролю клітинного циклу під час мітозу. Він відповідальний за виробництво генетично ідентичних дочірніх клітин, забезпечуючи правильну сегрегацію хромосом. Пост-мітотичний чек-пойнт запобігає потраплянню дочірніх клітин з аномальним мітозом у наступну інтерфазу. Всі ці чек-пойнти необхідні для зменшення геномної нестабільності під час прогресування клітинного циклу [Dominguez-Brauer et al., 2015].

Варто відзначити, що пухлинні клітини мають дефектні чек-пойнти в клітинному циклі. Ці дефекти сприяють закріпленню трансформацій у генетичному апараті клітини та їхньому прогресуванню, що збільшує генетичну нестабільність клітини. Тому таку стратегію використовують у лікуванні онкологічних захворювань [Waldman et al., 1997; Visconti et al., 2016].

Отже, регулятори клітинного циклу є перспективними молекулярними мішенями в хіміотерапії раку [Aarts et al., 2013; Dominguez-Brauer et al., 2015; Visconti et al., 2016].

На кафедрі органічної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка синтезовано серію похідних тiazолу, які було досліджено нами в рамках співпраці зі співробітниками цієї кафедри під час виконання спільних науково-дослідних проєктів. У цьому розділі наведені результати вивчення впливу похідного *N*-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксаміду (БФ1) на перебіг клітинного циклу *in vitro* в клітинах пухлини людини, а саме в клітинах ліній U251 і T98G гліобластоми людини та MDA231 аденокарциноми молочної залози людини.

Встановлено, що речовина БФ1 індукувала значне збільшення кількості клітин T98G у пре-G1 фазі (апоптотичні клітини) та клітин у фазі G2 порівняно з контролем (рис. 1). За дії цієї сполуки в клітинах лінії T98G спостерігали [Finiuk et al., 2019] значне зменшення кількості клітин у фазі G1 (рис. 1). Подібний характер змін кількості клітин у пре-G1, G1 і G2 фазах виявлено у клітинах лінії U251 гліобластоми людини (рис. 2) [Finiuk et al., 2019].

Нами також було досліджено вплив сполуки БФ1 на кількість білків, задіяних у регуляції клітинного циклу в клітинах лінії MDA231 аденокарциноми молочної залози людини. За дії БФ1 спостерігали зростання кількості циклін-залежної кінази 1 (Cdk1) у клітинах MDA231 (рис. 3). При цьому не виявлено змін у кількості циклін-залежної кінази 2 (Cdk2) у клітинах MDA231. Виявлено зростання кількості фосфорильованої форми чек-пойнт-кінази 1 (Chk1) і зменшення кількості чек-пойнт-кінази 2 (Chk2) за дії речовини БФ1. За дії БФ1 також спостерігали зниження рівня цикліну B у клітинах MDA231 (рис. 3).

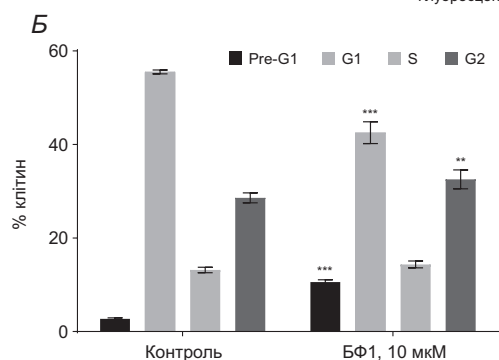
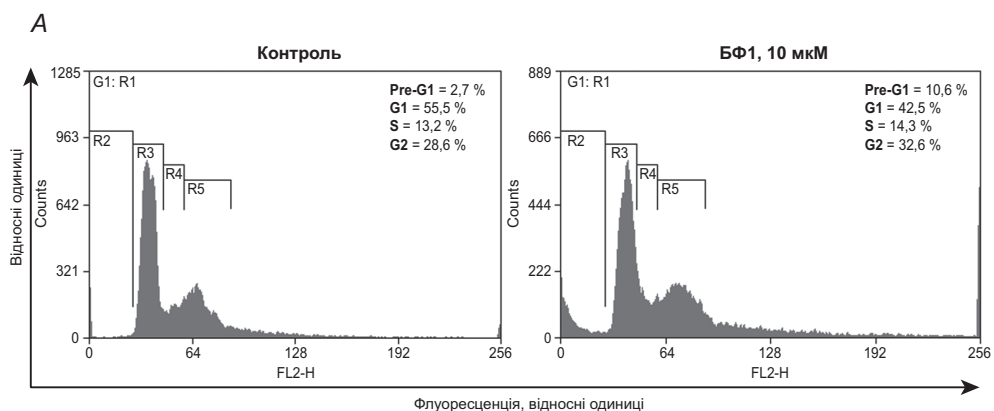


Рис. 1. Зміни розподілу фаз клітинного циклу в клітинах T98G гліобластоми людини за дії похідного *N*-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксаміду (БФ1): А – гістограми фаз клітинного циклу; Б – кількісні зміни розподілу фаз клітинного циклу. ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ відносно контролю (необроблених клітин) [Finiuk et al., 2019]

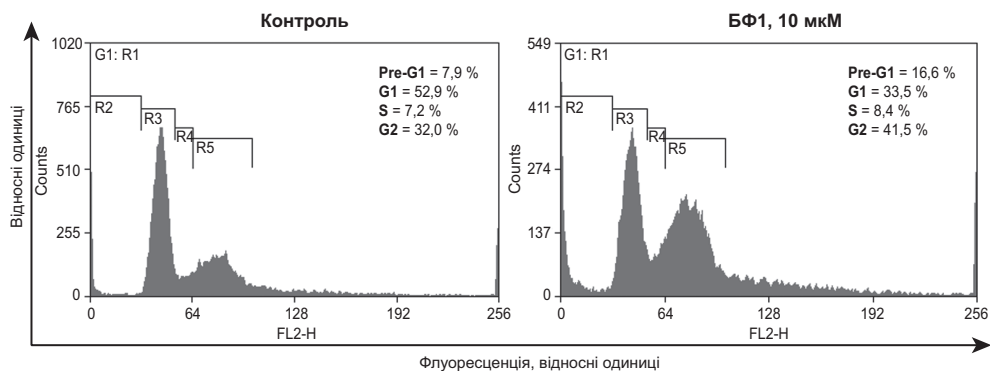


Рис. 2. Зміни розподілу фаз клітинного циклу в клітинах U251 гліобластоми людини за дії похідного БФ1 [Finiuk et al., 2019]

Сигнальний механізм за участю Cdk2 регулює перехід клітин із G1 фази клітинного циклу до S фази [Abd El-Karim et al., 2019]. Оскільки БФ1 не спричиняла зменшення кількості Cdk2, вона не зупиняє клітинний цикл лінії MDA231 у фазі G0/G1. Вплив БФ1 на кількість білків Cdk1, цикліну B і фосфорилуваних Chk1 і Chk2 свідчать про блок клітин лінії MDA231 у G2/M фазі

клітинного циклу. Відомо, що Chk1 і Chk2 беруть участь у регуляції клітинного циклу за реакції клітин на пошкодження ДНК (DNA damage response (DDR)) [Dai and Grant, 2010; Al-kaabi et al., 2015].

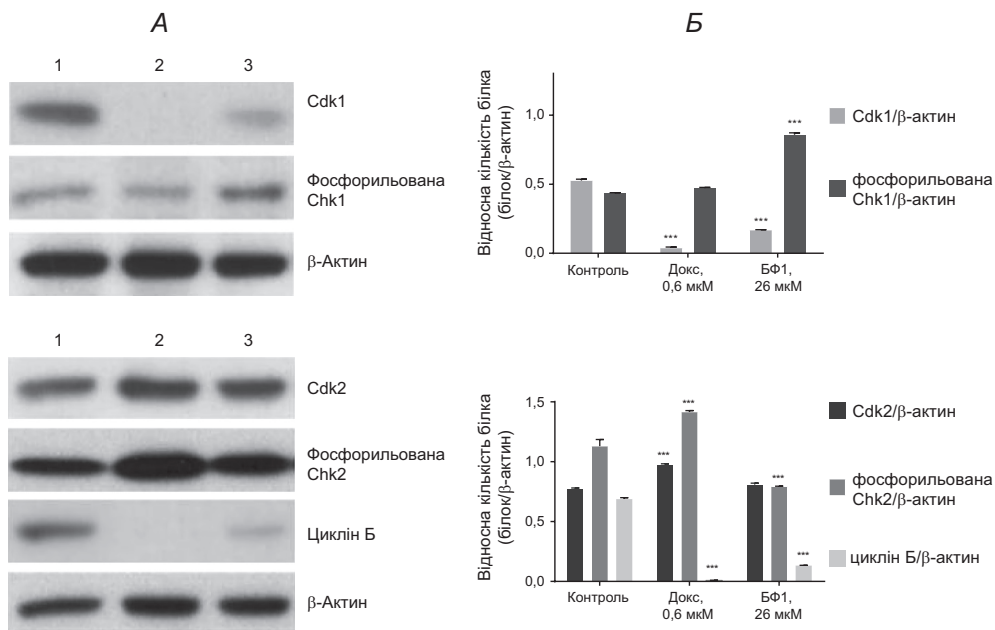


Рис. 3. Результати Вестерн-блот аналізу (А) та денситометрії (Б) білків, задіяних у регуляції клітинного циклу в клітинах MDA231 аденокарциноми молочної залози людини за дії досліджуваних речовин: 1 – контроль, 2 – доксорубіцин (Докс, 0,6 мкМ), 3 – БФ1 (26 мкМ) на 48 год дії речовин. *** – $P < 0,001$ відносно контролю (необроблених клітин)

Kamal et al. [2014] розробили серію гібридних похідних імідазолу, злитих із тіазолом, що мали протипухлинну активність. Одна зі сполук, що мала піридинове кільце, була найактивнішою. Вона порушувала динаміку мікротрубочок, викликала зупинку клітинного циклу у фазі G2/M і, зрештою, індукувала апоптоз у пухлинних клітинах *in vitro*.

Shaik et al. [2017] синтезували серію похідних імідазо[2,1-*b*]тіазолу із протипухлинною активністю, які індукують зупинку клітинного циклу у фазі G2/M та апоптоз клітин лінії A549 раку легені людини.

Nagireddy et al. [2019] за допомогою протокової цитофлуориметрії з'ясували що похідні імідазо[2,1-*b*]тіазолу, кон'юговані з природними похідними носкапіну, спричиняли зупинку клітинного циклу у G2/M фазі в клітинах лінії MIA PaCa-2 раку підшлункової залози людини. Ці автори також виявили підвищений рівень експресії білка цикліну B1 у клітинах лінії MIA PaCa-2.

Oliva et al. [2020] з Temple University (Philadelphia, PA, USA) повідомила про синтез нових 2-арил/алкіламіно-4-аміно-5-ароїлтіазолів як інгібіторів Cdk, вибраних із серії речовин за допомогою високопродуктивного біоінформаційного

скринінгу (HTS). Група дослідників з цього ж університету під керівництвом професора Jean-Pierre J. Issa синтезували похідне 2-(екзо-2'-амінонорборнан)-4-аміно-5-(2'-нітробензоїл)-тіазолу (7, MC180295), яке є селективним інгібітором Cdk9 [Zhang et al., 2018].

Отже, синтезоване вітчизняне тіазольне похідне БФ1 є ефективним інгібітором клітинного циклу клітин лінії U251 і T98G гліобластоми людини та лінії MDA231 аденокарциноми молочної залози людини. Воно зупиняє пухлинні клітини у фазі G2/M, діючи подібно до інших похідних тіазолу, синтезованих за кордоном, що також зупиняли клітини в цій фазі клітинного циклу.

- Aarts M, Linardopoulos S, Turner NC. Tumour selective targeting of cell cycle kinases for cancer treatment. *Current Opinion in Pharmacology* [Internet]. Elsevier BV; 2013 Aug; 13(4): 529–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2013.03.012>
- Abd El-Karim SS, Syam YM, El Kerdawy AM, Abdelghany TM. New thiazol-hydrazono-coumarin hybrids targeting human cervical cancer cells: Synthesis, CDK2 inhibition, QSAR and molecular docking studies. *Bioorganic Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2019 May; 86: 80–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.01.026>
- Al-kaabi M M, Alshareeda AT, Jerjees DA, Muftah AA, Green AR, Alsubhi NH, et al. Checkpoint kinase1 (CHK1) is an important biomarker in breast cancer having a role in chemotherapy response. *British Journal of Cancer* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2015 Feb 17; 112(5): 901–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2014.576>
- Dai Y, Grant S. New insights into checkpoint kinase 1 in the DNA damage response signaling network. *Clinical Cancer Research* [Internet]. American Association for Cancer Research (AACR); 2010 Jan 12; 16(2): 376–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-09-1029>
- Ding L, Cao J, Lin W, Chen H, Xiong X, Ao H, et al. The roles of cyclin-dependent kinases in cell-cycle progression and therapeutic strategies in human breast cancer. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. MDPI AG; 2020 Mar 13; 21(6): 1960. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21061960>
- Dominguez-Brauer C, Thu KL, Mason JM, Blaser H, Bray MR, Mak TW. Targeting Mitosis in Cancer: Emerging Strategies. *Molecular Cell* [Internet]. Elsevier BV; 2015 Nov; 60(4): 524–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2015.11.006>
- 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>
- Kamal A, Balakrishna M, Nayak VL, Shaik TB, Faazil S, Nimbarte VD. Design and Synthesis of Imidazo[2,1-b]thiazole-Chalcone Conjugates: Microtubule-Destabilizing Agents. *ChemMedChem* [Internet]. Wiley; 2014 Oct 14; 9(12): 2766–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/cmdc.201402310>
- Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nature Reviews Cancer* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2009 Mar; 9(3): 153–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc2602>

- Nagireddy PKR, Kommalapati VK, Siva Krishna V, Sriram D, Tangutur AD, Kantevari S. Imidazo[2,1-b]thiazole-coupled natural noscapine derivatives as anticancer agents. *ACS Omega* [Internet]. American Chemical Society (ACS); 2019 Nov 5; 4(21): 19382–98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.9b02789>
- Oliva P, Onnis V, Balboni E, Hamel E, Estévez-Sarmiento F, Quintana J, et al. Synthesis and biological evaluation of 2-substituted benzyl-/phenylethylamino-4-amino-5-arylthiazoles as apoptosis-inducing anticancer agents. *Molecules* [Internet]. MDPI AG; 2020 May 6; 25(9): 2177. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25092177>
- Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2017 Jan 27; 17(2): 93–115. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc.2016.138>
- Roskoski R. Cyclin-dependent protein serine/threonine kinase inhibitors as anticancer drugs. *Pharmacological Research* [Internet]. Elsevier BV; 2019 Jan; 139: 471–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2018.11.035>
- Shaik SP, Nayak VL, Sultana F, Rao AVS, Shaik AB, Babu KS, et al. Design and synthesis of imidazo[2,1-b]thiazole linked triazole conjugates: Microtubule-destabilizing agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2017 Jan; 126: 36–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.09.060>
- Visconti R, Della Monica R, Grieco D. Cell cycle checkpoint in cancer: a therapeutically targetable double-edged sword. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2016 Sep 27; 35(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13046-016-0433-9>
- Wang JJ, Lei KF, Han F. Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* [Internet]. 2018 June 19; 22(12): 3855–3864. Available from: http://dx.doi.org/10.26355/eurrev_201806_15270
- Waldman T, Zhang Y, Dillehay L, Yu J, Kinzler K, Vogelstein B, et al. Cell-cycle arrest versus cell death in cancer therapy. *Nature Medicine* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 1997 Sep; 3(9):1034–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nm0997-1034>
- Zhang H, Pandey S, Travers M, Sun H, Morton G, Madzo J, et al. Targeting CDK9 reactivates epigenetically silenced genes in cancer. *Cell* [Internet]. Elsevier BV; 2018 Nov; 175(5): 1244–1258. e26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2018.09.051>

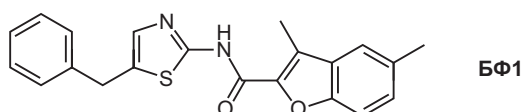
ІНДУКЦІЯ АПОПТОЗУ СУЛЬФУРВМІСНИМИ СПОЛУКАМИ В ПУХЛИННИХ КЛІТИНАХ

Хіміотерапія поряд з 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 вони можуть пошкоджувати 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 існуючі та створювати нові протипухлинні субстанції [Johnstone et al., 2002; Fulda & Debatin, 2006; de Bruin & Medema, 2008].

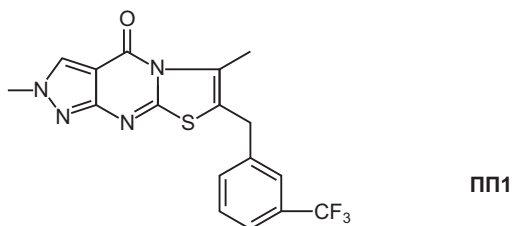
У цьому розділі описані результати дослідження цитотоксичної дії нових похідних 2-аміно-5-бензилтіазолу (рис. 1) щодо пухлинних і псевдо-нормальних клітин людини *in vitro* [Finiuk et al., 2017; 2018]. Для оцінювання цитотоксичної активності сполук використовували показник IC_{50} (inhibiting concentration – 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

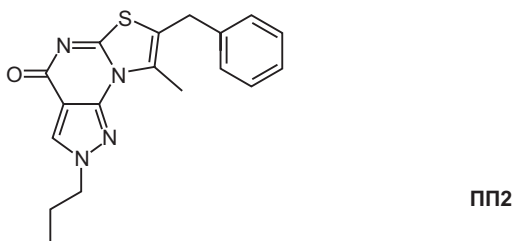
($IC_{50} = 9,44 \pm 0,03$ мкМ) [Finiuk et al., 2017; Finiuk et al., 2019a], лінії HCT116 карциноми товстої кишки людини ($IC_{50} = 15,5 \pm 1,07$ мкМ), лінії MCF-7 карциноми молочної залози людини ($IC_{50} = 15,8 \pm 1,4$ мкМ) і лінії MDA-MB-231 карциноми молочної залози людини ($IC_{50} = 26,5 \pm 2,1$ 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 темозоламиду, 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 ($IC_{50} = 3,9 \pm 0,27 \mu\text{M}$ – для ПП2, $IC_{50} = 8,9 \pm 0,65 \mu\text{M}$ – 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 псевдо-нормальних клітин ссавців. Наприклад, речовина БФ1 не досягала показника IC_{50} при 50 мкМ щодо клітин ліній HaCaT, HEK293, NIH3T3 (табл. 1). Показник цитотоксичності (IC_{50}) похідного ПП1 становив $30,0 \pm 2,88 \mu\text{M}$ для клітин лінії HEK293, $17,4 \pm 0,15 \mu\text{M}$ – для клітин лінії HaCaT, $20,8 \pm 2,1 \mu\text{M}$ – для клітин лінії J774.2. Речовина ПП2 проявила подібну токсичну дію щодо клітин ліній HEK293, HaCaT, J774.2, показник IC_{50} становив $33,2 \pm 3,27 \mu\text{M}$, $29,5 \pm 0,31 \mu\text{M}$ і $22,7 \pm 2,2 \mu\text{M}$, відповідно. Похідні 2-аміно-5-бензилтіазолу були менш токсичними щодо псевдо-нормальних 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 та 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 індукуює 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 для виживання клітин. Родина Bcl-2 містить як про-апоптотичні, так і анти-апоптотичні білки. Bad, Bax та PUMA є про-апоптотичними білками родини Bcl-2, які в основному розташовані в цитоплазмі. Після індукції апоптотичними факторами вони сходяться до зовнішньої мембрани мітохондрій, утворюючи трансмембранні канали, що дозволяють мітохондріям вивільняти цитохром *c* й активувати каспази, сприяючи апоптозу. Білок Bcl-2 є анти-апоптотичним 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 локалізуватися у мембрані ендоплазматичного ретикулу та ядра і здійснювати там анти-апоптотичні 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 ліній U251 (рис. 2) і T98G (рис. 3). Зростання інтенсивності червоного свічення 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 індукуює 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

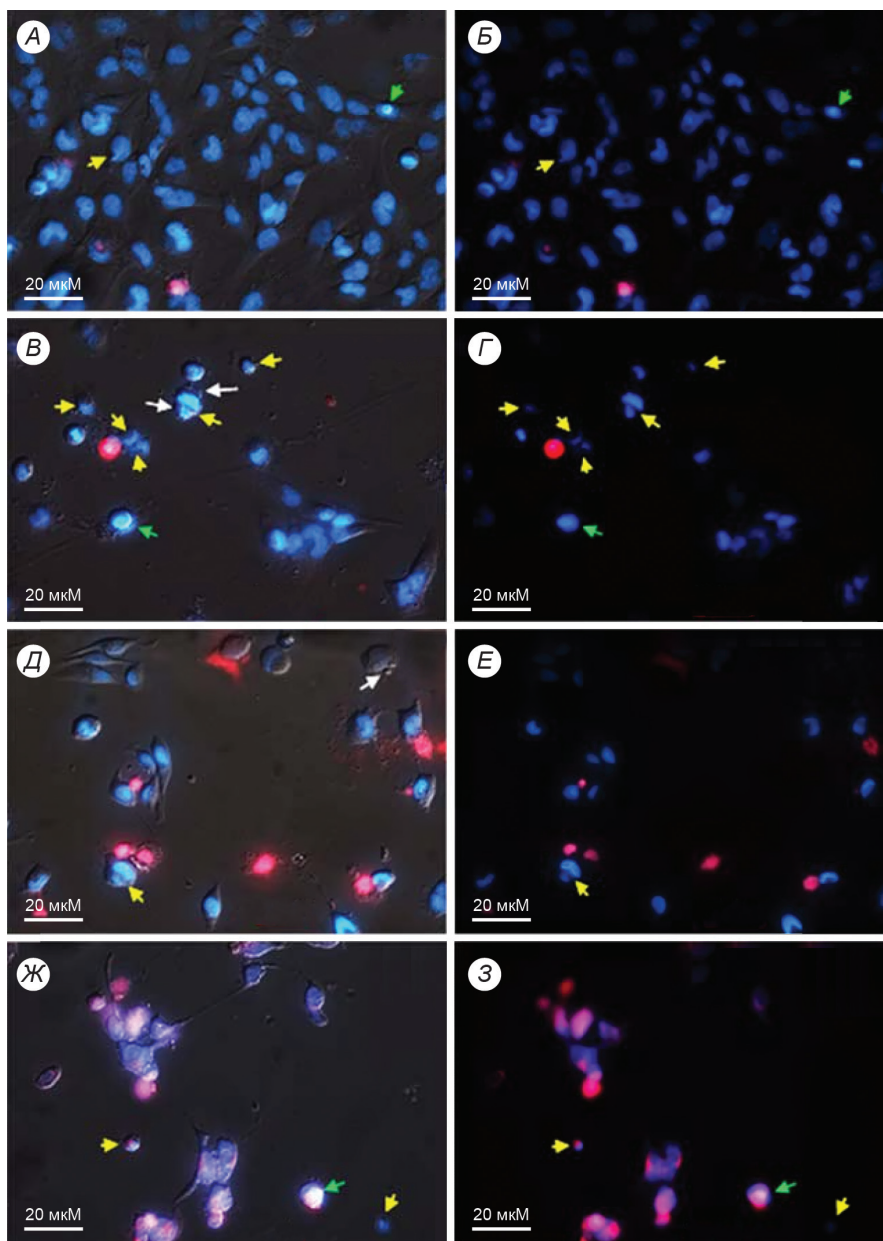


Рис. 2. Фотографії клітин лінії U251 гліобластоми людини за дії досліджуваних речовин: А, Б – контрольна група клітин; В, Г – сполуки БФ1 (10 мкМ); Д, Е – темозоломід (300 мкМ); Ж, З – доксорубіцину (20 мкМ). Зліва – комбіноване зображення клітин у режимі диференційно-інтерференційного контрасту (ДІК) та забарвлених флуоресцентними барвниками Hoechst-33342 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.

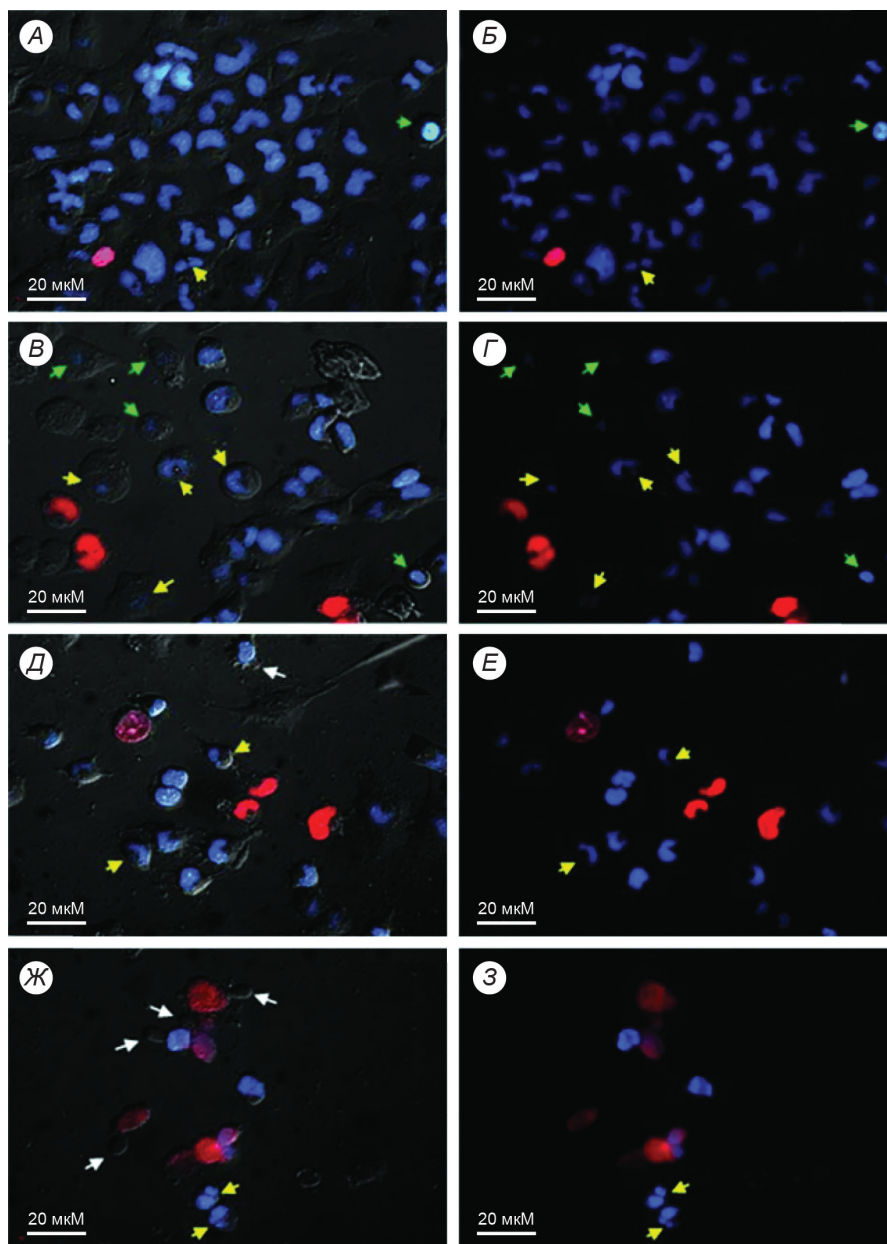


Рис. 3. Фотографії клітин лінії T98G гліобластоми людини за дії досліджуваних речовин: А, Б – контрольна група клітин; В, Г – сполуки БФ1 (10 мкМ); Д, Е – темозоломід (250 мкМ); Ж, З – доксорубіцину (20 мкМ). Зліва – комбіноване зображення клітин у режимі диференційно-інтерференційного контрасту (ДІК) та 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].

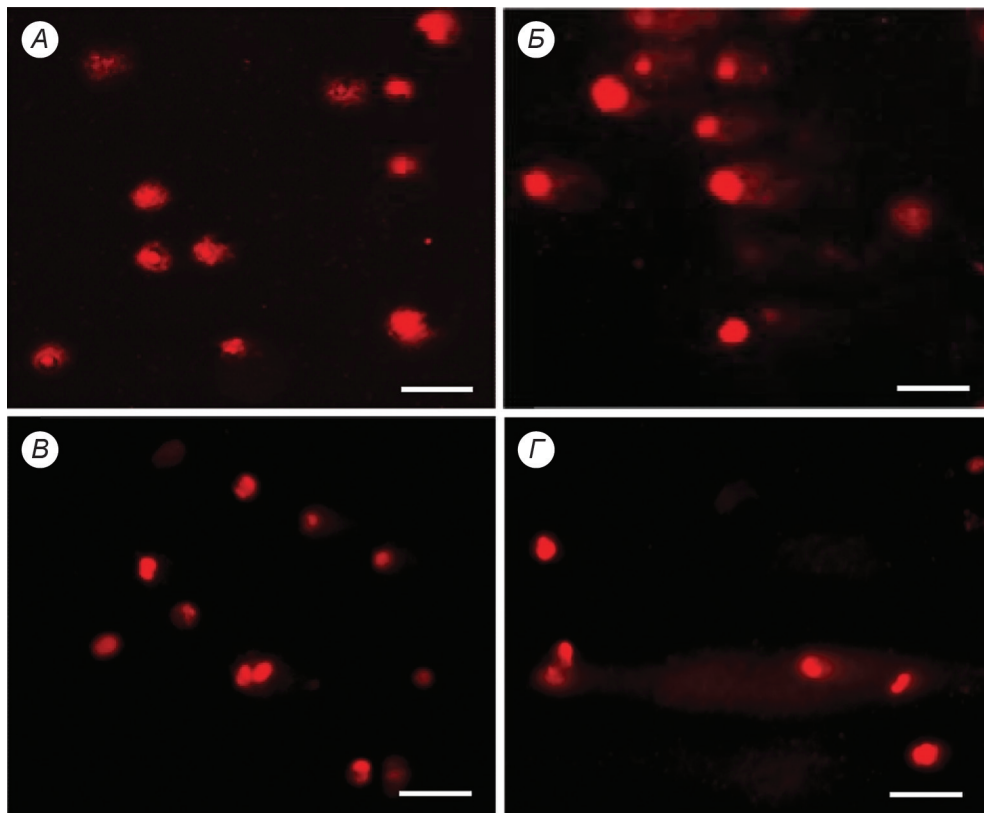


Рис. 4. Ілюстрація пошкодження ДНК за дії БФ1 у клітинах гліобластоми людини (за результатами ДНК-комет аналізу за лужних умов): фото комет у контрольній групі клітин лінії U251 (А), за дії БФ1 (10 мкМ) на клітини лінії U251 (Б), у контрольній групі клітин лінії T98G (В), за дії БФ1 (10 мкМ) на клітини 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, тим самим про запуск процесу апоптозу в гліомних клітинах ліній U251

і T98G. Речовина БФ1 збільшувала кількість про-апоптотичних 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].

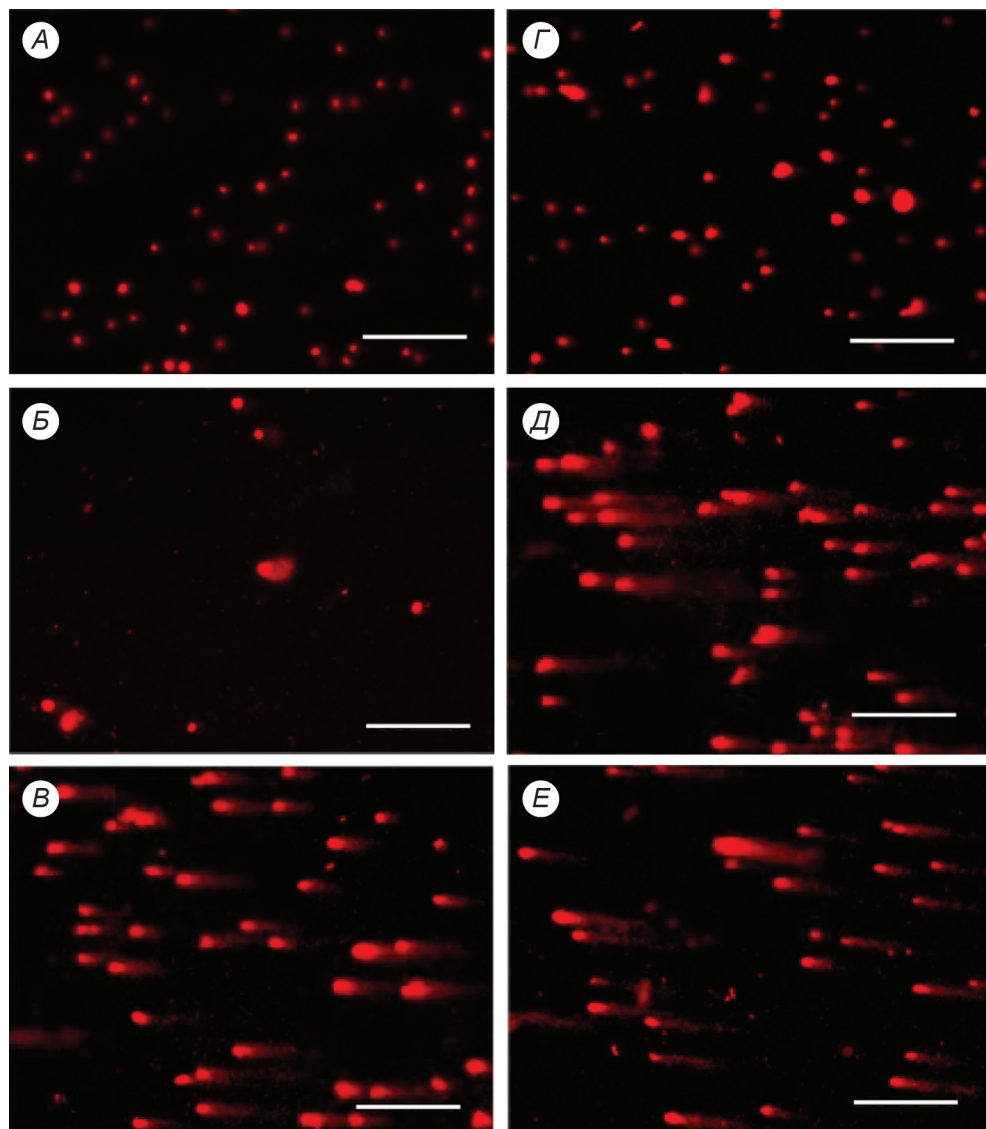


Рис. 5. Ілюстрація пошкодження ДНК за дії похідних ПП1 і ПП2 у клітинах лінії HL-60 гострого промієлоцитарного лейкозу людини і K562 хронічного еритромієлолейкозу людини (за результатами ДНК-комет аналізу за лужних умов): фото комет у контрольній групі клітин лінії HL-60 (А), за дії ПП1 (0,09 мкМ) на 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 впродовж апоптозу і зумовлює фрагментацію ДНК в ядрі [Zhdanov et al., 2015]. За дії речовин ПП1 і ПП2 спостерігали зниження рівня Bcl-2, анти-апоптотичного білка родини Bcl-2, і зростання кількості Bim, про-апоптотичного білка родини Bcl-2. Речовина ПП2 зменшувала кількість фосфорильованої форми ERK1/2, задіяного у MAPK-кіназному сигнальному шляху [Finiuk et al., 2019b].

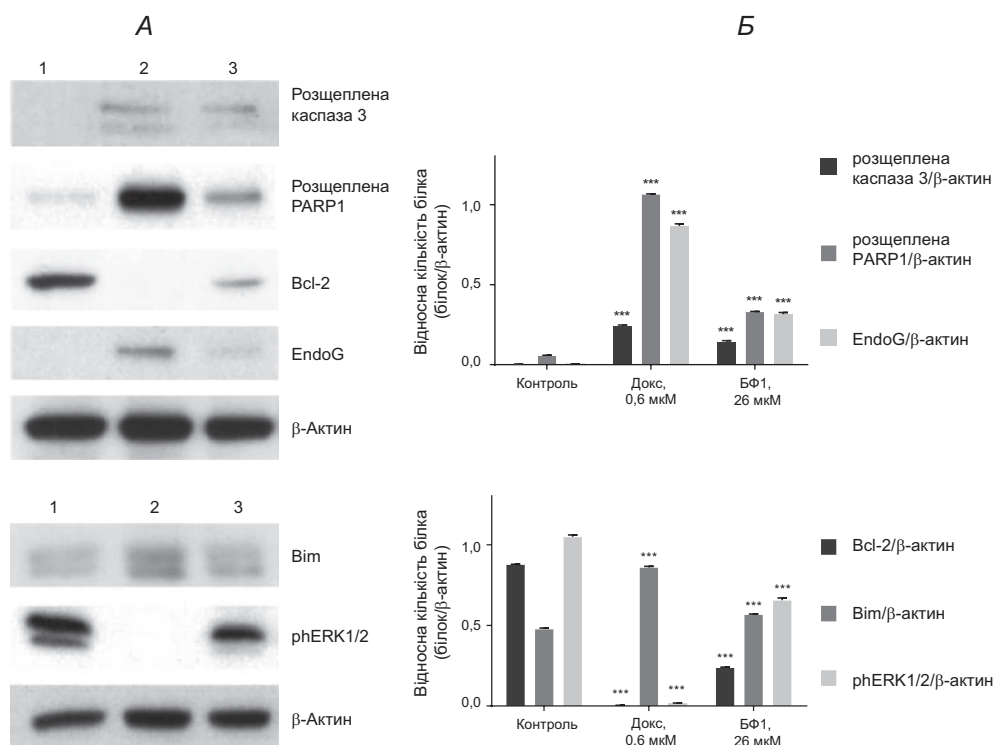


Рис. 6. Результати Вестерн-блот аналізу (А) і денситометрії (Б) білків, задіяних в індукції апоптозу в клітинах MDA231 аденокарциноми молочної залози людини за дії досліджуваних речовин: 1 – контроль, 2 – доксорубіцин (Докс, 0,6 мкМ), 3 – БФ1 (26 мкМ) через 48 год дії речовин

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 про-апоптотичного білка Bim і зменшувала вміст анти-апоптотичного 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 у цитотоксичну дію похідних БФ1, ПП1 і ПП2 щодо пухлинних клітин гліобластоми, карциноми молочної залози та лейкозу (рис. 7).

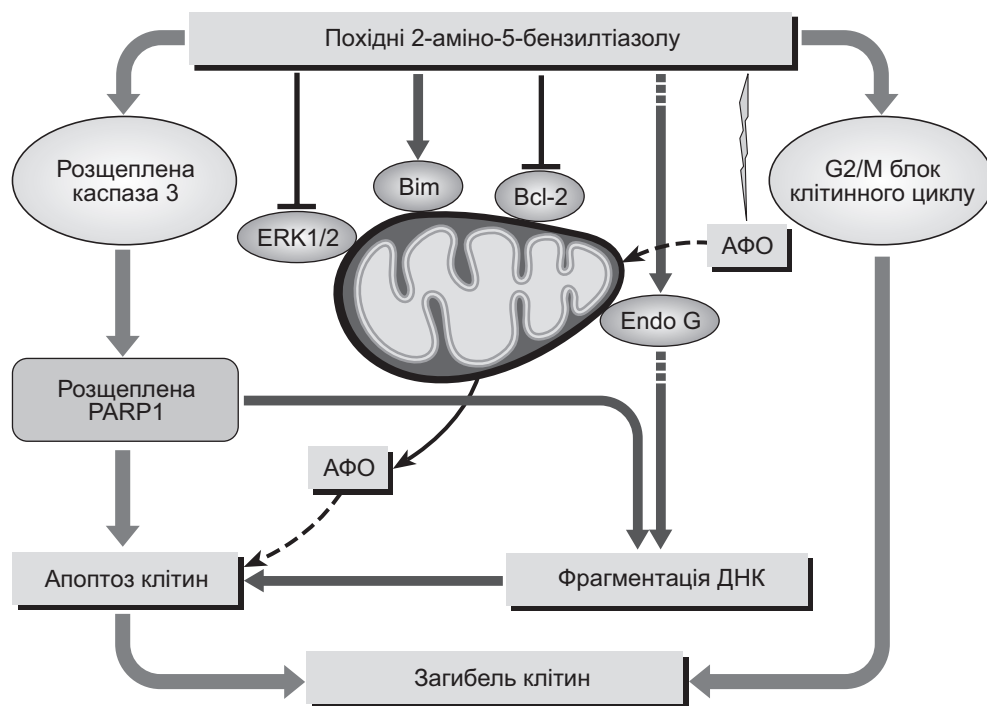


Рис. 7. Узагальнена схема сигнальних шляхів, індукованих похідними 2-аміно-5-бензилтіазолу в пухлинних клітинах лейкозного і гліомного походження

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): 1929–1952. 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): 737–749. 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): 135–146. Available from: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.00094b>
- Finiuk NS, Ostapiuk YV, Hreniukh VP, Shalai YR, Matiychuk VS, 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, 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, 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): 603–611. 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): 173–175. 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): 640–655. 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): 153–164. 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): 1041–1047. 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): 443–453. 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): 677–681. 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): 166–180. 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): 175–193. 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): 627–648. 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): 316–326. Available from: <http://dx.doi.org/10.1089/dna.2014.2772>

РОЛЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У АНТИНЕОПЛАСТИЧНІЙ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛУ

Активні форми кисню є природними продуктами життєдіяльності клітин, що залучені до реалізації різноманітних фізіологічних функцій, однак їхнє надмірне нагромадження спричиняє патологічні зміни у клітині [Бабський та ін., 2019]. Відновлення кисню до води у процесі клітинного дихання здійснюється завдяки приєднанню чотирьох електронів. На першому етапі відновлення кисню задіяні оксидази, зокрема НАД(Ф)Н-дегідрогеназа, цитохром-*c*-оксидази мітохондрій, ксантинооксидаза та ін. За фізіологічних значень рН вони зумовлюють одноелектронне відновлення кисню до супероксид-аніона O_2^- . Цей радикал не проникає крізь біологічні мембрани і є джерелом інших активних форм Оксигену в клітині. Він у водних розчинах швидко дисмутує до пероксид-аніона (O_2^{2-}) та наявний в клітинах у вигляді гідроген пероксиду (H_2O_2). Одноелектронне відновлення H_2O_2 спричиняє виникнення дуже реакційоздатного гідроксил-радикала (OH^\bullet) та гідроксид-іона (OH^-). Приєднання четвертого електрона до гідроксид-радикала зумовлює повне відновлення кисню – до молекули води (дигідроген оксиду). Детальніший механізм утворення активних форм, а також роль ключових ферментів цих процесів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіон пероксидази) представлені на рис. 1.

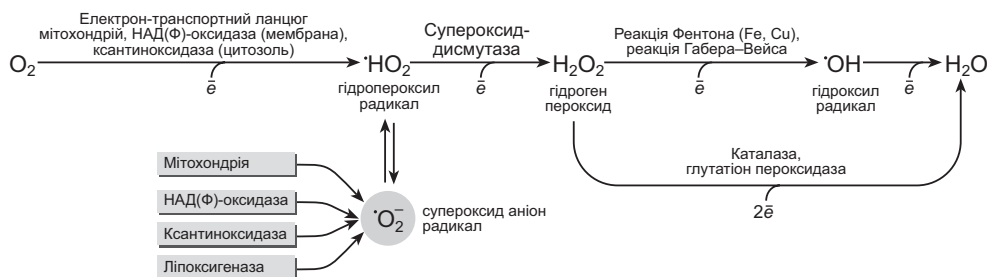


Рис. 1. Механізм утворення активних форм кисню за відновлення кисню до води

Досліджувані у наших експериментах похідні тіазолу реалізують свою цитотоксичність через одиночні розриви у молекулі ДНК [Finiuk et al., 2018]. Водночас було встановлено, що ці речовини не зв'язуються з ДНК і не інтерналюють безпосередньо в молекулу нуклеїнової кислоти [Finiuk et al., 2018]. Очевидно, вплив похідних тіазолу на ДНК є опосередкованим.

Такими “посередниками” можуть бути перехоплювачі (скевенджери) активних форм кисню (АФО). Зокрема, такі перехоплювачі АФО як аскорбінова кислота, манітол та *N*-ацетилцистеїн достовірно знижували цитотоксичність речовини *N*-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксаміду (БФ1). Речовина БФ1 стимулювала накопичення пероксиду гідрогену в клітинах гліобластоми U251, і не впливала на внутрішньоклітинний рівень супероксиду радикалу.

Zheng et al. [2017] встановили, що індукована пероксидом гідрогену загибель клітин гліоми була пов'язана з дисрегуляцією полі[АДФ-рибозо]полімераз 1 (PARP1), яка бере участь у ремонті пошкодженої ДНК, транслокації фактора індукції апоптозу до ядра і деполяризації мембрани мітохондрій. Ці дані узгоджуються із результатами паралельних досліджень нашої наукової групи [Finiuk et al., 2019], у яких було встановлено, що БФ1 зумовлювала порушення у роботі ферменту PARP1.

Раніше АФО розглядали тільки як побічні продукти роботи електрон-транспортного ланцюга мітохондрій, що утворюються за умов порушення балансу про- та антиоксидантних процесів. Вважали, що АФО випадково взаємодіють з певними клітинними мішенями, такими як внутрішньоклітинні ліпіди, білки і ДНК, і це зумовлює накопичення пошкоджених (понадміру окиснених) і нефункціональних біомолекул [Holmström, Finkel, 2014]. На сьогодні є багато доказів, що АФО є важливими медіаторами внутрішньоклітинних сигнальних каскадів, які функціонують як у нормальних фізіологічних процесах (наприклад, коли H_2O_2 необхідний для внутрішньоклітинної сигналізації) так і за патологічних відхилень, таких як нейродегенеративні захворювання чи канцерогенез [Li et al., 2016].

Хімічна реактивність виокремлює АФО серед інших сигнальних молекул, що надає їм можливість виконання особливих функцій. За низьких концентрацій АФО активно беруть участь у складних механізмах контролю проліферації та диференціації клітин, а їх надмірна концентрація може призвести до пошкодження клітин. Наприклад, надпродукція АФО може сприяти їх взаємодії з компонентами ДНК, пошкоджувати її і зумовлювати розвиток канцерогенезу [Jena, 2012].

Хіміотерапевтичні засоби, що підсилюють оксидативний стрес, є токсичними для пухлинних клітин, оскільки вони беруть участь у таких біологічних процесах як порушення клітинного циклу, пошкодження ДНК та індукція апоптозу. Вільні радикали, що утворюються за дії протипухлинних препаратів, можуть зумовлювати оксидативний стрес у пухлинних клітинах, а також пошкоджувати ДНК, індукувати смерть клітини [Thorn et al., 2011; Yang et al., 2014],

призводити до дисфункції мітохондрій через деполяризацію потенціалу мітохондріальної мембрани [Yang et al., 2016]. Однак відомо, що пухлинні клітини загалом характеризуються підвищеним рівнем АФО і відповідно підвищеним рівнем оксидативного стресу. Посилення цього процесу за дії хіміотерапевтичних препаратів може зумовлювати пошкодження, але за тривалого лікування пухлинні клітини можуть набувати резистентності до підвищеного рівня АФО і, як наслідок, провокувати рецидив у пацієнтів. Тому пошук сполук, які б діяли на про- та антиоксидантні процеси у пухлинних клітинах є актуальним.

Нагромадження АФО має клітинну специфіку. За допомогою флюорометричного методу ми встановили, що за дії БФ1 достовірно зростає рівень H_2O_2 і не змінюється рівень супероксидного радикалу у клітинах гліобластоми (рис. 1). Натомість у клітинах лімфоми БФ1 поряд із накопиченням пероксиду гідрогену зумовлював зниження рівня супероксидного радикалу [Finiuk et al., 2018]. За допомогою спектрофотометричного методу встановлено, що за дії похідних тіазолу у клітинах лімфоми зростає рівень первинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) (зокрема, гідрпероксидів). Встановлено, що рівень ПОЛ у клітинах лімфоми зростає за дії БФ1 у концентраціях 1 і 10 мкМ на 25 і 20% ($P < 0,01$) відповідно. За дії 7-бензил-8-метил-2-пропілпіразоло [4,3-е] тіазоло [3,2-а] піримідин-4 (2H)-ону (ПП2) рівень гідрпероксидів достовірно не змінювався. Вміст вторинних продуктів ПОЛ не змінювався за дії БФ1 у всіх досліджуваних концентраціях, тоді як за дії ПП2 у концентраціях 10 і 50 мкМ рівень ТБК-позитивних продуктів знижувався на 45 та 59% ($P < 0,01$ і $P < 0,001$) відповідно. Вміст супероксидного радикалу достовірно знижувався за дії досліджуваної БФ1 у концентраціях 1, 10 і 50 мкМ на 11 ($P < 0,05$), 14 ($P < 0,01$) та 19% ($P < 0,01$) відповідно. За дії ПП2 у всіх трьох концентраціях спостерігали тенденцію до зниження вмісту супероксидного радикалу, однак вона не була підтверджена статистично ($P = 0,18-0,61$) [Шалай та ін., 2018].

Отже, досліджувані похідні тіазолу реалізують свої цитотоксичні ефекти через генерацію АФО, або/і через взаємодію з вільними радикалами. За дії досліджуваних похідних тіазолу рівень продуктів ПОЛ і супероксидного радикалу змінюється однонаправлено, а може і відрізнятись. Це, очевидно, пов'язано із відмінностями у будові досліджуваних речовин. Наприклад, зміни вторинних продуктів можна пояснити ймовірною взаємодією ПП2 з АФО, оскільки відомо, що деякі протипухлинні речовини здатні не тільки генерувати АФО, а й взаємодіяти з ними. Зокрема відомо, що піримідини можуть безпосередньо взаємодіяти з гідроксил радикалом [Ghani et al., 2017]. Тому ПП2, як похідне піразоло-піримідину, може реалізувати свій цитотоксичний ефект через взаємодію з АФО.

Однак ми вважаємо, що основним фактором, який визначає цитотоксичність обох досліджуваних похідних тіазолу, є нагромадження H_2O_2 . Пероксид гідрогену належить до окисників середньої сили. Ця сполука не є радикалом, проте може розпадатися як радикальним ($H_2O_2 \rightarrow 2^{\bullet}OH$, наявності іонів металів), так і нерадикальним ($H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O$) способом. Основна кількість H_2O_2

продукується в реакції дисмутації O_2^- , яку каталізує супероксиддисмутаза (СОД). Дослідження на клітинах *in vitro* виявили, що в низьких концентраціях (< 10 мкМ) H_2O_2 посилює проліферацію, однак у більших концентраціях призводить до зупинки росту клітин та їх загибелі через апоптозу або некрозу [Rhee, 2019].

Механізми цитотоксичної дії H_2O_2 досить різноманітні. Наприклад, за умов *in vitro* пероксид гідрогену у концентраціях 0,1–2,5 мМ призводить до односторонніх розривів ДНК [Меньщикова и др., 2006]. За дії H_2O_2 у клітинах спостерігають зниження інтенсивності гліколізу внаслідок інактивації альдегіддегідрогенази і зниження вмісту лактату.

Цитотоксична дія H_2O_2 *in vivo* може реалізуватися через інактивацію інгібітора протеїназ. Встановлено, що за високих концентрацій пероксиду гідрогену відбувається інактивація важливих ферментів антиоксидантної системи (АОС) – каталази (КАТ) і глутатіонпероксидази (ГПО) [Лавришин та ін., 2016]. H_2O_2 є субстратом для утворення високореакційного гідроксильного радикалу – найбільш токсичного серед інших АФО.

Стійкість клітин до шкідливої дії H_2O_2 визначається наявністю глутатіонпероксидазної і каталазної ферментативних систем, перша з яких є ефективною за малих концентрацій пероксиду, друга – за великих. Рівень внутрішньоклітинних КАТ і ГПО залежить і, можливо, регулюється утворенням H_2O_2 [Лавришин та ін., 2016].

Відомо, що активність ферментів антиоксидантного захисту може змінюватися за умов пухлинного росту. Оскільки СОД утилізує АФО, утворюючи H_2O_2 , важливим для життєздатності клітини є встановлення балансу між активністю СОД та ферментами, які окислюють H_2O_2 – КАТ і ГПО. Зокрема, занадто швидке зростання в клітині активності СОД без відповідної активації КАТ або пероксидаз саме по собі є цитотоксичним [Беленічев та ін., 2002]. Відомо, що зміни активності СОД у клітинах неходжкінської лімфоми призводять до активації мітохондріального типу апоптозу [Wag et al., 2012]. Саме тому СОД, КАТ і ГПО, як ключові ферменти антиоксидантного захисту, можуть бути мішенями для протипухлинних препаратів, оскільки зміни ферментативної активності впливатимуть на рівень вмісту первинних і вторинних продуктів ПОЛ, які можуть бути токсичними для ракових клітин.

Оскільки рівень продуктів ПОЛ та супероксидрадикалу регулюється активністю ферментів антиоксидантного захисту, актуальним завданням було з'ясувати яким є вплив новосинтезованих похідних тіазолу на активність ферментів антиоксидантної системи захисту клітин лімфоми (СОД, КАТ і ГПО).

СОД – це один з ключових ферментів антиоксидантного захисту організму. Основна його функція полягає в дисмутації O_2^- до пероксиду гідрогену, який відновлюється каталазою до води і молекулярного кисню, або глутатіонпероксидазою до води. Ми встановили, що за дії БФ1 упродовж 15 хв у концентраціях 10 і 50 мкМ активність СОД зростала на 35% ($P < 0,01$) і 29% ($P < 0,05$) відповідно (рис. 2). За дії ПП2 у концентрації 10 мкМ активність ферменту зростала на 37% ($P < 0,05$) [Шалай та ін., 2018]. Оскільки раніше було з'ясовано, що цитоток-

сичність досліджуваних речовин знижувалася у присутності перехоплювачів АФО, ми також дослідили зміни активності СОД за дії речовин БФ1 і ПП2 у присутності аскорбінової кислоти (100 мкМ). Встановлено, що аскорбінова кислота нівелювала ефекти досліджуваних похідних на активність ферменту.

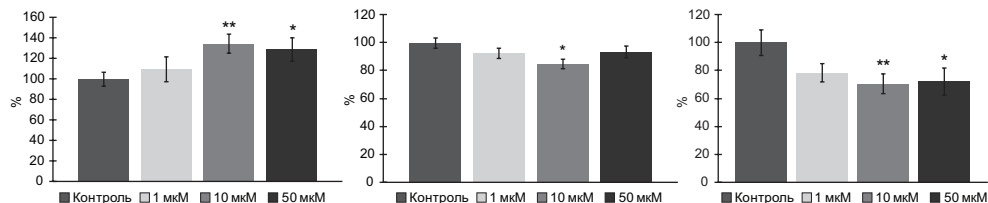


Рис. 2. Активність супероксиддисмутази (А), каталази (Б) та глутатіонпероксидази (В) у гомогенаті лімфоми NK/Ly за дії БФ1 у концентраціях 1, 10, 50 мкМ. Контрольний рівень активності ферментів прийнятий за 100 %. $M \pm m$; $n = 5$. * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$

Отже, БФ1 і ПП2 безпосередньо або опосередковано активують СОД у лімфомі, що може призводити до нагромадження пероксиду Гідрогену, який є токсичним і спричиняє розриви ДНК, апоптоз у пухлинних клітинах і знижує інтенсивність гліколізу [Колісник, Колісник, 2009]. Перехоплювачі АФО нівелюють цей ефект і таким чином знижують цитотоксичність досліджуваних речовин.

Однак для того щоб оцінити весь механізм впливу похідних тіазолу на прота антиоксидантні процеси у пухлинних клітинах, важливо також було визначити активності інших ключових ферментів АОС за дії БФ1 і ПП2 – КАТ і ГПО [Шалай та ін., 2018].

Велику кількість H_2O_2 , яка утворилася внаслідок підвищення активності СОД, знешкоджує КАТ, відновлюючи пероксид Гідрогену до води. Встановлено, що за дії БФ1 у концентрації 10 мкМ активність КАТ знижувалася на 15 % ($P < 0,05$). За дії ПП2 у концентраціях 10 і 50 мкМ активність ферменту знижувалася на 14% ($P < 0,01$) в обох випадках (рис. 3).

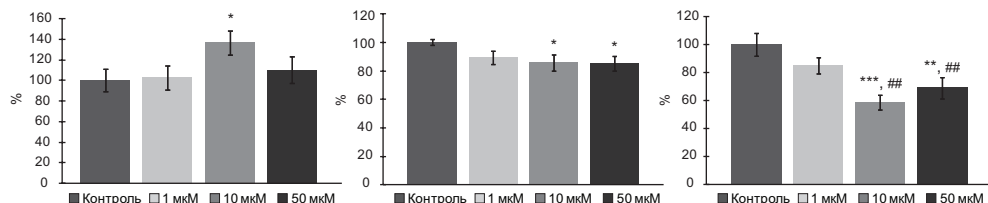


Рис. 2. Активність супероксиддисмутази (А), каталази (Б) та глутатіонпероксидази (В) у гомогенаті лімфоми NK/Ly за дії ПП2 у концентраціях 1, 10, 50 мкМ. $M \pm m$; $n = 5$. * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ (vs Контроль); # – $P < 0,05$ (vs 1 мкМ); ## – $P < 0,01$ (vs 1 мкМ)

Знешкодження підвищеної кількості H_2O_2 окрім КАТ, здійснює також ГПО. Цей фермент має більшу спорідненість до пероксиду гідрогену, ніж КАТ. ГПО функціонує більш ефективно за низьких концентрацій H_2O_2 , тоді як КАТ є ефективнішою за високих концентрацій субстрату, під час розвитку оксидативного стресу.

ГПО, каталізуючи відновлення H_2O_2 , не лише інактивує цей метаболіт, але й попереджує нагромадження гідроксил-аніону, запобігаючи утворенню органічних гідропероксидів. Відновлення ензимом ГПО органічних гідропероксидів, особливо ліпідів мембран, знижує пероксидацію та появу вторинних токсичних метаболітів [Li et al., 2005].

Встановлено, що активність ГПО знижувалася за дії БФ1 у концентраціях 10 і 50 мкМ на 29 ($P < 0,05$) і 27% ($P < 0,01$) відповідно. За дії ПП2 у концентраціях 10 і 50 мкМ активність ферменту знижувалася на 41 ($P < 0,001$) і 31% ($P < 0,01$) відповідно [Шалай та ін., 2018].

Як було сказано раніше, за дії речовин БФ1 і ПП2 змінювались рівні продуктів ПОЛ. Зокрема, БФ1 достовірно збільшував вміст гідропероксидів, що пояснюється зниженням активності КАТ і ГПО. За дії ПП2 також спостерігали тенденцію до зниження вмісту первинних продуктів.

Деякі протипухлинні речовини крім АФО, можуть взаємодіяти і з ферментами АОС. Зокрема, Леус та ін. [2012] встановили, що протипухлинні сполуки дикарбоксилатів диренію взаємодіють з молекулами СОД і таким чином змінюють активність фермента. Зміни активності СОД за дії похідних тіазолу можуть реалізовуватись або через безпосередню взаємодію досліджуваних речовин з ферментом, або опосередковано.

За дії речовин БФ1 і ПП2 також спостерігали зниження активності КАТ і ГПО. Оскільки було встановлено, що за дії речовин накопичується H_2O_2 , зниження активності цих ферментів можна пояснити інгібуючою дією саме надлишку пероксиду гідрогену.

Отже, обидві досліджувані речовини однонаправлено змінюють активність ферментів АОС у клітинах лімфоми. З одного боку активність СОД зростає, що можна пояснити імовірною взаємодією досліджуваних речовин із ферментом. З іншого боку активність КАТ і ГПО навпаки знижується, що може бути наслідком накопичення пероксиду гідрогену в клітині.

Встановлено, що БФ1 і ПП2 не інтеркалюють у ДНК, проте за їх дії спостерігали одониткові розриви ДНК та порушення клітинного циклу [Finiuk et al., 2018]. Зокрема, БФ1 збільшував кількість фосфорильованих форм кінази Chk1 – важливого регулятора клітинного циклу. Отже, ці пошкодження були спричинені АФО, накопиченими за дії досліджуваних речовин, а головно – пероксидом гідрогену.

На підставі наших експериментальних та літературних даних дія досліджуваних похідних тіазолу важливим чином скерована на активність ферментів антиоксидантної системи клітин лімфоми. Ці речовини призводять до підвищення активності СОД у лімфомі та знижують активність КАТ і ГПО, що може зумовлювати токсичне накопичення H_2O_2 у пухлинних клітинах і спричиняти розриви ДНК, апоптоз і зниження інтенсивності гліколізу. З огляду на це ферменти СОД, КАТ і ГПО, як ключові ферменти антиоксидантного захисту, можуть бути мішенями для протипухлинних препаратів, оскільки зміни фер-

ментативної активності впливатимуть на рівень вмісту первинних і вторинних продуктів ПОЛ, які можуть бути токсичними для ракових клітин. Отже, такі зміни активності ферментів антиоксидантної системи за дії речовин БФ1 і ПП2 можуть бути важливою частиною механізму збільшення чутливості ракових клітин до протипухлинних чинників.

- Бабський АМ, Іккерт ОВ, Манько ВВ. Основи біоенергетики: підручник. Львів: ЛНУ імені Івана Франка (Серія “Біологічні Студії”); 2019. 312 с.
- Беленічев І, Левицький Є, Губський Ю. Антиоксидантна система захисту (огляд). Сучасні проблеми токсикології [Інтернет]. 2002; (3): 21–31. Доступно на: http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2002/02_3_3.htm
- Колісник М, Колісник Г. Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітин. Біологія тварин [Інтернет]. 2009; 11(2): 59–70. Доступно на: <http://archive.inenbiol.com.ua:8080/bt/2009/1/5.pdf>
- Лавришин ЮЮ, Вархоляк ІС, Мартишук ТВ, Гута ЗА, Іванків ЛБ. Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму тварин. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького [Інтернет]. 13 верес. 2016; 18(2): 100–112. Доступно: на: <https://doi.org/10.15421/nlvvet6622>
- Леус ІВ, Шамелашвілі КЛ, Скорик ОД, Третяк СЮ, Голіченко ОА, Штеменко ОВ, Штеменко НІ. Антиоксидантна і протипухлинна активність та механізм дії дикарбоксилатів диренію у тварин із карциномою Герена. Український біохімічний журнал [Інтернет]. Черв. 2012; 84(3): 87–96. Доступно: <http://ua.ukrbiochemjournal.org/2016/04/antyoksydantna-i-protypuhlynna-aktyvnist-dykarboksylativ-dyreniyu-utvaryl-n-iz-kartsynomoyu-herena.html>
- Меньшикова ЕБ, Ланкин ВЗ, Зенков НК. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. Монография. Москва: Слово; 2006. 556 с.
- Шалай ЯР, Мандзинець СМ, Гренюх ВП, Фінюк НС, Бабський АМ. Вільнорадикальні процеси в клітинах лімфоми НК/Лу і гепатоцитах за дії новосинтезованого похідного тiazолу. Вісник проблем біології і медицини [Інтернет]. 2018; 2(143): 234–8. Доступно: <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2018-1-2-143-234-238>
- Шалай ЯР, Мушкета ПГ, Мандзинець СМ, Гренюх ВП, Бабський АМ. Рівень активності ключових ферментів антиоксидантного захисту у клітинах печінки та лімфоми мишей за дії нового похідного тiazолу. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія [Інтернет]. 2018; 2(82): 38–42. Доступно: <https://doi.org/10.25040/ecpb2018.02.038>
- Finiuk NS, Ivasechko II, Klyuchivska OY, Ostapiuk YV, 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 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>
- Ghani MA, Barril C, Bedgood DR, Prenzler PD. Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. Food Chemistry [Internet]. Elsevier BV; 2017 Sep; 230: 195–207. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.127>

- Holmström KM, Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2014 May 23; 15(6): 411–421. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrm3801>
- Jena NR. DNA damage by reactive species: Mechanisms, mutation and repair. *Journal of Biosciences* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2012 Jun 26; 37(3): 503–517. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12038-012-9218-2>
- Li Z, Yang Q, Qian X. Novel thiazonaphthalimides as efficient antitumor and DNA photocleaving agents: Effects of intercalation, side chains, and substituent groups. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2005 Aug;13(16): 4864–4870. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2005.05.006>
- Li M-H, Yang P, Yang T, Zhang K, Liu Y, Liu J, et al. A novel water-soluble benzothiazole derivative BD926 triggers ROS-mediated B lymphoma cell apoptosis via mitochondrial and endoplasmic reticulum signaling pathways. *International Journal of Oncology* [Internet]. Spandidos Publications; 2016 Sep 6; 49(5): 2127–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.3892/ijo.2016.3684>
- Rhee SG. A catalytic career: Studies spanning glutamine synthetase, phospholipase C, peroxiredoxin, and the intracellular messenger role of hydrogen peroxide. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2019 Mar; 294(13): 5169–5180. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.x119.007975>
- Thorn CF, Oshiro C, Marsh S, Hernandez-Boussard T, McLeod H, Klein TE, et al. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenetics and Genomics* [Internet]. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2011 Jul; 21(7): 440–446. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/fpc.0b013e32833ffb56>
- Yang F, Teves SS, Kemp CJ, Henikoff S. Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer* [Internet]. Elsevier BV; 2014 Jan; 1845(1): 84–89. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbcan.2013.12.002>
- Yang Y, Karakhanova S, Hartwig W, D’Haese JG, Philippov PP, Werner J, et al. Mitochondria and mitochondrial ROS in cancer: Novel targets for anticancer therapy. *Journal of Cellular Physiology* [Internet]. Wiley; 2016 Jun 20; 231(12): 2570–2581. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.25349>
- Wang Y-H, Yang X-L, Han X, Zhang L-F, Li H-L. Mimic of manganese superoxide dismutase to induce apoptosis of human non-Hodgkin lymphoma Raji cells through mitochondrial pathways. *International Immunopharmacology* [Internet]. Elsevier BV; 2012 Dec; 14(4): 620–628. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2012.09.019>
- Zheng L, Wang C, Luo T, Lu B, Ma H, Zhou Z, et al. JNK activation contributes to oxidative stress-induced parthanatos in glioma cells via increase of intracellular ROS production. *Molecular Neurobiology* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2016 May 16; 54(5): 3492–505. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-016-9926-y>

АНАЛІЗ МОЖЛИВИХ ПОБІЧНИХ ЕФЕКТІВ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛУ

Однією з найбільших проблем лікування раку є побічні ефекти хіміотерапевтичних препаратів, коли вони паралельно з цитотоксичністю стосовно ракових клітин пошкоджують неракові клітини. Зважаючи на різноманітну дію на клітини новосинтезованих сполук на основі тіазолів, зацікавленість до них лише зростатиме у майбутньому. Тому з'ясування механізмів дії різних похідних тіазолів на пухлинні клітини з невеликим або відсутнім негативним впливом на нормальні здорові клітини є актуальним і перспективним [Dos Santos et al., 2016].

Ми дослідили вплив похідних тіазолу на цитотоксичність стосовно псевдораккових клітин, на про- та антиоксидантні процеси у печінці та на генотоксичність похідних тіазолу.

Цитотоксичність похідних тіазолів щодо неракових клітин. Для перевірки побічних ефектів похідних тіазолу досліджували цитотоксичність речовин *N*-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід (БФ1) і 7-бензил-8-метил-2-пропілпіразоло[4,3-*e*]тіазоло[3,2-*a*]піримідин-4(2H)-он (ПП2) щодо псевдонормальних ембріональних клітин нирки людини та клітин шкіри – кератиноцитів. Щодо клітин лінії НЕК293 БФ1 за цитотоксичністю у 2,5 разу поступається доксорубіцину: $IC_{50} > 50$ мкМ (БФ1) і 20 мкМ (доксорубіцин). Подібну тенденцію (хоча й менше виражену) спостерігали і для ПП2, коли IC_{50} було у шість разів більше, ніж з доксорубіцином. Цитотоксичність досліджуваних похідних тіазолу щодо кератиноцитів (HaCat) також була нижчою, ніж у доксорубіцину. Наприклад, IC_{50} для речовини БФ1 становив 16,3 мкМ, а для ПП2 цей показник становив 17,4 мкМ. Для доксорубіцину $IC_{50} = 1,7$ мкМ.

Велика кількість ефективних щодо пухлинних клітин лікарських препаратів виявляє також високу токсичність і до здорових клітин. Як наслідок виникають значні побічні ефекти, що ще більше ускладнює процес лікування хворого. Обидві досліджувані нами новосинтезовані речовини були менш токсичні щодо непухлинних ембріональних клітин нирки людини НЕК293 та кератиноцитів

НаСаТ порівняно з доксорубіцином. Беручи до уваги, що БФ1 і ПП2 були цитотоксичними щодо пухлинних клітин гліобластоми, меланоми та двох ліній мієлоїдної лейкемії, можна зробити висновок, що ці речовини є високо селективними, що робить їх перспективними протипухлинними сполуками [Finiuk et al., 2018].

Вплив похідних тіазолу на ліпопероксидазну активність у печінці. У ході розвитку пухлин спостерігають системне ураження організму продуктами розпаду пухлин і зміни окисно-відновної рівноваги у тканинах та органах не уражених пухлиною. Наприклад, Демків та співав. [Демків та ін., 2016] встановили, що за розвитку аденокарциноми товстої кишки у шурів, достовірно зростає рівень продуктів ПОЛ у підшлунковій залозі.

У попередніх розділах цієї монографії та інших літературних джерелах продемонстровано вирішальну роль активних форм кисню (АФО) у реалізації цитотоксичних ефектів похідних тіазолу. Зокрема встановлено, що блеоміцин, який містить два тіазолових кільця, спричиняє зростання АФО через активацію каспази-8, протікання мітохондріальних мембран (*mitochondrial leakage*) та активацію каспази-9 з подальшою індукцією апоптозу [Wallach-Dayan et al., 2006]. Однак його застосування у антираковій терапії призводить до легеневого фіброзу та запальних процесів і не останню роль у цьому відіграє його здатність підвищувати рівень АФО [Wallach-Dayan et al., 2006]. Ще однією речовиною з потенційною антипухлинною дією є новосинтезоване тіазолове похідне на основі β -пінену [Wang et al., 2019]. Встановлено, що ця сполука теж зумовлювала підвищення рівня АФО, індукуючи зниження мембранного потенціалу та підвищення вивільнення цитохрому с, змінюючи експресію білків Вах, Bcl-2, каспази-3 та каспази-9 [Wang et al., 2019]. Ці та інші дані вказують на те, що АФО можуть генерувати неселективні цитотоксичні ефекти не тільки щодо пухлинних, але й і непухлинних клітин.

Печінка є головним детоксикуючим органом у ссавців, а також органом де часто виникають метастази, оскільки одним із найнебезпечніших шляхів розповсюдження пухлинних клітин є портална циркуляція. Метастази також можуть виникати лімфогенним способом, коли ракові клітини, зокрема, карциноми, поширюються в організмі по лімфатичних судинах у регіонарні лімфовузли. З огляду на це, гіпотезу про можливу роль АФО у можливих побічних ефектах похідних тіазолу ми перевірили на клітинах печінки здорових мишей і мишей-пухлиноносіїв.

З усіх досліджуваних показників ПОЛ (рівні пероксидів, ТБК-позитивних продуктів, супероксидрадикалів, активності супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази) тільки рівень ТБК-позитивних продуктів достовірно змінювався за дії похідних тіазолу. Так, за інкубації гомогенату печінки з ПП2 впродовж 15 хв у вищих концентраціях (10 і 50 мкМ) рівень вторинних продуктів достовірно знижувався відповідно на 39,3 і 41 % (у печінці здорової миші) та на 40,2 і 43,9 % (у печінці миші-пухлиноносія) (рис. 1). Натомість інше похідне тіазолу БФ1 не приводило до змін вмісту ТБК-позитивних продуктів у гомогенатах печінки як здорових мишей так і мишей-пухлиноносіїв [Shalai et al., 2017].

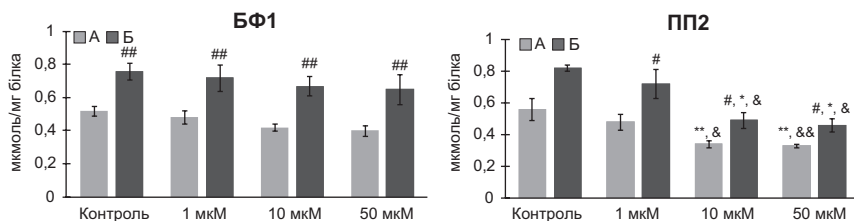


Рис. 1. Рівень ТБК-позитивних продуктів у печінці здорових мишей (А) та мишей-пухлиноносіїв (Б) за дії похідних тіазолу. * $P \leq 0,5$, ** $P \leq 0,01$ (vs Контроль), # $P \leq 0,5$, ## $P \leq 0,01$ (здорові vs миші-пухлиноносії), & $P \leq 0,5$, && $P \leq 0,01$ (vs 1 мкМ)

У процесі досліджень був виявлений цікавий факт, що у печінці мишей із лімфомою деякі показники ПОЛ є достовірно вищими, але похідні тіазолу на цю відмінність не впливають. Встановлено, що рівні ТБК-позитивних продуктів у печінці мишей-пухлиноносіїв були вищими на $\sim 46\%$ ($P < 0,01$), ніж у печінці здорових мишей [Shalai et al., 2021]. Ні БФ1, ні ПП2 на цю різницю практично не змінювали. Подібне співвідношення було встановлене і для базового рівня супероксид радикалів, який у печінці здорових тварин був $0,16\text{--}0,19$ нмоль/г \times с, а у заражених лімфомою – на $37\text{--}50\%$ вищим ($P < 0,01$). Рівні гідропероксидів у печінках тварин незаражених і заражених лімфомою не відрізнялись і не змінювались за дії БФ1 і ПП2 (Shalai et al., 2021).

Серед ферментів антиоксидантного захисту тільки активність каталази достовірно відрізнялась у печінці здорових тварин і тварин із лімфомою. Наприклад, у здорових мишей активність цього фермента була у межах $7,21\text{--}7,33$ нмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв} \times \text{мг білка}$, а у хворих – на $30\text{--}32\%$ вищою ($P < 0,01$) (рис. 2). Натомість, активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у печінках тварин незаражених і заражених лімфомою не відрізнялись і не змінювались за дії БФ1 і ПП2 (Шалай та ін., 2017; Shalai et al., 2021).

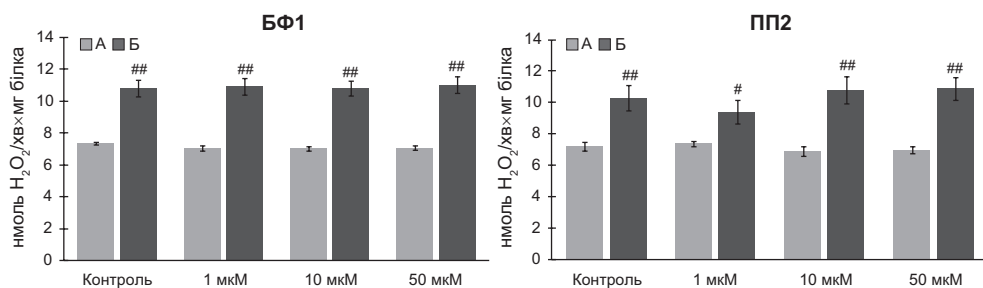


Рис. 2. Рівень активності каталази у печінці здорових мишей (А) та мишей-пухлиноносіїв (Б) за дії похідних тіазолу. # $P \leq 0,5$, ## $P \leq 0,01$ (здорові vs миші-пухлиноносії)

Отже, встановлено, що за дії речовин БФ1 і ПП2 вміст первинних продуктів ПОЛ, а також активність ферментів АОС не змінювались. Тільки вміст ТБК-позитивних продуктів достовірно знижувався за дії ПП2 у високих концентраціях 10 і 50 мкМ, що ще раз підтверджує гіпотезу про ймовірну взаємодію цієї

сполуки з АФО і можливу антиоксидантну властивість у печінці. Раніше було встановлено, що досліджувані нами похідні тіазолу не чинили достовірного впливу на параметри дихання та окисного фосфорилування у мітохондріях клітин печінки [Hreniukh et al., 2020]. За їх додавання у полярографічну комірку ці параметри достовірно не змінювались, що опосередковано свідчить про відносну стабільність окисно-відновних процесів у печінці за дії досліджуваних речовин.

Похідні тіазолу та генотоксичність. Відомо, що протиракові препарати пригнічують поділ клітин цибулі городньої (*Allium cepa*). Значні ефекти, зокрема, були виявлені під час застосування цисплатину (≥ 1 мкМ), іматинібу мезилату (≥ 10 мкМ), 5-фторурацилу та етопозиду (≥ 50 мкМ) [Misik et al., 2014]. Інгібування мітотичної активності є одним із параметрів оцінювання генотоксичності різних сполук. Протипухлинні препарати часто проявляють свою антипроліферативну активність через пригнічення синтезу ДНК або зупинку клітинного циклу у фазі G2 [Shetty, 2017]. Генотоксичні властивості протипухлинних сполук також обумовлюють структурні чи числові хромосомні аберації [Shetty, 2017, Attacha et al., 2017].

Оскільки було з'ясовано, що БФ1 та ПП2 індують апоптоз та пошкодження ДНК і впливають на перехід фази G2/M клітинного циклу в ракових клітинах [Finiuk et al., 2018] слід було з'ясувати питання генотоксичності цих речовин. Окрім того, вивільнення хіміотерапевтичних препаратів у навколишнє середовище може спричинити несприятливий вплив на екосистеми. Для подальшого впровадження цих похідних як потенційних протипухлинних агентів необхідно з'ясувати питання їхнього цитотоксичного впливу на рослини, які виконують важливу трофічну функцію в екосистемах. У роботі використовували *A. cepa* ана-телофазний тест для визначення генотоксичності досліджуваних речовин. Також оцінювали гострі токсичні ефекти за показниками інгібування поділу клітин, проростання насіння та росту коренів *A. cepa*.

БФ1 (10 мкМ) і ПП2 (1 і 10 мкМ) не спричиняли цитотоксичного ефекту щодо *A. cepa*. БФ1 тільки у значно вищій концентрації (100 мкМ), яка в 10 разів перевищує значення IC_{50} для пухлинних клітин, зумовлювала достовірне інгібування росту коренів і пригнічення проростання насіння цибулі.

Генотоксичні властивості деяких протипухлинних сполук часто обумовлюють структурні чи числові хромосомні аберації [Shetty A., 2017, Attacha et al., 2017]. Результати нашого ана-телофазного аналізу вказують на відсутність генотоксичної дії БФ1. Рівень хромосомних аберацій у контролі становив близько $2,3 \pm 0,9$ %. Ми виявили незначну зміну рівня аберації до $2,8 \pm 1,2$ % для БФ1 у концентрації 10 мкМ, до $2,6 \pm 1,2$ % для ПП2 за концентрації 1 мкМ та $2,9 \pm 1,2$ % для ПП2 за концентрації 10 мкМ. Також не було виявлено значних змін значень хромосомних аберацій до $3,1 \pm 1,5$ % за дії БФ1 (100 мкМ) порівняно з контролем (рис. 3). Варто зазначити, що азид натрію та доксорубіцин чинили набагато більші і достовірні зміни величини мітотичного індексу та хромосомних аберацій (рис. 3).

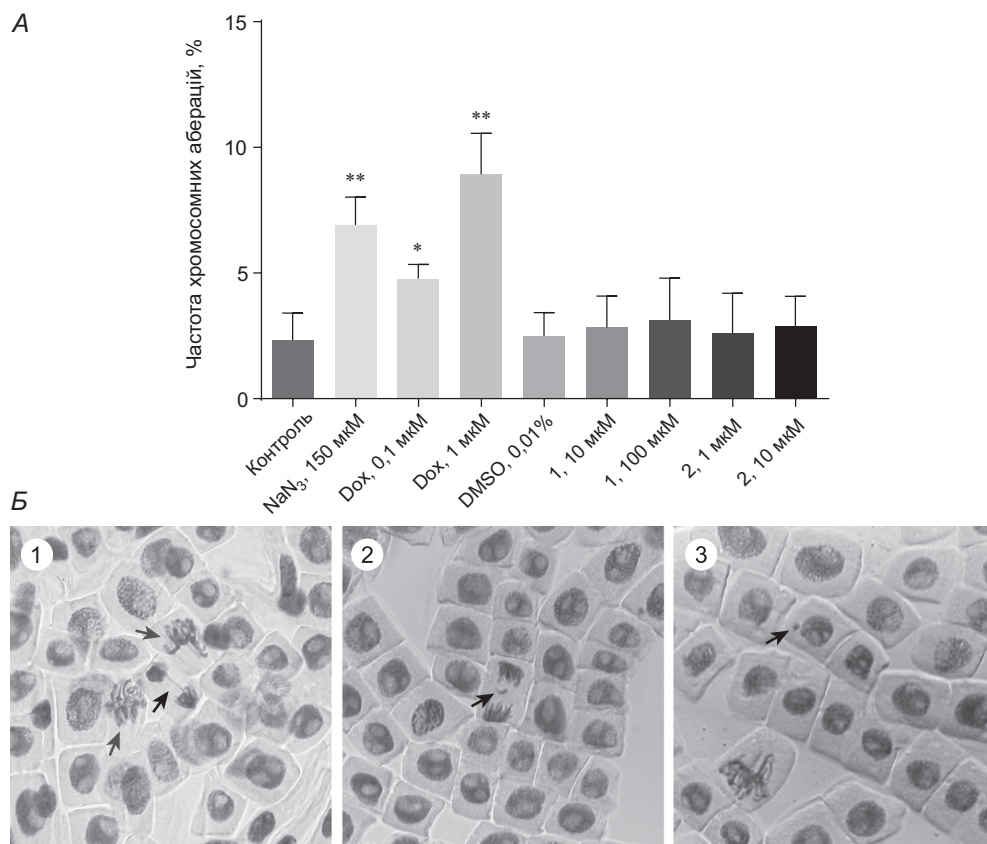


Рис. 3. Частота хромосомних аберацій (А) і аномалії розходження хромосом (Б) у клітинах меристеми корінців *Allium cepa* за дії похідних 2-аміно-5-бензилтіазолу: 1 – міст (чорна стрілка) і аномальна метафаза (сірі стрілки); 2 – фрагмент (чорна стрілка); 3 – мікроядро за дії NaCN₃ (чорна стрілка) за збільшення 10×10. ** – P < 0,01

Отже, БФ1 і ПП2 у концентраціях рівновеликих значенню IC₅₀ для пухлинних клітин і навіть у 10 разів вищих не проявляли цитотоксичну (інгібування поділу клітин, проростання насіння і росту коренів *A. cepa*) та генотоксичну активності (підвищення рівня хромосомних аберацій) в *A. cepa* ана-телофазному тесті. Оскільки досліджувані похідні тіазолу, виявляють високу селективну цитотоксичність стосовно пухлинних клітин і не впливають на неракові клітини та рослини, ці речовини є перспективними як протипухлинні препарати, і надалі можуть бути використані для доклінічних досліджень з розробки ефективних протипухлинних препаратів, які не мають шкідливих побічних ефектів.

Демків ІЯ, Лісничук НЄ, Сорока ЮВ, Чихира ОВ. Окисно-відновна рівновага в селезінці білих щурів за умов індукованого канцерогенезу [Інтернет]. Медична та клінічна хімія. 2016;18(3):38–42. Доступно на: <https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/MCC/article/download/6942/6430/24020>

- Мітек ДВ, Кузьма МВ, Шалай ЯР, Мандзинець СМ, Попович МВ, Гренюх ВП, Бабський АМ. Вплив ловців активних форм Оксигену на супероксиддисмутазну активність клітин лімфоми за дії похідного тiazолу. XV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології” [Інтернет]; 9–11 квіт. 2019; Львів; 2019; 41. Доступно на: https://bioweb.lnu.edu.ua/wp-content/uploads/2019/04/Conf_YPB_tezy_2019.pdf
- Шалай Я, Мушкета П, Мандзинець С, Гренюх В, Бабський А. Зміни вмісту супероксидного радикалу у лімфомі NK/Ly та печінці мишей за дії похідного тiazолу. Молодь і поступ біології: Збірник тез XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології” [Інтернет]; 10–12 квіт. 2018; Львів; 2018; 33. Доступно на: <https://bioweb.lnu.edu.ua/research/conferences>
- Шалай ЯР, Мушкета ПГ, Мандзинець СМ, Гренюх ВП, Бабський АМ. Рівень активності ключових ферментів антиоксидантного захисту у клітинах печінки та лімфоми мишей за дії нового похідного тiazолу. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія [Інтернет]. 2018;2(82):38–42. Доступно: <https://doi.org/10.25040/ecpb2018.02.038>
- Attacha S, Solbach D, Bela K, Moseler A, Wagner S, Schwarzländer M, et al. Glutathione peroxidase-like enzymes cover five distinct cell compartments and membrane surfaces in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell & Environment* [Internet]. Wiley; 2017 Mar 27;40(8):1281–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/pce.12919>
- Burhans WC, Weinberger M. DNA replication stress, genome instability and aging. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2007 Nov 30; 35(22): 7545–56. Available from: 10.1093/nar/gkm1059
- Damiano S, Montagnaro S, Puzio MV, Severino L, Pagnini U, Barbarino M, et al. Effects of antioxidants on apoptosis induced by dasatinib and nilotinib in K562 cells. *Journal of Cellular Biochemistry* [Internet]. Wiley; 2018 Mar;119(6):4845–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.26686>
- Dos Santos TAR, da Silva AC, Silva EB, Gomes PAT de M, Espindola JWP, Cardoso MV de O, et al. Antitumor and immunomodulatory activities of thiosemicarbazones and 1,3-Thiazoles in Jurkat and HT-29 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [Internet]. Elsevier BV; 2016 Aug;82:555–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2016.05.038>
- Epe B. Role of Endogenous Oxidative DNA Damage in Carcinogenesis: What Can We Learn from Repair-Deficient Mice? *Biological Chemistry* [Internet]. Walter de Gruyter GmbH; 2002 Jan 12;383(3-4). Available from: <http://dx.doi.org/10.1515/bc.2002.049>
- 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, Hreniukh VP, Ostapiuk YV, Matyichuk VS, Obushak MD, et al. Effects of new derivatives of 2-amino-5-benzylthiazole of genotoxicity and acute toxicity in *Allium* bioassays. *Studia Biologica* [Internet]. Ivan Franko National University of Lviv; 2018;12(2):25–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1202.568>
- Finiuk NS, Ostapiuk YV, Hreniukh VP, Shalai YR, Matyichuk VS, 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>
- Franco R, Schoneveld O, Georgakilas AG, Panayiotidis MI. Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis. *Cancer Letters* [Internet]. Elsevier BV; 2008 Jul;266(1):6–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2008.02.026>

- Helleday T, Petermann E, Lundin C, Hodgson B, Sharma RA. DNA repair pathways as targets for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2008 Mar;8(3):193–204. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc2342>
- Hreniukh VP, Finiuk NS, Shalai YaR, Manko BO, Manko BV, Ostapiuk YuV, Kulachkovskyy OR, Obushak MD, Stoika RS, Babsky AM. Effects of thiazole derivatives on intracellular structure and functions in murine lymphoma cells. *The Ukrainian Biochemical Journal* [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2020;92(2): 121–130. Available from: <https://doi.org/10.15407/ubj91.02.121>
- Gümüş M, Yakan M, Koca İ. Recent advances of thiazole hybrids in biological applications. *Future Medicinal Chemistry* [Internet]. Future Science Ltd; 2019 Aug;11(15):1979–98. Available from: <http://dx.doi.org/10.4155/fmc-2018-0196>
- Levine RL. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease^{2,3} Guest Editor: Earl Stadtman³This article is part of a series of reviews on “Oxidatively Modified Proteins in Aging and Disease.” The full list of papers may be found on the homepage of the journal. *Free Radical Biology and Medicine* [Internet]. Elsevier BV; 2002 May;32(9):790–6. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)00765-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0891-5849(02)00765-7)
- Liou G-Y, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research* [Internet]. Informa UK Limited; 2010 Jan;44(5):479–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.3109/10715761003667554>
- Malothu N, Veldandi UK, Yellu NR. Population pharmacokinetics of 5-fluoro uracil in Indian cancer patient population. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* [Internet]. 2010;3(3): 197–200. Available from: <http://www.ajpcr.com/Vol3Issue3/14.pdf>
- Mansouri A, Gaou I, de Kerguenec C, Amsellem S, Haouzi D, Berson A, et al. An alcoholic binge causes massive degradation of hepatic mitochondrial DNA in mice. *Gastroenterology* [Internet]. Elsevier BV; 1999 Jul;117(1):181–90. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0016-5085\(99\)70566-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0016-5085(99)70566-4)
- Mello T, Zanieri F, Ceni E, Galli A. Oxidative stress in the healthy and wounded hepatocyte: A cellular organelles perspective. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [Internet]. Hindawi Limited; 2016;2016:1–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8327410>
- Meng T-C, Fukada T, Tonks NK. Reversible oxidation and inactivation of protein tyrosine phosphatases *in vivo*. *Molecular Cell* [Internet]. Elsevier BV; 2002 Feb;9(2):387–99. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s1097-2765\(02\)00445-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1097-2765(02)00445-8)
- Mišík M, Pichler C, Rainer B, Filipic M, Nersesyan A, Knasmueller S. Acute toxic and genotoxic activities of widely used cytostatic drugs in higher plants: Possible impact on the environment. *Environmental Research* [Internet]. Elsevier BV; 2014 Nov;135:196–203. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2014.09.012>
- Ricci C, Pastukh V, Leonard J, Turrens J, Wilson G, Schaffer D, et al. Mitochondrial DNA damage triggers mitochondrial-superoxide generation and apoptosis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* [Internet]. American Physiological Society; 2008 Feb; 294(2):C413–C422. Available from: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpcell.00362.2007>
- Rouf A, Tanyeli C. Bioactive thiazole and benzothiazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2015 Jun;97:911–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.10.058>
- Sadashiva R, Naral D, Kudva J, Madan Kumar S, Byrappa K, Mohammed Shafeeulla R, et al. Synthesis, structure characterization, *in vitro* and *in silico* biological evaluation of a new series of thiazole nucleus integrated with pyrazoline scaffolds. *Journal of Molecular*

- Structure [Internet]. Elsevier BV; 2017 Oct;1145:18–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.05.066>
- Sahin Z, Ertas M, Berk B, Biltekin SN, Yurttas L, Demirayak S. Studies on non-steroidal inhibitors of aromatase enzyme; 4-(aryl/heteroaryl)-2-(pyrimidin-2-yl)thiazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2018 May;26(8):1986–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2018.02.048>
- Shetty A, Venkatesh T, Suresh PS, Tsutsumi R. Exploration of acute genotoxic effects and antigenotoxic potential of gambogic acid using *Allium cepa* assay. *Plant Physiology and Biochemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2017 Sep;118:643–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.08.005>
- Shalai Ya, Mandzynets S, Hreniukh V, Babsky A. Effect of the thiazole derivative on the content of TBA-positive products in liver cells. 3rd Kyiv International Symposium on Smooth Muscle Physiology, Biophysics and Pharmacology. Kyiv–Lutsk, 2017; 66
- Shalai YR, Popovych MV, Kulachkovskyy OR, Hreniukh VP, Mandzynets SM, et al. Effect of novel 2-amino-5-benzylthiazole derivative on cellular ultrastructure and activity of anti-oxidant system in murine lymphoma cells. *Studia Biologica* [Internet]. Ivan Franko National University of Lviv; 2019;13(1):51–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1301.591>
- Shalai YR, Popovych MV, Mandzynets SM, Hreniukh VP, Finiuk NS, et al. Prooxidant and antioxidant processes in the liver homogenate of healthy and tumor-bearing mice under the action of thiazole derivatives. *The Ukrainian Biochemical Journal* [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2021 Jul 8;93(3):61–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj93.03.061>
- Squier T C. Protein oxidation and age-dependent alterations in calcium homeostasis. *Frontiers in Bioscience* [Internet]. Bioscience Research Institute Pte. Ltd.; 2000;5(1):d504. Available from: <http://dx.doi.org/10.2741/squier>
- Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Frontiers in Bioscience* [Internet]. Bioscience Research Institute Pte. Ltd.; 2005;10(1-3):1881. Available from: <http://dx.doi.org/10.2741/1667>
- Swift L, Golsteyn R. Genotoxic anti-cancer agents and their relationship to DNA damage, mitosis, and checkpoint adaptation in proliferating cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. MDPI AG; 2014 Feb 25;15(3):3403–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms15033403>
- Wallach-Dayana SB, Izbicki G, Cohen PY, Gerstl-Golan R, Fine A, Breuer R. Bleomycin initiates apoptosis of lung epithelial cells by ROS but not by Fas/FasL pathway. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* [Internet]. American Physiological Society; 2006 Apr;290(4):L790–L796. Available from: <http://dx.doi.org/10.1152/ajplung.00300.2004>
- Wang Y, Wu C, Zhang Q, Shan Y, Gu W, Wang S. Design, synthesis and biological evaluation of novel β -pinene-based thiazole derivatives as potential anticancer agents via mitochondrial-mediated apoptosis pathway. *Bioorganic Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2019 Mar;84:468–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.12.010>
- Wells-Knecht MC, Lyons TJ, McCance DR, Thorpe SR, Baynes JW. Age-dependent increase in ortho-tyrosine and methionine sulfoxide in human skin collagen is not accelerated in diabetes. Evidence against a generalized increase in oxidative stress in diabetes. *Journal of Clinical Investigation* [Internet]. American Society for Clinical Investigation; 1997 Aug 15;100(4):839–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1172/jci119599>

БІОЕНЕРГЕТИЧНІ ПРОЦЕСИ У МІТОХОНДРІЯХ КЛІТИН ЛІМФОМИ НЕМЕТ–КЕЛНЕРА ЯК ПОТЕНЦІЙНА МІШЕНЬ ДІЇ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІВ

Починаючи з 1926 р., коли було виявлено ефект Варбурга, біоенергетичні процеси у пухлинних клітинах є предметом активного вивчення. Отто Варбург спочатку передбачав, що аеробний гліколіз є універсальною властивістю злоякісних клітин через дефекти мітохондріального метаболізму [Warburg, 1967]. Зокрема, в деяких форм раку виявлено порушення активності каталітичної субодиниці мітохондріальної АТФ-синтази (β F1-АТФ-ази) [Cuezva et al., 2002; Isidoro et al, 2005; King et al., 2006; Simmonet et al., 2002], рівень



Отто Варбург (1883–1970)

експресії білка якої корелює зі швидкістю аеробного гліколізу та швидкістю процесів параметрів окисного фосфорилування. Водночас відомо, що мітохондрії пухлин інтенсивно поглинають кисень і ресинтезують АТФ, виявляючи високі значення параметрів окисного фосфорилування, і фізіологічно нормальні швидкості окиснення субстратів [Eakin et al., 1972].

Беручи до уваги нижчу енергетичну цінність анаеробного гліколізу в порівнянні з повним окисненням глюкози, незначні зміни інтенсивності окисно-відновних процесів чи спряженості процесів дихання та окисного фосфорилування у мітохондріях можуть суттєво змінити метаболізм ракової клітини, у якій проходять інтенсивні та енергозатратні синтетичні процеси, зокрема, такі як проліферація, яка є однією з основних характеристик ракових клітин. Проте швидка проліферація призводить до гіпоксії в пухлинах через нездатність судинної системи забезпечити достатнє насичення киснем – це стосу-

ється також і несолідних пухлин. Подібні ішемічні стани переважно є смертельними для доброякісних клітин через опосередковану гіпоксією p53-залежну загибель клітин. Тим не менш, пухлинні клітини уникають гіпоксійно-опосередкованої загибелі внаслідок зниженої експресії [Moll, Schramm, 1998] або мутації гена *p53* [Lu et al., 2007], що встановлено для клітин NK/Ly [Nemeth, Kellner, 1961]. Відомо, що p53, який є транскрипційним активатором, може впливати на мітохондрійні процеси через синтез цитохром оксидази 2 (SCO₂), що може призвести до відтворення ефекту Варбурга через регуляцію активностей Akt та фосфогліцератмутази [Matoba, Kang, 2006]. Відповідно, стимуляція гліколізу, високий рівень якого характерний для клітин NK/Ly [Panchuk et al, 2007; 2008], і зниження ролі окисного фосфорилування може також відбуватися шляхом активації фосфоінозитидної 3-кінази (PI3K) та її подальшої мішені – Akt (також відомої як протеїнкіназа B).

За умов низької напруженості кисню (гіпоксії, ішемії) клітини активують гліколітичний шлях за допомогою гетеродимеру HIF-1 [Moll, Schramm, 1998], який накопичується в ядрі, де і утворює комплекс з експресованим HIF-1b [Huertas et al., 1996; Semenza et al., 1996; 2002; Shi, Noguchi, 1999]. HIF-1 індукуює гени, які контролюють ангиогенез, метаболізм глюкози, клітинну проліферацію та інвазію. Зокрема, HIF-1 стимулює перенесення глюкози і гексокінази у клітину, що каталізує першу реакцію гліколізу – фосфорилування глюкози. В деяких пухлинах високий рівень HIF-1 спостерігається в насиченому киснем середовищі, вказуючи, що є й інші чинники, крім гіпоксії, що можуть призвести до стабілізації HIF-1. Також HIF-1 може функціонувати як перемикач між гліколізом і окисним фосфорилуванням, а саме – стимулюючи експресію лактатдегідрогенази А (анаеробної ізоформи ферменту) та індукуючи кінназу піруватдегідрогенази 1 (ПДК1). Від відносної активності піруватдегідрогенази (ПДГ) і лактатдегідрогенази (ЛДГ) залежить рівень кількості кінцевого продукту гліколізу – пірувату, який модулює режим клітинного споживання АТФ. Активність ПДГ перебуває під контролем ПДК1, ензиму, який фосфорилує та інактивує ПДГ. Індукуючи ПДК1, HIF-1 тим самим інактивує ПДГ, в результаті інгібуючи цикл Кребса і дихання мітохондрій [Kim et al., 2006; Papandreou et al., 2006]. За цих умов піруват перетворюється в лактат, використовуючи цитозольний НАДН і полегшуючи подальший перебіг гліколізу. Пригнічення окиснення пірувату за участі HIF-1, своєю чергою, слугує механізмом, який захищає клітини від виробництва токсичного АФО – зокрема, в HIF-1-дефектних мишачих ембріональних фібробластах рівень АФО різко збільшувався, що призводило до загибелі клітин. [Semenza, 2007]. Також HIF-1 модулює активність цитохром-оксидази (ЦХО), пригнічуючи рівень експресії субодиниці ЦХО 4-1 (відповідає за активність ЦХО в аеробних умовах) на відміну від альтернативної ізоформи ЦХО 4-2, рівень експресії якої зростає в умовах гіпоксії [Fukuda et al., 2007]. Разом ці чинники пригнічують постачання ацетил-КоА до циклу Кребса і мітохондріальне дихання в пухлинах та стимулюють гліколіз [Gottlieb, Tomlinson, 2007]. Водночас справедливо і зворотнє – виявлено, що сукцинат

інгібує гідроксилазу HIF-1 α , що призводить до стабілізації й активації HIF-1 α . Накопичення сукцинату може відбуватись і внаслідок інгібування сукцинатдегідрогенази. Мутації цього ферменту беруть участь у формуванні спадкової схильності до утворення пухлин, тому сукцинатдегідрогеназу можна розглядати як класичний пухлинний супресор [Barger, Plas, 2010]. Аналогічний ефект стабілізації HIF-1 α був описаний для лактату і пірувату.

Оскільки кількість глюкози, що поглинається раковими клітинами, перевищує їхні біоенергетичні потреби, вважається, що надмірний гліколіз в пухлинах є потрібний для підтримки постійного росту клітин [Vander Heiden et al., 2009]. Ключовим ферментом, що зв'язує метаболізм глюкози та синтез ліпідів, є АТФ-цитратліаза (АЦЛ), яка каталізує перетворення цитрату в ацетил-КоА в цитозолі. Інгібування АЦЛ може пригнічувати виживання пухлинних клітин і проліферацію *in vitro*, а також може зменшити зростання пухлини *in vivo* та індукувати диференціювання клітин [Hatzivassiliou et al., 2005]. Ця підвищена залежність ракових клітин від гліколізу може бути сприятливою для вибіркового знищення пухлинних клітин інгібуванням гліколізу. Особливо ефективно це може бути в клітинах з дефектами мітохондрій, або в умовах гіпоксії, коли гліколіз є переважачим джерелом АТФ. За таких обставин можна очікувати, що інгібування гліколізу серйозно зменшить рівень клітинного АТФ [Pelicano et al., 2006; 2009]. Дійсно, в різних ракових клітинах було виявлено, що інгібування гліколізу призводить до помітного зниження рівня АТФ, особливо в лініях з дефектами мітохондрійного дихання [Xu et al., 2010]. Комбіноване лікування з фактором некрозу пухлин (ФНП- α) і 2-дезоксиглюкозою (аналогом глюкози, що не метаболізується), призводило до апоптозу, причому 2-дезоксиглюкоза помітно посилювала цитотоксичність цитокіну ФНП- α [Halicka et al., 1995]. Інгібування переносників глюкози теж може бути використане в протипухлинній терапії. Флоретин, інгібітор транспорту глюкози, помітно покращував протиракову дію даунорубіцину [Сао et al., 2007]. Поєднання інгібіторів гліколізу і звичайних хіміотерапевтичних препаратів може забезпечити корисну терапевтичну стратегію для подолання резистентності гіпоксичних пухлинних клітин.

Зворотній зсув генерації АТФ від гліколізу до окисного фосфорилування може зробити пухлинні клітини чутливими до протипухлинних препаратів і сприяти загибелі клітин. Одним із таких способів є перенаправлення пірувату до його подальшого перетворення в мітохондріях. Інгібування ПДК1 та активація ПДГ дихлорацетатом призводить до зменшення метаболізму від гліколізу до повного окиснення глюкози. Лікування з дихлорацетатом збільшує мітохондрійне виробництво АФО, в усіх ракових клітинах, але не в нормальних клітинах [Michelakis et al., 2008]. Крім того, в клітинних лініях з апоптичною відповіддю, дихлорацетат стимулює експресію PUMA, що свідчить про причетність до p53-PUMA-опосередкованого механізму [Wong et al., 2008]. Дихлорацетат ефективно сенсibiliзує клітини раку простати до радіації, модулюючи експресію ключових членів родини Bcl-2 [Сао et al., 2007]. Аналогічний ефект був досягнутий методом інгібування ЛДГ і перенаправлення пірувату в мітохондрії.

Як наслідок, здатність цих пухлинних клітин до проліферації в умовах гіпоксії була помітно знижена, одночасно із стимуляцією мітохондріального дихання та ресинтезу АТФ.

Однак за таких обставин може бути необхідне додаткове пригнічення активності мітохондрій, щоб знищити ракові клітини. Наприклад, нетоксичні дози апоптолідину (інгібітора мітохондріальної АТФ-синтази) індукували загибель клітин при застосуванні разом з оксаматом, інгібітором ЛДГ [Salomon et al., 2000]. Аналогічні результати були отримані, коли замість оксамату використовували 2-дезоксиглюкозу для інгібування гліколізу. Тобто, для підвищення ефективності ліквідації злоякісних клітин можуть знадобитися комбіновані стратегії, за участю модуляції гліколітичних і мітохондріальних шляхів.

Ще одним важливим наслідком гліколітичного зсуву в пухлинних клітинах є їхня надбана стійкість до апоптозу. Під час апоптозу цитохром *c* вивільняється з міжклітинного простору мітохондрій, зупиняючи роботу дихального ланцюга і залишаючи пори у мембрані. Пермеабілізація зовнішньої мітохондріальної мембрани вважається одним із ключових факторів для процесу апоптозу [Chaabane et al., 2012; Gogvadze et al., 2008]. Також відомо, що модуляція функції мітохондрій агентами, які пригнічують дихання мітохондрій, або розпрямлюють окисне фосфорилування, викликає загибель клітин. Наприклад, інгібітори мітохондріального дихального ланцюга (ротенон чи антимицин А) та інгібітор мітохондріальної АТФ-синтази (олігоміцин) індукують апоптоз в культивованих людських лімфобластоїдних клітинах та інших клітинах ссавців [Skulachev, 1996]. Зниження активності мітохондріального дихального ланцюга також підвищує чутливість клітини до загальних апоптичних стимулів – зокрема, в HeLa клітинах, оброблених інгібіторами дихального ланцюга, апоптоз спричиняли такі концентрації Fas, які не індукували апоптоз в контрольних клітинах [Asoh et al., 1996]. Важливість мітохондрій в якості мішеней для протипухлинного лікування також описані в експериментах з *транс*-ретиноевою кислотою (ATRA, або ретиноїн), яка сповільнює дихання мітохондрій у мієлоїдній лінії клітин P39, знижує мембранний потенціал і викликає відкриття проникної пори мітохондрії (МТП) [Schmidt-Mende et al., 2006]. Ретиноїн-індукована мітохондріальна дисфункція і активація каспаз були інгібовані ніфедипіном, блокатором кальцієвих каналів.

Встановлено, що велика кількість протипухлинних препаратів індукують апоптоз у злоякісних клітинах [Debatin, 2000; Preston et al., 2011], головню завдяки активації шляхів цитохрому *c* / каспаза-9 [Kaufmann, Earnshaw, 2000]. Таким чином впливають етопозид, доксорубіцин, 1-*a-D*-арабінофуранозилцитозин, лонідамін, бетулінова кислота, арсеній, CD437, і кілька катіонних амфіфільних α -спіральних пептидів [Costantini et al., 2000; DeBerardinis et al., 2007].

Подібна загибель клітин, що індукується інгібіторами мітохондріального дихального ланцюга, часто є опосередкована АФО. Модуляція клітинного окисно-відновного балансу стимуляцією продукції АФО та/або виснаження захисних метаболітів (таких як, наприклад, глутатіон і НАДФН) може при-

звести до оксидативного стресу та індукції апоптозу [Engel, Evens, 2006]. Відповідно, зсув балансу в бік формування АФО може дестабілізувати мітохондрії і полегшити пермеабілізацію зовнішньої мітохондрійної мембрани з виходом цитохрому *c* та інших білків, що беруть участь в апоптичній загибелі клітин. Протипухлинний ефект низки звичайних процедур (іонізуюче випромінювання, етопозиди, арсенати) базується на їхній здатності стимулювати утворення АФО. Наприклад, бензил ізотіоціанат впливає на дихальний ланцюг, і викликає АФО-залежний апоптоз в ракових клітинах молочної залози людини [Xiao et al., 2008], який гальмувався надекспресією каталази і Cu,Zn-супероксид-дисмутази, а також інгібуванням дихального ланцюга.

Одним із основних фізіологічних чинників, які регулюють вірогідність відкриття МТР, є іони кальцію. Численні спостереження встановили зростання $[Ca^{2+}]$ у цитозолі під час апоптозу [McConkey, Orrenius, 1997]. Маніпуляція концентрацією іона в інтактних клітинах може бути здійснена за допомогою тапсигаргіна, який є потужним інгібітором Ca^{2+} -АТФ-ази ендоплазматичного ретикулу (ЕПР) [Thastrup et al., 1990], що запобігає накопиченню кальцію в ЕПР [Bian et al., 2008; Waring et al., 1996]. Також відомо, що виснаження мітохондрійного Ca^{2+} у кардіоміоцитів і клітин нейробластоми стимулює апоптоз, тоді як перевантаження Ca^{2+} призводить до некрозу [Waring et al., 2008]. Отже, хімічні і фізичні агенти, що впливають на мітохондрійний мембранний потенціал, можна розглядати як про-апоптогенні, а відкриття МТР може бути і результатом, й ініціатором колапсу клітини.

Також як мішені варто згадати системи активного транспорту іонів [Chen et al., 2014; Sussman et al., 2008; Ibsen, 2008; Martinou et al., 2008; Xu et al., 2010]. Зокрема, встановлено, що пригнічення Na^+/K^+ -помпи виявляє антиміграційну дію щодо пухлинних клітин молочної залози [Magpusao et al., 2014]. Водночас інгібування Ca^{2+} -помпи ЕПР тапсигаргіном активує проапоптичні шляхи у ЕПР і мітохондріях. Крім того, було доведено, що бафіломіцин (селективний інгібітор H^+ -АТФ-ази V-типу) збільшує загибель пухлинних клітин молочної залози та зменшує інвазійність пухлинних клітин *in vitro* [Graham et al., 2014; Stock, Schwab, 2009].

У наших експериментах [Hreniukh et al., 2016] було встановлено, що додавання бафіломіцину у полярографічну комірку з мітохондріями лімфоми НК/Лу призводило до вираженого зниження швидкості дихання органел у всіх метаболічних станах за Чансом як за окиснення α -кетоглутарату (1 мМ), так і сукцинату (0,35 мМ) (рис. 1). Коли ж разом із бафіломіцином до мітохондрій лімфоми додавали НААДФ (потужний Ca^{2+} -мобілізуєчий вторинний месенджер) то спостерігали повне розпруження дихання і окисного фосфорилування внаслідок, очевидно, незворотніх змін у мітохондрійній мембрані (рис. 2)

Аналіз субстрат-залежного дихання мітохондрій дає змогу отримати цінну інформацію про енергетичні процеси, які відіграють важливу роль у метаболізмі ракових клітин [Fogg et al., 2012; Wallace, 2003]. Зокрема, відомо, що додавання α -кетоглутарату, сукцинату (в метильованій та неметильованій формі)

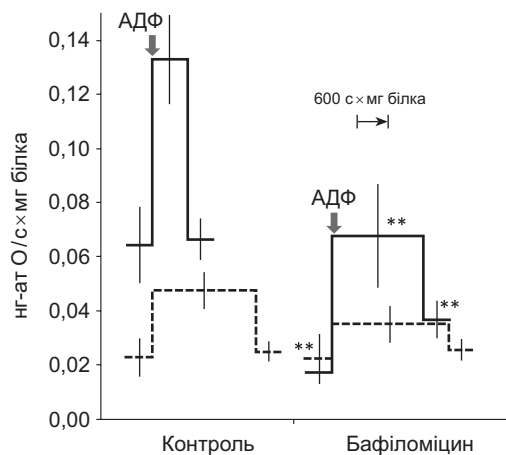


Рис. 1. Вплив бафіломіцину на швидкості поглинання кисню у різних метаболічних станах за окиснення α -кетоглутарату (суцільна лінія) і сукцинату (пунктир). $M \pm m$, $n = 5$. Достовірність: ** – $P \leq 0,02$ (vs Контроль)

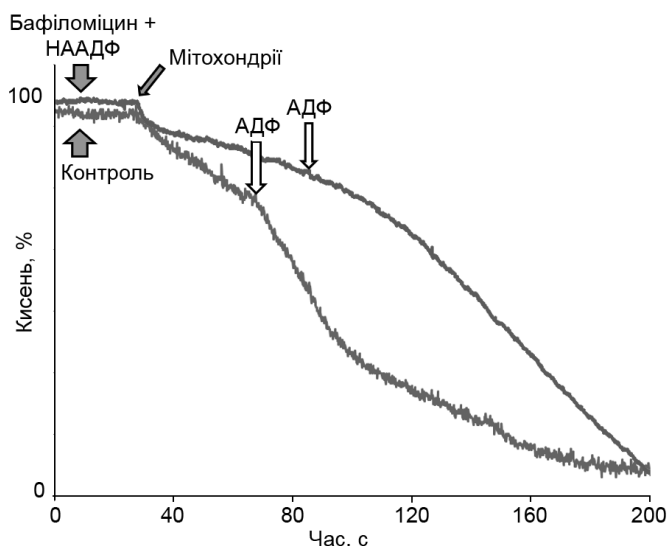


Рис. 2. Розпряжувачий ефект бафіломіцину А1 та НААДФ на дихання і окисне фосфорилування в ізолюваних мітохондріях лімфому NK/Ly. Субстрат окиснення: α -кетоглутарат, 1 mM

чи глутаміну не змінює FCCP-стимульовану швидкість поглинання кисню клітинами NK/Ly, що опосередковано свідчить або про недостатню проникність плазматичної мембрани лімфомних клітин для цих дикарбоксилатів, або про наявність високих запасів ендогенних субстратів у клітинах, що “насихують” дихальний ланцюг відновлювальними еквівалентами. Проте додавання глюкози чи пірувату за стимуляції FCCP стимулює поглинання кисню клітинами NK/Ly, що опосередковано свідчить про наявність транспортерів для даних субстратів, якими виступають MCT для пірувату [Wahrheit et al., 2015] та GLUT для глюкози [Adekola et al., 2012]. У пермеабілізованих лімфомних клітинах [Horbay et al., 2012] чи в ізолюваних мітохондріях [Hreniukh et al., 2015],

де доступ сукцинату і α -кетоглутарату до мітохондрій вільний, ці субстрати активно окиснюються, але інтенсивність дихання за використання α -кетоглутарату є вищою порівняно з сукцинатом у всіх метаболічних станах за Чансом. α -кетоглутарат може бути визначальним енергетичним субстратом для мітохондрій лімфоми, враховуючи можливість безпосереднього субстратного фосфорилування з утворенням ГТФ (АТФ) у циклі Кребса.

Виділені мітохондрії лімфоми NK/Ly є функціонально активними і структурно цілісними. Порівняно з мітохондріями печінки, що часто використовують як контроль до мітохондрій інших органів [Nelson, Cox, 2008], для мітохондрій NK/Ly характерні нижчі швидкості дихання, незалежно від субстрату окиснення, нижчі параметри дихального контролю [Lardy, 1955] та окисного фосфорилування, що пов'язано з певними особливостями пухлинної тканини, зокрема меншою кількістю мітохондрій, а також ефектом Варбурга, який передбачає перевагу гліколізу перед окисними процесами у мітохондріях у енергетичному забезпечення ракових клітин [Wang, Semenza, 1993]. Разом із тим, у мітохондріях клітин лімфоми зменшення показника дихального контролю і збільшення тривалості часу фосфорилування спостерігали тільки за окиснення НАД-залежного субстрату α -кетоглутарату. Аналогічне зниження швидкості окисного фосфорилування описано у мітохондріях із клітин карциноми Ерліха порівняно із мітохондріями печінки щура [Bian et al., 1997; Borst, 1960; Hawtrey, Silk, 1960; Heinz et al., 1981; Wojtczak et al., 1999a; 1999b]. Окрім того, за окиснення α -кетоглутарату в мітохондріях лімфоми дихальний контроль є нижчим, а час фосфорилування тривалішим, тоді як за окиснення ФАД-залежного субстрату сукцинату спостерігали тільки зниження співвідношення АДФ/О порівняно з мітохондріями печінки [Бабский, 1985; Chance, Williams, 1955].

Оскільки раніше було підтверджено, що тіазоли активують діяльність супероксиддисмутази та інгібують активність каталази і глутатіонпероксидази [Shalai et al., 2019], вплив тіазолів було перевірено за їх інкубації з клітинами NK/Ly протягом 15 хв. За концентрації 10 мкМ було виявлено апоптичні зміни у клітинах, які зморщувалися, та втрачали свою форму – зміна кількості мітохондрій, деформація та втрата ядер клітин. У концентрації 50 мкМ ці зміни були ще більш чітко виражені. Вони включали в себе елімінацію ядра, зміну числа лізосом, та навіть повне зникнення внутрішніх органел. Це узгоджується з виявленим попередньо мітохондрійним типом апоптозу [Finiuk et al., 2019a; Finiuk et al., 2019b]. Проте параметри дихання та окисного фосфорилування мітохондрій NK/Ly після впливу *ex vivo* не змінювалися порівняно з контролем. У разі додавання тіазолів до суспензії мітохондрій *in vitro* змін також не було виявлено. Коли ж за умов *ex vivo* було виміряно потенціал мітохондрій з використанням родаміну 123 [Manko, Bilonoha, 2019] та FCCP, було виявлено статистично достовірне падіння мітохондрійного потенціалу за наявності 50 мкМ похідного піразолопіримідину. При аналогічній дозі похідного бензофурану було виявлено виражений блебінг плазматичної мембрани дослідних клітин.

Відповідно, відсутність суттєвих ефектів *in vitro* та *ex vivo* можна пояснити різноспрямованими та синергічними ефектами досліджуваних похідних тіазолу: 1) збільшенням кількості мітохондрій; 2) вивільнення цитохрому *c* з мітохондрій [Фільченков, Стойка, 2006]; 3) апоптотичні та некротичні зміни в клітинах лімфоми NK/Ly; і 4) гетерогенний стан клітин лімфоми у суспензії та їх мітохондрій [Hreniukh et al., 2015]. Можна припустити, що 15-хвилинна інкубація клітин з похідними тіазолу є занадто короткою. Однак результати дослідження електронної мікроскопії продемонстрували різкі зміни кількості та форми мітохондрій на цьому терміні інкубації. Ці зміни ультраструктури мітохондрій разом із зменшенням мембранного потенціалу мітохондрій свідчать про їх роль у механізмі дії досліджуваних похідних тіазолу.

На рис.3 представлено основні механізми залучення мітохондрій у функціонування енергетичних процесів у нормальних (зліва) та ракових (справа) клітинах, а також роль апоптозу в процесі виживання (внизу). Як видно, мутації генів-супресорів MYC, HIF1 α , TP53, NRF2 призводять до переключення ракового метаболізму на інтенсифікацію біосинтетичних процесів, переважання анаеробного гліколізу над окисним фосфорилуванням, зростання активних форм кисню мітохондріального походження та формування резистентності до апоптозу через активацію антиапоптотичних білків (BCL2) та холестеролу.

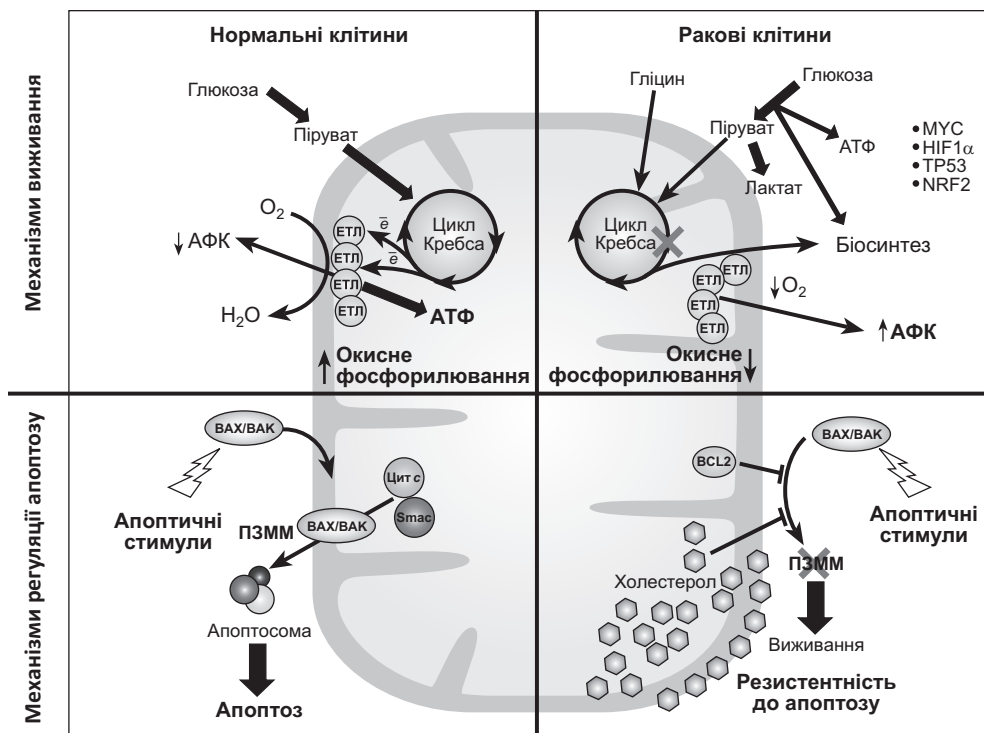


Рис. 3. Роль мітохондрій у функціонуванні ракових клітин

- Бабский АМ. Влияние адреналина на окислительное фосфорилирование и обмен ионов кальция в митохондриях печени и слизистой оболочки тонкого кишечника крысы [диссертация] Пушино; 1985. 137 с
- Кондрашова МН, Каминский ЮГ, Маевский ЕИ. Митохондрии в патологии. Пушино: ОНТИ; 2001. 320 с
- Фільченков ОО, Стойка РС. Апоптоз і рак: від теорії до практики. Тернопіль: Укр академ книга; 2006. 524 с
- Adekola K, Rosen ST, Shanmugam M. Glucose transporters in cancer metabolism. *Current Opinion in Oncology* [Internet]. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 2012 Nov;24(6):650–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/cco.0b013e328356da72>
- Asoh S, Mori T, Hayashi J-I, Ohta S. Expression of the Apoptosis-Mediator Fas Is Enhanced by Dysfunctional Mitochondria. *Journal of Biochemistry* [Internet]. Oxford University Press (OUP); 1996 Sep 1;120(3):600–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a021455>
- Bian X, Hughes FM, Huang Y, Cidlowski JA, Putney JW. Roles of cytoplasmic Ca²⁺ and intracellular Ca²⁺ stores in induction and suppression of apoptosis in S49 cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* [Internet]. American Physiological Society; 1997 Apr 1;272(4):C1241–C1249. Available from: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpcell.1997.272.4.c1241>
- Borst P. Preparation and Properties of Mitochondria from Ehrlich Ascites Tumor Cells. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* [Internet]. Rockefeller University Press; 1960 Apr 1;7(2):381–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.7.2.381>
- Cao X, Fang L, Gibbs S, Huang Y, Dai Z, Wen P, et al. Glucose uptake inhibitor sensitizes cancer cells to daunorubicin and overcomes drug resistance in hypoxia. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2006 Aug 12;59(4):495–505. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00280-006-0291-9>
- Chaabane W, User SD, El-Gazzah M, Jaksik R, Sajjadi E, Rzeszowska-Wolny J, et al. Autophagy, Apoptosis, Mitoptosis and Necrosis: Interdependence Between Those Pathways and Effects on Cancer. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2012 Dec 11;61(1):43–58. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00005-012-0205-y>
- Chance B, Williams GR. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 1955 Nov;217(1):409–27. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)57191-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9258(19)57191-5)
- Chen D, Song M, Mohamad O, Yu SP. Inhibition of Na⁺/K⁺-ATPase induces hybrid cell death and enhanced sensitivity to chemotherapy in human glioblastoma cells. *BMC Cancer* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2014 Sep 26;14(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-14-716>
- Costantini P. Mitochondrion as a Novel Target of Anticancer Chemotherapy. *Journal of the National Cancer Institute* [Internet]. Oxford University Press (OUP); 2000 Jul 5;92(13):1042–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/92.13.1042>
- Cuezva JM, Krajewska M, de Heredia ML, Krajewski S, Santamaria G, Kim H, Zapata JM, Marusawa H, Chamorro M, Reed JC. The bioenergetic signature of cancer: a marker of tumor progression. *Cancer Res.* 2002 Nov 15;62(22):6674–81
- Debatin K-M. Activation of apoptosis pathways by anticancer treatment. *Toxicology Letters* [Internet]. Elsevier BV; 2000 Mar;112-113:41–8. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4274\(99\)00252-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4274(99)00252-0)
-

- DeBerardinis RJ, Mancuso A, Daikhin E, Nissim I, Yudkoff M, Wehrli S, et al. Beyond aerobic glycolysis: Transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. Proceedings of the National Academy of Sciences; 2007 Nov 21;104(49):19345–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0709747104>
- Eakin RT, Morgan LO, Gregg CT, Matwiyoff NA. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of living cells and their metabolism of a specifically labeled ^{13}C substrate. *FEBS Letters* [Internet]. Wiley; 1972 Dec 15;28(3):259–64. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/0014-5793\(72\)80726-9](http://dx.doi.org/10.1016/0014-5793(72)80726-9)
- Engel R H. Oxidative stress and apoptosis: a new treatment paradigm in cancer. *Frontiers in Bioscience* [Internet]. Bioscience Research Institute Pte. Ltd.; 2006;11(1):300. Available from: <http://dx.doi.org/10.2741/1798>
- Sussman I, Erecińska M, Wilson DF. Regulation of cellular energy metabolism. The Crabtree effect. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)– Bioenergetics* [Internet]. Elsevier BV; 1980 Jul;591(2):209–23. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/0005-2728\(80\)90153-x](http://dx.doi.org/10.1016/0005-2728(80)90153-x)
- 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); 2019a Jan;30(1):27–37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/cad.0000000000000686>
- Finiuk NS, Ivasechko II, Klyuchivska OY, Ostapiuk YV, 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); 2019b Apr 1;91(2):29–39. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj91.02.029>
- Fogg VC, Lanning NJ, MacKeigan JP. Mitochondria in cancer: at the crossroads of life and death. *Chinese Journal of Cancer* [Internet]. Editorial Office of Chinese Journal of Cancer; 2011 Aug 5;30(8):526–39. Available from: <http://dx.doi.org/10.5732/cjc.011.10018>
- Fukuda R, Zhang H, Kim J, Shimoda L, Dang CV, Semenza GL. HIF-1 Regulates Cytochrome Oxidase Subunits to Optimize Efficiency of Respiration in Hypoxic Cells. *Cell* [Internet]. Elsevier BV; 2007 Apr;129(1):111–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.047>
- Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. Mitochondria in cancer cells: what is so special about them? *Trends in Cell Biology* [Internet]. Elsevier BV; 2008 Apr;18(4):165–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcb.2008.01.006>
- Graham RM, Thompson JW, Webster KA. Inhibition of the vacuolar ATPase induces Bnip3-dependent death of cancer cells and a reduction in tumor burden and metastasis. *Oncotarget* [Internet]. Impact Journals, LLC; 2013 Dec 29;5(5):1162–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.1699>
- Hägg M, Wennström S. Activation of hypoxia-induced transcription in normoxia. *Experimental Cell Research* [Internet]. Elsevier BV; 2005 May;306(1):180–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.01.017>
- Halicka HD, Ardelt B, Li X, Melamed MM, Darzynkiewicz Z. 2-Deoxy-D-glucose enhances sensitivity of human histiocytic lymphoma U937 cells to apoptosis induced by tumor necrosis factor. *Cancer Res.* 1995 Jan 15;55(2):444-9.
- Hatzivassiliou G, Zhao F, Bauer DE, Andreadis C, Shaw AN, Dhanak D, et al. ATP citrate lyase inhibition can suppress tumor cell growth. *Cancer Cell* [Internet]. Elsevier BV; 2005 Oct;8(4):311–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2005.09.008>

- Hawtrey AO, Silk MH. Mitochondria of the Ehrlich ascites-tumour cell. Isolation and studies of oxidative phosphorylation. *Biochemical Journal* [Internet]. Portland Press Ltd.; 1960 Jan 1;74(1):21–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1042/bj0740021>
- Heinz A, Sachs G, Schafer JA. Evidence for activation of an active electrogenic proton pump in Ehrlich ascites tumor cells during glycolysis. *The Journal of Membrane Biology* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 1981 Oct;61(3):143–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/bf01870520>
- Horbay RO, Manko BO, Manko VV, Lootsik MD, Stoika RS. Respiration characteristics of mitochondria in parental and giant transformed cells of the murine Nemeth–Kellner lymphoma. *Cell Biology International* [Internet]. Wiley; 2011 Dec 5;36(1):71–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1042/cbi20110017>
- Hreniukh V, Lootsik M, Kulachkovsky O, Stoika R, Babsky A, et al. Comparative characteristics of respiration and oxidative phosphorylation in mitochondria of cells of mouse liver and lymphoma NK/Ly. *Studia Biologica* [Internet]. Ivan Franko National University of Lviv; 2015;9(2):39–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.0902.414>
- Hreniukh V, Bychkova S, Kulachkovsky O, Babsky A. Effect of bafilomycin and NAADP on membrane-associated ATPases and respiration of isolated mitochondria of the murine Nemeth-Kellner lymphoma. *Cell Biochemistry and Function* [Internet]. Wiley; 2016 Nov 8;34(8):579–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/cbf.3231>
- Huertas JR, Martinez-Velasco E, Ibáñez S, López-Frias M, Ochoa JJ, Quiles J, et al. Virgin olive oil and coenzyme Q10 protect heart mitochondria from peroxidative damage during aging. *BioFactors* [Internet]. Wiley; 1999;9(2-4):337–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/biof.5520090233>
- Ibsen KH. The Crabtree effect: a review. *Cancer Res.* 1961 Aug;21:829–41.
- Isidoro A, Casado E, Redondo A, Acebo P, Espinosa E, Alonso AM, et al. Breast carcinomas fulfill the Warburg hypothesis and provide metabolic markers of cancer prognosis. *Carcinogenesis* [Internet]. Oxford University Press (OUP); 2005 Jul 20;26(12):2095–104. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgi188>
- Kaufmann SH, Earnshaw WC. Induction of Apoptosis by Cancer Chemotherapy. *Experimental Cell Research* [Internet]. Elsevier BV; 2000 Apr;256(1):42–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1006/excr.2000.4838>
- King A, Selak MA, Gottlieb E. Succinate dehydrogenase and fumarate hydratase: linking mitochondrial dysfunction and cancer. *Oncogene* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2006 Aug;25(34):4675–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1209594>
- Lardy P. Energetic coupling and regulation of metabolic rates. *Congr. Intern. Biochem. Report*; 1955: 287–293
- Lu H, Forbes RA, Verma A. Hypoxia-inducible Factor 1 Activation by Aerobic Glycolysis Implicates the Warburg Effect in Carcinogenesis. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2002 Jun;277(26):23111–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m202487200>
- Magpusao AN, Omolloh G, Johnson J, Gascón J, Pecuh MW, Fenteany G. Cardiac Glycoside Activities Link Na⁺/K⁺ ATPase Ion-Transport to Breast Cancer Cell Migration via Correlative SAR. *ACS Chemical Biology* [Internet]. American Chemical Society (ACS); 2014 Nov 26;10(2):561–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/cb500665r>
-

- Manko BO, Bilonoha OO, Manko VV. Adaptive respiratory response of rat pancreatic acinar cells to mitochondrial membrane depolarization. The Ukrainian Biochemical Journal [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2019 May 15;91(3):34–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj91.03.034>
- Martinou J-C, Desagher S, Antonsson B. Cytochrome c release from mitochondria: all or nothing. Nature Cell Biology [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2000 Mar;2(3):E41–E43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/35004069>
- Matoba S. p53 Regulates Mitochondrial Respiration. Science [Internet]. American Association for the Advancement of Science (AAAS); 2006 Jun 16;312(5780):1650–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1126863>
- McConkey DJ, Orrenius S. The Role of Calcium in the Regulation of Apoptosis. Biochemical and Biophysical Research Communications [Internet]. Elsevier BV; 1997 Oct;239(2):357–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.1997.7409>
- Michelakis ED, Webster L, Mackey JR. Dichloroacetate (DCA) as a potential metabolic-targeting therapy for cancer. British Journal of Cancer [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2008 Sep 2;99(7):989–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6604554>
- Moll UM, Schramm LM. p53--An Acrobat in Tumorigenesis. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine [Internet]. SAGE Publications; 1998 Jan;9(1):23–37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/10454411980090010101>
- Nelson DL, Cox MM. Lehninger Biochemie. Springer-Lehrbuch [Internet]. Springer Berlin Heidelberg; 2001; Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-08289-8>
- Nemeth L, Kellner B. A new mouse ascites tumour to be used as a screening tool. Neoplasma. 1961;8:337–43
- Panchuk RR, Boiko NM, Lootsik MD, Stoika RS. Changes in signaling pathways of cell proliferation and apoptosis during NK/Ly lymphoma aging. Cell Biology International [Internet]. Wiley; 2008 Sep;32(9):1057–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellbi.2008.06.002>
- Panchuk RR, Boiko NM, Stoika RS. Molecular mechanisms of apoptosis induction in murine lymphoma NK/Ly under chemotherapy *in vivo*. Studia Biologica [Internet]. Ivan Franko National University of Lviv; 2009;3(1):35–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.0301.017>
- Pelicano H, Xu R, Du M, Feng L, Sasaki R, Carew JS, et al. Mitochondrial respiration defects in cancer cells cause activation of Akt survival pathway through a redox-mediated mechanism. Journal of Cell Biology [Internet]. Rockefeller University Press; 2006 Dec 11;175(6):913–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.200512100>
- Pelicano H, Lu W, Zhou Y, Zhang W, Chen Z, Hu Y, et al. Mitochondrial Dysfunction and Reactive Oxygen Species Imbalance Promote Breast Cancer Cell Motility through a CXCL14-Mediated Mechanism. Cancer Research [Internet]. American Association for Cancer Research (AACR); 2009 Mar 10;69(6):2375–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-08-3359>
- Preston TJ, Abadi A, Wilson L, Singh G. Mitochondrial contributions to cancer cell physiology: potential for drug development. Advanced Drug Delivery Reviews [Internet]. Elsevier BV; 2001 Jul;49(1-2):45–61. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x\(01\)00127-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00127-2)
- Preston TJ, Abadi A, Wilson L, Singh G. Mitochondrial contributions to cancer cell physiology: potential for drug development. Advanced Drug Delivery Reviews [Internet]. Elsevier BV; 2001 Jul;49(1-2):45–61. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x\(01\)00127-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00127-2)

- Schmidt-Mende J, Gogvadze V, Hellström-Lindberg E, Zhivotovsky B. Early mitochondrial alterations in ATRA-induced cell death. *Cell Death & Differentiation* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2005 Jul 8;13(1):119–28. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.cdd.4401715>
- Semenza GL, Jiang B-H, Leung SW, Passantino R, Concordet J-P, Maire P, et al. Hypoxia Response Elements in the Aldolase A, Enolase 1, and Lactate Dehydrogenase A Gene Promoters Contain Essential Binding Sites for Hypoxia-inducible Factor 1. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 1996 Dec;271(51):32529–37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.271.51.32529>
- Semenza GL. Oxygen-dependent regulation of mitochondrial respiration by hypoxia-inducible factor 1. *Biochemical Journal* [Internet]. Portland Press Ltd.; 2007 Jun 13;405(1):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1042/bj20070389>
- Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2003 Dec;3(10):721–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc1187>
- Shalai YR, Popovych MV, Kulachkovskyy OR, Hreniukh VP, Mandzynets SM, et al. Effect of novel 2-amino-5-benzylthiazole derivative on cellular ultrastructure and activity of antioxidant system in murine lymphoma cells. *Studia Biologica* [Internet]. Ivan Franko National University of Lviv; 2019;13(1):51–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1301.591>
- Shi H, Noguchi N, Niki E. Dynamics of antioxidant action of ubiquinol: A reappraisal. *BioFactors* [Internet]. Wiley; 1999;9(2-4):141–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/biof.5520090208>
- Simonnet H. Low mitochondrial respiratory chain content correlates with tumor aggressiveness in renal cell carcinoma. *Carcinogenesis* [Internet]. Oxford University Press (OUP); 2002 May 1;23(5):759–68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/23.5.759>
- Skulachev VP. Role of uncoupled and non-coupled oxidations in maintenance of safely low levels of oxygen and its one-electron reductants. *Quarterly Reviews of Biophysics* [Internet]. Cambridge University Press (CUP); 1996 May;29(2):169–202. Available from: <http://dx.doi.org/10.1017/s0033583500005795>
- Stock C, Schwab A. Protons make tumor cells move like clockwork. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2009 May 13;458(5):981–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00424-009-0677-8>
- Thastrup O, Cullen PJ, Drobak BK, Hanley MR, Dawson AP. Thapsigargin, a tumor promoter, discharges intracellular Ca^{2+} stores by specific inhibition of the endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. Proceedings of the National Academy of Sciences; 1990 Apr 1;87(7):2466–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.87.7.2466>
- Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science* [Internet]. American Association for the Advancement of Science (AAAS); 2009 May 22;324(5930):1029–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1160809>
- Wahrheit J, Nonnenmacher Y, Sperber S, Heinzle E. High-throughput respiration screening of single mitochondrial substrates using permeabilized CHO cells highlights control of mitochondria metabolism. *Engineering in Life Sciences* [Internet]. Wiley; 2015 Mar;15(2):184–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/elsc.201400175>

- Wallace KB. Doxorubicin-Induced Cardiac Mitochondrionopathy. *Pharmacology & Toxicology* [Internet]. Wiley; 2003 Sep;93(3):105–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0773.2003.930301.x>
- Wang GL, Semenza GL. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*; 1993 May 1;90(9):4304–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.90.9.4304>
- Warburg, O.: The prime cause and prevention of cancer. *Tritsch, Wurzburg* 1967:6-16
- Waring P, Beaver J. Cyclosporin A Rescues Thymocytes from Apoptosis Induced by Very Low Concentrations of Thapsigargin: Effects on Mitochondrial Function. *Experimental Cell Research* [Internet]. Elsevier BV; 1996 Sep;227(2):264–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1006/excr.1996.0276>
- Wojtczak L, Teplova VV, Bogucka K, Czyz A, Makowska A, Wieckowski MR, et al. Effect of glucose and deoxyglucose on the redistribution of calcium in Ehrlich ascites tumour and Zajdela hepatoma cells and its consequences for mitochondrial energetics. Further arguments for the role of Ca²⁺ in the mechanism of the Crabtree effect. *European Journal of Biochemistry* [Internet]. Wiley; 1999a Jul 15;263(2):495–501. Available from: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00522.x>
- Wojtczak L, Wieckowski MR. The mechanisms of fatty acid-induced proton permeability of the inner mitochondrial membrane. *J Bioenerg Biomembr*. 1999b Oct;31(5):447–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1023/a:1005444322823>.
- Wong JYY, Huggins GS, Debidda M, Munshi NC, De Vivo I. Dichloroacetate induces apoptosis in endometrial cancer cells. *Gynecologic Oncology* [Internet]. Elsevier BV; 2008 Jun;109(3):394–402. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2008.01.038>
- Xiao D, Powolny AA, Singh SV. Benzyl Isothiocyanate Targets Mitochondrial Respiratory Chain to Trigger Reactive Oxygen Species-dependent Apoptosis in Human Breast Cancer Cells. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2008 Oct;283(44):30151–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m802529200>
- Xu Z-W, Wang F-M, Gao M-J, Chen X-Y, Hu W-L, Xu R-C. Targeting the Na⁺/K⁺-ATPase α 1 Subunit of Hepatoma HepG2 Cell Line to Induce Apoptosis and Cell Cycle Arresting. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* [Internet]. Pharmaceutical Society of Japan; 2010;33(5):743–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.33.743>
- Zhu LP, Yu XD, Ling S, Brown RA, Kuo TH. Mitochondrial Ca²⁺ homeostasis in the regulation of apoptotic and necrotic cell deaths. *Cell Calcium* [Internet]. Elsevier BV; 2000 Aug;28(2):107–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1054/ceca.2000.0138>

АНТИНЕОПЛАСТИЧНА АКТИВНІСТЬ *IN VITRO* ПОХІДНОГО БЕНЗИЛТІАЗОЛУ В КОМПЛЕКСІ З ПОЛІМЕРНИМИ НОСІЯМИ

За останні роки нанобіотехнології досягли істотних успіхів у дизайні та створенні систем доставки медикаментів. Використання нових наноматеріалів у фармакології дало змогу вирішити проблеми водорозчинності та біодоступності протипухлинних засобів і допомогло суттєво зменшити їхні негативні побічні ефекти в організмі [Monteiro et al., 2021]. Фізико-хімічні властивості полімерних носіїв дозволяють з високою ефективністю транспортувати медикаменти в тілі пацієнтів, зокрема, націлювати їх на пухлинні клітини і контролювати вивільнення ліків у ділянці їхньої дії [Senapati et al., 2018]. Розроблено так звані “розумні” наноплатформи, що включають амфіфільні блок-кополімери, кон’югати полімерів із лікарськими засобами, наноматеріали, які реагують на зміни рН та окислювально-відновний потенціал [Monteiro et al., 2021; Wen et al., 2019]. До носіїв медикаментів висувають вимоги: ефективно переносити речовину до клітин-, органел- чи тканин-мішеней, мати здатність зберігати стабільність медикаментозного препарату, циркулювати у крові протягом тривалого часу, вивільняти активну речовину, зменшувати негативні побічні ефекти в організмі й оптимізувати фармакокінетичні параметри дії медикаментів [Gagliardi et al., 2021; Wen et al., 2019; Monteiro et al., 2021; Li et al., 2017].

Створено низку систем для цілеспрямованої доставки протипухлинних засобів, включаючи носії на основі ліпідів, синтетичних і природних полімерів, неорганічних наночастинок [Gagliardi et al., 2021; Wen et al., 2019; Monteiro et al., 2021]. Серед полімерних систем виділяють природні, напівсинтетичні або синтетичні [Torres et al., 2020]. Природні полімери включають різні класи полісахаридів і протеїнів, які завдяки своїй біосумісності мають широкий спектр медичного застосування [Fathi and Barar, 2017]. Відомий також потенціал синтетичних полімерів як носіїв ліків [Tran et al., 2017]. Полімерні носії характеризуються низькою токсичністю та імуногенністю, стабільністю в кровообігу, забезпечують захист ліків від деградації. Найчастіше використовуваними

гідрофобними полімерами є полі(ϵ -капролактон) (PCL), полі(молочна кислота) (PLA), полі(молочна-ко-гліколева кислота) (PLGA), полі(пропіленоксид) (PPO) та полі(аспарагінова кислота) (PAsp). Серед гідрофільних полімерів найчастіше використовують полі(етиленгліколь) (ПЕГ), полі(глутамінову кислоту) (ПГА), полі(етиленімін) (ПЕІ), N-(2-гідроксипропіл)метакриламід (HPMA) [Avramović et al., 2020; Senapati et al., 2018; Knop et al., 2010].

Полімерні ПЕГ-вмісні носії часто використовують для доставки протипухлинних чинників [Knop et al., 2010; Suk et al., 2016]. ПЕГ забезпечує стеричний бар'єр для носіїв з метою уникнення їх взаємодії з білками крові, продовжуючи таким чином час їхнього кровообігу і запобігаючи їхній агрегації [Pasut et al., 2015; Hoang Thi et al., 2020; Sanchez-Cano and Carril, 2020]. З цієї причини ПЕГілування носіїв є дуже бажаним для підвищення терапевтичної ефективності протипухлинних засобів і зменшення їхніх побічних ефектів [Gagliardi et al., 2021]. Gref et al. [2000] встановили, що ПЕГіловані носії на основі PLGA значно довше перебувають у плазмі крові та менше накопичуються в печінці. Молекулярна маса, довжина ланцюга та кілька гілок ПЕГ можуть впливати на фізико-хімічні властивості та біологічну ефективність полімера [Gagliardi et al., 2021]. ПЕГіловані полімери були синтезовані для доставки в організмі камптотецину [Cirpanli et al., 2011], паклітакселу [Hu et al., 2017], доксорубіцину [Hong et al., 2008; Wen et al., 2001], цисплатину [Matsumura, 2008; Plummer et al., 2011], метформіну [Shafiei-Irannejad et al., 2018], куркуміну [Yuan et al., 2018; Wang et al., 2013], а також низки гетероциклічних сполук, наприклад, похідних 4-тіазолідинону [Kobylynska et al., 2018; 2019], дасатинібу [Yao et al., 2017]. Доклінічне дослідження першої фази ПЕГілованих носіїв і цисплатину підтвердило нижчу токсичність комплексів, ніж вільного цисплатину [Wilson et al., 2008; Plummer et al., 2011; Avramović et al., 2020].

Нещодавно встановлено, що тривале введення ПЕГ-вмісних полімерів обмежує їхню ниркову екскрецію, сприяючи їхньому накопиченню в печінці та лізосомах клітин здорових тканин [Thomas and Weber, 2019]. Також повідомлено про виникнення гіперчутливості на введення ПЕГ-вмісних полімерів [Thomas and Weber, 2019]. Garay et al. [2012] повідомили про значну імуногенність ПЕГілованих полімерів і накопичення анти-ПЕГ антитіл у крові деяких пацієнтів. Це явище свідчить про те, що широке використання похідних ПЕГу в різних продуктах, які використовують щодня, особливо в косметиці та продуктах харчування, а також у фармацевтичних рецептурах, сприяє появі відповідних антитіл [Gulati et al., 2018]. Однак, необхідні додаткові дослідження імуногенності ПЕГ-вмісних носіїв [Gagliardi et al., 2021].

Синтез використаних ПЕГ-вмісних нанорозмірних носіїв здійснено на кафедрі органічної хімії Національного університету "Львівська Політехніка". Для створення гребенеподібних ПЕГ-вмісних полімерних носіїв (ПН) використовували дві стратегії: 1) прищеплення монометилового етеру ПЕГ (мПЕГ) до епоксидовмісного полімеру (grafting to) [Mitina et al., 2020] і 2) (ко)полімеризація макромерів ПЕГ-метакрилату (grafting through) [Paiuk et al., 2018]. Гребенеподібний кополімер полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ (**3**) синтезували за допомогою

методу радикальної кополімеризації мономерів ВЕП і ГМА в діоксані і очищували переосадженням [Voronov et al., 1996]. Гребенеподібні полі(ПЕГМА475) (**5**) і полі(ПЕГМА-ко-ДММ) (**7**) синтезували в діоксані, використовуючи метод радикальної (ко)полімеризації ПЕГ-вмісного макромеру після ініціації АБН за наявності ППБ, як регулятора довжини полімерного ланцюга (рис. 1) [Francuskiewicz, 1994].

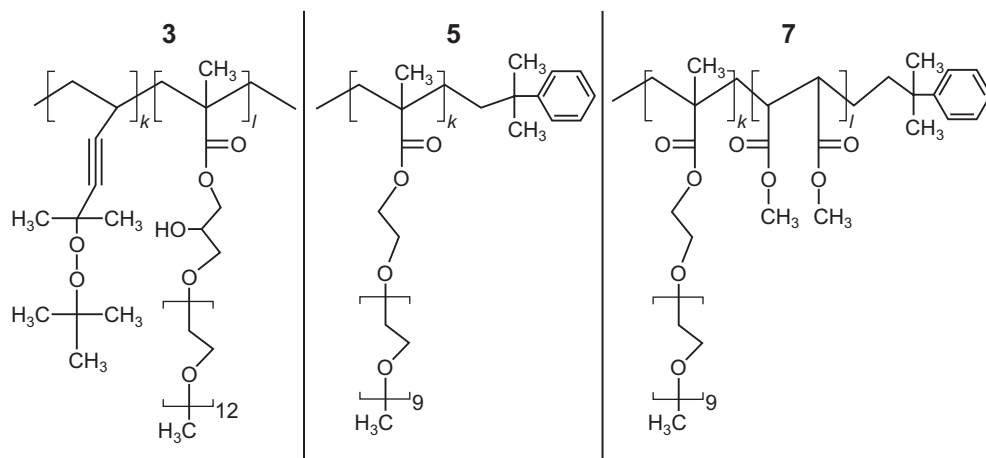


Рис. 1. Структура ПН: 3 – полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ ($k = 1,4\%$ мол., $l = 98,6\%$ мол., $M_n = 240$ кДа); 5 – полі(ПЕГМА475) ($k = 99,2\%$ мол., [ПІБ.-фрагмент] = $0,8\%$ мол., $M_n = 55$ кДа); 7 – полі(ПЕГМА-ко-ДММ) $k = 87,0\%$ мол., $l = 13,0\%$ мол., $M_n = 47$ кДа) [Фінюк та ін., 2021]

Комплекси Т4, Т6 і Т8 отримували розчиненням речовини БФ1 і відповідного полімеру в диметилсульфоксиді (ДМСО) з наступним розчиненням комплексу у воді. Комплекс Т2 – комплекс БФ1 з полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ, комплекс Т4 – комплекс БФ1 з полі(ПЕГМА475), Т8 – комплекс БФ1 з полі(ПЕГМА-ко-ДММ).

Авторами вивчено цитотоксичну дію похідного тіазолу (N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід, БФ1), який отримували за синтезу солей діазонію та акролеїну [Finiuk et al., 2017]. Встановлено, що похідне тіазолу БФ1 та його комплекси з полімерними носіями полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ, полі(ПЕГМА), полі(ПЕГМА-ко-ДММ) відрізняються за антипроліферативною дією на пухлинні клітини. Серед досліджуваних пухлинних клітин клітини лінії HL-60 промієлоцитарного лейкозу людини були найбільш чутливими до дії речовини БФ1 (IC_{50} становив $0,64 \pm 0,07$ мкМ, рис. 2, таблиця). Доксорубіцин продемонстрував вищу токсичність щодо клітин лінії HL-60 ($IC_{50} = 0,16 \pm 0,01$ мкМ, *** – $P < 0,001$ порівняно з токсичністю речовини БФ1). Комплекси Т4 і Т6 проявили більшу токсичність щодо клітин лінії HL-60. IC_{50} становив $0,53 \pm 0,04$ мкМ для комплексу Т4 (***) – $P < 0,001$ порівняно з речовиною БФ1) та $0,61 \pm 0,02$ мкМ – для комплексу Т6 (** – $P < 0,01$ порівняно з речовиною БФ1). Цитотоксичність комплексу Т8 щодо клітин лінії HL-60 була нижчою, ніж цитотоксичність вільного БФ1 і доксорубіцину. Показник IC_{50} становив $0,71 \pm 0,05$ мкМ для комплексу Т8 (рис. 2, таблиця) [Фінюк та ін., 2021].

Показник IC_{50} досліджуваних речовин для клітин різних ліній

Лінії клітин	Речовини							
	БФ1	П3	Т4	П5	Т6	П7	Т8	Докс
HL-60	0,64 ± 0,07	>10	0,53 ± 0,04	>10	0,61 ± 0,02	>10	0,71 ± 0,05	0,16 ± 0,01
НерG2	0,77 ± 0,04	>10	0,62 ± 0,02	>10	>10	>10	0,41 ± 0,02	0,91 ± 0,05
С6	2,10 ± 0,14	>10	1,03 ± 0,06	>10	7,94 ± 0,03	>10	0,36 ± 0,02	2,20 ± 0,14
MDA-MB-231	26,50 ± 2,90	>50	8,90 ± 0,70	>50	6,20 ± 0,50	>50	6,90 ± 0,40	0,63 ± 0,05
MCF-7	15,80 ± 0,90	>50	9,80 ± 0,60	>50	10,00 ± 0,60	>50	9,60 ± 0,80	0,62 ± 0,04
НЕК293	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	0,58 ± 0,03
НІН3Т3	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	0,31 ± 0,01
НаСаТ	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	0,78 ± 0,04

Примітки: похідне тiazолу БФ1 (N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід); полімери П3 полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ), П5 (поліПЕГМА475 контроль), П7 (полі(ПЕГМА-ко-ДММ)); комплекси Т4 (БФ1 + полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ), Т6 (БФ1 + поліПЕГМА475), Т8 (БФ1 + полі(ПЕГМА-ко-ДММ)). Клітини ліній: HL-60 промієлоцитарного лейкозу людини, НерG2 гепатокарциноми людини, С6 гліоми щура, MCF-7 і MDA-MB-231 аденокарциноми молочної залози людини, НЕК293 нирки ембріона людини, фібробласти НІН3Т3 миші, кератиноцити НаСаТ людини

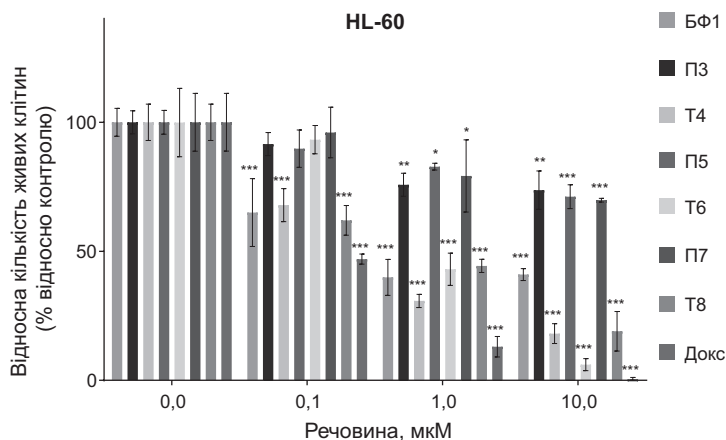


Рис. 2. Цитотоксична дія похідного тiazолу (БФ1), вільних полімерних носіїв полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ (П3), полі(ПЕГМА475) (П5), полі(ПЕГМА-ко-ДММ) (П7) та комплексів БФ1 з ПН (Т4, Т6, Т8), доксорубіцину (Докс) щодо клітин лінії HL-60 гострого промієлоцитарного лейкозу людини

Цитотоксичність речовини БФ1 щодо клітин лінії НерG2 гепатокарциноми людини була достовірно ($P \leq 0,05$) вищою ($IC_{50} = 0,77 \pm 0,04$ мкМ), ніж доксорубіцину ($IC_{50} = 0,91 \pm 0,05$ мкМ). Цитотоксичність комплексу Т4 була вищою, ніж доксорубіцину та вільного БФ1 ($IC_{50} = 0,62 \pm 0,02$ мкМ) щодо клітин лінії НерG2. Показник цитотоксичності (IC_{50}) комплексу Т8 становив $0,41 \pm 0,02$ мкМ, що свідчить про вищу токсичність даних комплексів порівняно з дією вільної

речовини БФ1 і доксорубіцину (рис. 3, таблиця). Вільні полімери П3 (полі(БЕП-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ) і П7 (полі(ПЕГМА-ко-ДММ)) проявили значно меншу токсичну дію ($IC_{50} > 10$ мкМ) щодо клітин лінії НерG2 гепатокарциноми людини, ніж БФ1, комплекси Т4, Т8 та доксорубіцин (рис. 3, таблиця). Натомість, комплекс Т6 був значно менш токсичними щодо клітин лінії НерG2. Показник IC_{50} комплексу Т6 був >10 мкМ (рис. 3, таблиця) [Фінюк та ін., 2021].

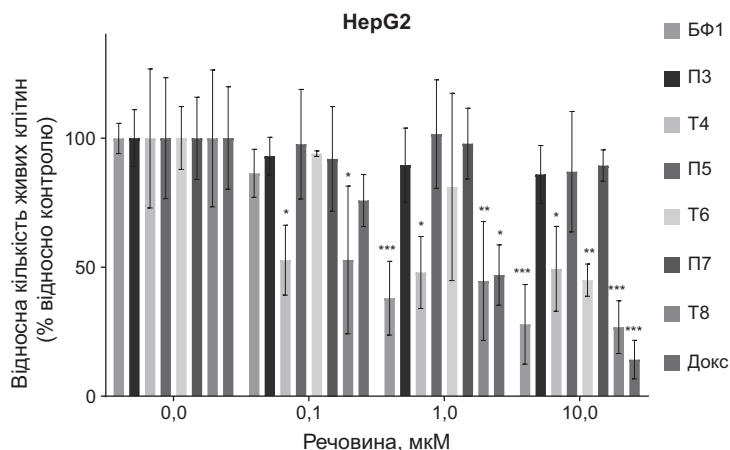


Рис. 3. Цитотоксична дія похідного тіазолу (БФ1), вільних полімерних носіїв полі(БЕП-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ (П3), полі(ПЕГМА475) (П5), полі(ПЕГМА-ко-ДММ) (П7) та комплексів БФ1 з ПН (Т4, Т6, Т8), доксорубіцину (Докс) щодо клітин лінії НерG2 гепатокарциноми людини

Встановлено, що токсичність похідного тіазолу БФ1 була рівновеликою цитотоксичності доксорубіцину ($IC_{50} = 2,10 \pm 0,14$ мкМ та $2,20 \pm 0,16$ мкМ, відповідно) щодо клітин С6 гліоми щура. Комплекси Т4 і Т8 проявили більш виражену токсичність щодо клітин лінії С6. Показник IC_{50} для комплексу Т4 становив $1,03 \pm 0,06$ мкМ (***) – $P < 0,001$ порівняно з речовиною БФ1), для комплексу Т8 $IC_{50} = 0,36 \pm 0,02$ мкМ (***) – $P < 0,001$ порівняно з речовиною БФ1) (рис. 4, таблиця). Комплекс Т6 проявив значно меншу токсичність щодо клітин С6 гліоми щура (рис. 4, таблиця). Так, токсичність доксорубіцину та БФ1 була у 3,6–3,7 разу вищою ніж токсичність Т6 (** – $P < 0,01$ порівняно з комплексом Т6), а стосовно комплексу Т8 – у 22 разів вищою ніж токсичність Т6 (***) – $P < 0,001$ порівняно з комплексом Т6) щодо клітин С6 гліоми щура [Фінюк та ін., 2021].

Встановлено, що клітини ліній MCF-7 і MDA-MB-231 аденокарциноми молочної залози людини були більш стійкими до дії БФ1 та його комплексів Т4, Т6, Т8, ніж доксорубіцин (рис. 5, таблиця). Усі комплекси були більш токсичними, ніж вільний БФ-1, для клітин лінії MDA231. Похідне тіазолу БФ1 досягав показника цитотоксичності IC_{50} в концентрації $26,5 \pm 2,9$ мкМ для клітин MDA-MB-231, тоді як IC_{50} для комплексу Т4 становив $8,9 \pm 0,7$ мкМ, для Т6 становив $6,2 \pm 0,5$ мкМ, для Т8 – $6,9 \pm 0,4$ мкМ. Полімер П3 полі(БЕП-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ), П5 (поліПЕГМА475 контроль) і П7 (полі(ПЕГМА-ко-ДММ)) не досягають рівня IC_{50} при 50 мкМ при дії на клітини лінії MDA-MB-231 (рис. 5, таблиця) [Finiuk et al., UBJ 2021].

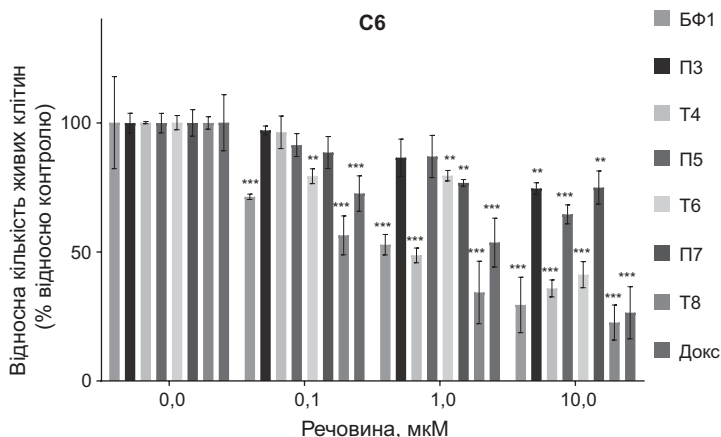


Рис. 4. Цитотоксична дія похідного тіазолу (БФ1), вільних полімерних носіїв полі(ВЕР-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ (ПЗ), полі(ПЕГМА475) (П5), полі(ПЕГМА-ко-ДММ) (П7) та комплексів БФ1 з ПН (Т4, Т6, Т8), доксорубіцину (Докс) щодо клітин лінії С6 гліоми щура

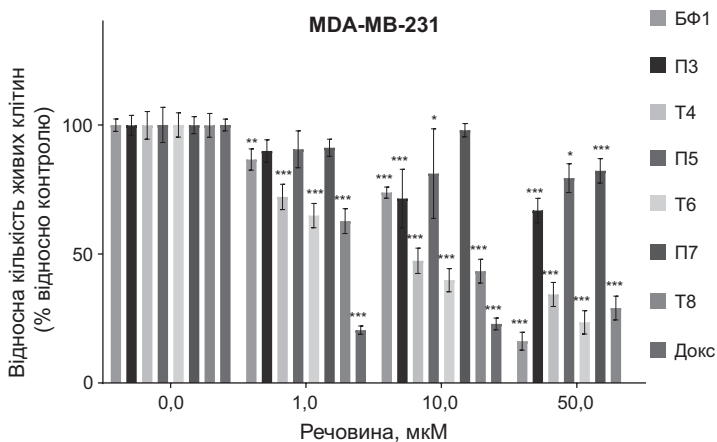


Рис. 5. Цитотоксична дія похідного тіазолу (БФ1), вільних полімерних носіїв полі(ВЕР-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ (ПЗ), полі(ПЕГМА475) (П5), полі(ПЕГМА-ко-ДММ) (П7) та комплексів БФ1 з ПН (Т4, Т6, Т8), доксорубіцину (Докс) щодо клітин лінії MDA-MB-231 аденокарциноми молочної залози людини

Показник IC_{50} БФ1 становив $15,8 \pm 0,9$ мкМ для клітин лінії MCF-7, тоді як IC_{50} для комплексу Т4 (БФ1 + полі(ВЕР-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ) становив $9,8 \pm 0,6$ мкМ, для Т6 (БФ1 + полі(ПЕГМА475)) становив $10,0 \pm 0,6$ мкМ, для Т8 (БФ1 + полі(ПЕГМА-ко-ДММ)) становив $9,6 \pm 0,8$ мкМ. Полімери ПЗ полі(ВЕР-ко-ГМА)-*графт*-мПЕГ, П5 (полі(ПЕГМА475) контроль) і П7 (полі(ПЕГМА-ко-ДММ)) не досягають рівня IC_{50} до 50 мкМ при дії на клітини лінії MCF-7 (рис. 6, таблиця). Показник цитотоксичності IC_{50} доксорубіцину становив $0,63 \pm 0,05$ мкМ для клітин лінії MDA-MB-231 та $0,62 \pm 0,04$ мкМ – для клітин лінії MCF-7 (рис. 5, 6).

Також досліджено дію сполук на псевдонормальні клітини ліній HEK293 (клітини нирки ембріона людини), NIH3T3 (фібробласти миші) та HaCaT (кера-

тиноцити людини). Встановлено, що клітини ліній НЕК293, НІНЗТЗ і НаСаТ були стійкими до дії похідного тіазолу БФ1 та його комплексів Т4, Т6, Т8 у концентрації до 50 мкМ, тоді як доксорубіцин виявив значну цитотоксичність ($IC_{50} = 0,58 \pm 0,03$ мкМ для клітин лінії НЕК293 і $IC_{50} = 0,31 \pm 0,01$ мкМ для клітин лінії НІНЗТЗ [Фінюк та співавт., Цит&Ген 2021], $IC_{50} = 0,78 \pm 0,04$ мкМ для клітин лінії НаСаТ (таблиця). Полімери П3, П5, П7 проявили незначну токсичність для клітин ліній НЕК293, НІНЗТЗ, НаСаТ (таблиця).

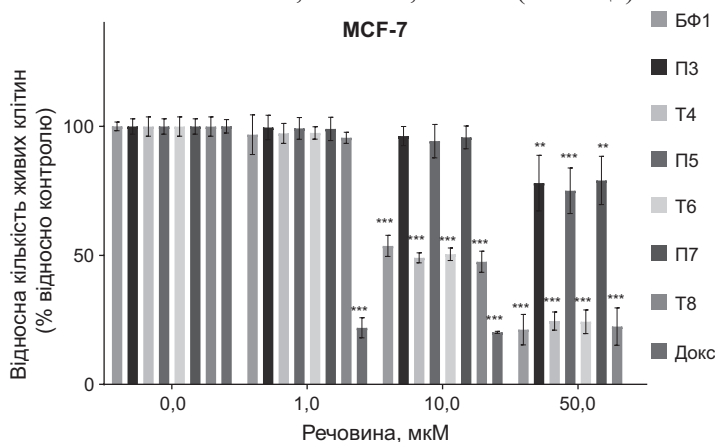


Рис. 6. Цитотоксична дія похідного тіазолу (БФ1), вільних полімерних носіїв полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-мПЕГ (П3), полі(ПЕГМА475) (П5), полі(ПЕГМА-ко-ДММ) (П7) та комплексів БФ1 з ПН (Т4, Т6, Т8), доксорубіцину (Докс) щодо клітин MCF-7 аденокарциноми молочної залози людини

Досліджувані комплекси БФ1 із полімерними носіями вибірково інгібують ріст пухлинних клітин пухлин тканинного походження. Комплекси Т4 і Т8 були найбільш токсичними для клітин ліній НерG2 гепатокарциноми людини, С6 гліоми щура, клітин ліній MCF-7 і MDA-MB-231 аденокарциноми молочної залози людини. Комплекс Т6 проявив високу токсичність щодо клітин лінії HL-60 промієлоцитарного лейкозу людини. Комплекси Т4, Т6, Т8 виявили вищу активність пригнічення росту пухлинних клітин ліній MDA-MB-231 і MCF-7. Цитотоксична дія комплексу Т4 на клітини С6 гліоми щура була приблизно удвічі ($P < 0,001$) вищою порівняно з дією вільного БФ1, а комплексу Т8 – вищою у шість разів ($P < 0,001$). Цитотоксична дія комплексів БФ1 з полімерами була приблизно в 4 рази ($P < 0,001$) вищою порівняно з дією вільного БФ1 на клітини MDA-MB-231 та приблизно в 1,6 разу ($P < 0,001$) вищою порівняно з дією БФ1 на клітини лінії MCF-7. Отже, комплекс Т4, створений на основі полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-мПЕГ, комплекс Т6 на основі полі(ПЕГМА475) і комплекс Т8 на основі полі(ПЕГМА-ко-ДММ) вибірково підвищують токсичну дію похідного тіазолу БФ1 щодо пухлинних клітин.

Паюк ОЛ, Мітіна НС, Рябцева АО, та ін. Структура та колоїдно-хімічні властивості полімерних поверхнево-активних речовин на основі поліетиленгліколь-вмісних макромерів. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii* [Інтернет]. 2018;6:63–71. Доступно на:

- <http://chrome-extension://oemmnadbldboiebfnladdacbfmadadm/http://oaji.net/articles/2019/1954-1546426935.pdf>
- Фінюк НС, Попович МВ, Шалай ЯР, та ін. Антинеопластична активність *in vitro* похідного 2-аміно-5-бензилтіазолу в комплексі з нанорозмірними полімерними носіями. Цитологія і генетика [Інтернет]. 2021;55(1):23–32. Доступно на: <https://cytgen.com/ru/2021/23-32N1V55.htm>
- Avramović N, Mandić B, Savić-Radojević A, Simić T. Polymeric nanocarriers of drug delivery systems in cancer therapy. *Pharmaceutics* [Internet]. MDPI AG; 2020 Mar 25;12(4):298. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics12040298>
- Çırpanlı Y, Allard E, Passirani C, Bilensoy E, Lemaire L, Çalış S, et al. Antitumoral activity of camptothecin-loaded nanoparticles in 9L rat glioma model. *International Journal of Pharmaceutics* [Internet]. Elsevier BV; 2011 Jan;403(1-2):201–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.10.015>
- Fathi M, Barar J. Perspective highlights on biodegradable polymeric nanosystems for targeted therapy of solid tumors. *BioImpacts* [Internet]. Maad Rayan Publishing Company; 2017 Feb 20;7(1):49–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.15171/bi.2017.07>
- Francuskiewicz F. *Polymer Fractionation*. Berlin: Springer; 1994.
- Finiuk NS, Hreniuh VP, Ostapiuk YV, Matiyehuk 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, Klyuchivska OY, Ivasechko II, Mitina NE, Ostapiuk YV, 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>
- 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>
- Garay RP, El-Gewely R, Armstrong JK, Garratty G, Richette P. Antibodies against polyethylene glycol in healthy subjects and in patients treated with PEG-conjugated agents. *Expert Opinion on Drug Delivery* [Internet]. Informa Healthcare; 2012 Aug 30;9(11):1319–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2012.720969>
- Gref R, Lück M, Quellec P, Marchand M, Dellacherie E, Harnisch S, et al. “Stealth” corona-core nanoparticles surface modified by polyethylene glycol (PEG): influences of the corona (PEG chain length and surface density) and of the core composition on phagocytic uptake and plasma protein adsorption. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [Internet]. Elsevier BV; 2000 Oct;18(3-4):301–13. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0927-7765\(99\)00156-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-7765(99)00156-3)
- Gulati NM, Stewart PL, Steinmetz NF. Bioinspired shielding strategies for nanoparticle drug delivery applications. *Molecular Pharmaceutics* [Internet]. American Chemical Society (ACS); 2018 May 7;15(8):2900–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00292>
- Hoang Thi TT, Pilkington EH, Nguyen DH, Lee JS, Park KD, Truong NP. The importance of poly(ethylene glycol) alternatives for overcoming PEG immunogenicity in drug delivery and bioconjugation. *Polymers* [Internet]. MDPI AG; 2020 Feb 2;12(2):298. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/polym12020298>

- Hong G, Yuan R, Liang B, Shen J, Yang X, Shuai X. Folate-functionalized polymeric micelle as hepatic carcinoma-targeted, MRI-ultrasensitive delivery system of antitumor drugs. *Biomedical Microdevices* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2008 Mar 19;10(5):693–700. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10544-008-9180-9>
- Hu J, Fu S, Peng Q, Han Y, Xie J, Zan N, et al. Paclitaxel-loaded polymeric nanoparticles combined with chronomodulated chemotherapy on lung cancer: *In vitro* and *in vivo* evaluation. *International Journal of Pharmaceutics* [Internet]. Elsevier BV; 2017 Jan;516(1-2):313–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.11.047>
- Кноп K, Hoogenboom R, Fischer D, Schubert US. Poly(ethylene glycol) in drug delivery: pros and cons as well as potential alternatives. *Angewandte Chemie International Edition* [Internet]. Wiley; 2010 Jul 20;49(36):6288–308. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200902672>
- Kobylinska L, Ivasechko I, Skorokhyd N, Panchuk R, Riabtseva A, Mitina N, et al. Enhanced proapoptotic effects of water dispersed complexes of 4-thiazolidinone-based chemotherapeutics with a PEG-containing polymeric nanocarrier. *Nanoscale Research Letters* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2019 Apr 23;14(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s11671-019-2945-7>
- Kobylinska L, Patereha I, Finiuk N, Mitina N, Riabtseva A, Kotsyumbas I, et al. Comb-like PEG-containing polymeric composition as low toxic drug nanocarrier. *Cancer Nanotechnology* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2018 Dec;9(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12645-018-0045-5>
- 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>
- Matsumura Y. Polymeric micellar delivery systems in oncology. *Japanese Journal of Clinical Oncology* [Internet]. Oxford University Press (OUP); 2008 Oct 19;38(12):793–802. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/jjco/hyn116>
- Mitina NY, Riabtseva AO, Garamus VM, Lesyk RB, Volyanyuk KA, Izhyk OM, et al. Morphology of the Micelles Formed by a Comb-Like PEG-Containing Copolymer Loaded with Antitumor Substances with Different Water Solubilities. *Ukrainian Journal of Physics* [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2020 Jul 30;65(8):670. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ujpe65.8.670>
- 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>
- Pasut G, Paolino D, Celia C, Mero A, Joseph AS, Wolfram J, et al. Polyethylene glycol (PEG)-dendron phospholipids as innovative constructs for the preparation of super stealth liposomes for anticancer therapy. *Journal of Controlled Release* [Internet]. Elsevier BV; 2015 Feb;199:106–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.12.008>
- Plummer R, Wilson RH, Calvert H, Boddy AV, Griffin M, Sludden J, et al. A Phase I clinical study of cisplatin-incorporated polymeric micelles (NC-6004) in patients with solid tumours. *British Journal of Cancer* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2011 Feb;104(4):593–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2011.6>
- Sanchez-Cano C, Carril M. Recent developments in the design of non-biofouling coatings for nanoparticles and surfaces. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. MDPI AG; 2020 Feb 3;21(3):1007. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21031007>

- Senapati S, Mahanta AK, Kumar S, Maiti P. Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal Transduction and Targeted Therapy* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2018 Mar 16;3(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-017-0004-3>
- Shafiei-Irannejad V, Samadi N, Salehi R, Yousefi B, Rahimi M, Akbarzadeh A, et al. Reversion of multidrug resistance by co-encapsulation of doxorubicin and metformin in poly(lactide-co-glycolide)-D- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate nanoparticles. *Pharmaceutical Research* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2018 Apr 18;35(6). Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-018-2404-7>
- Suk JS, Xu Q, Kim N, Hanes J, Ensign LM. PEGylation as a strategy for improving nanoparticle-based drug and gene delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* [Internet]. Elsevier BV; 2016 Apr;99:28–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2015.09.012>
- Thomas OS, Weber W. Overcoming physiological barriers to nanoparticle delivery – are we there yet? *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* [Internet]. Frontiers Media SA; 2019 Dec 17;7. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fbioe.2019.00415>
- Tran S, DeGiovanni P, Piel B, Rai P. Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. *Clinical and Translational Medicine* [Internet]. Wiley; 2017 Dec;6(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40169-017-0175-0>
- Voronov SA, Kiselyov EM, Minko SS, et al. Structure and reactivity of peroxide monomers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* [Internet]. Wiley; 1996 Sep 15;34(12):2507–11. Available from: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0518\(19960915\)34:12<2507::AID-POLA24>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0518(19960915)34:12<2507::AID-POLA24>3.0.CO;2-B)
- Gao X, Luo, Wang, Li, Zhang, Qian, et al. Codelivery of curcumin and doxorubicin by MPEG-PCL results in improved efficacy of systemically administered chemotherapy in mice with lung cancer. *International Journal of Nanomedicine* [Internet]. Informa UK Limited; 2013 Sep;3521. Available from: <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s45250>
- 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>
- Wen X, Wu QP, Ke S, et al. Conjugation with ^{111}In -DTPA-poly(ethylene glycol) improves imaging of anti-EGF receptor antibody C225. *Journal of Nuclear Medicine* [Internet]. 2001 Oct;42(10):1530–37. Available from: <https://jnm.snmjournals.org/content/42/10/1530.long>
- Wilson RH, Plummer R, Adam J, Eatock MM, Boddy AV, Griffin M, et al. Phase I and pharmacokinetic study of NC-6004, a new platinum entity of cisplatin-conjugated polymer forming micelles. *Journal of Clinical Oncology* [Internet]. American Society of Clinical Oncology (ASCO); 2008 May 20;26(15_suppl):2573–2573. Available from: http://dx.doi.org/10.1200/jco.2008.26.15_suppl.2573
- Yao Q, Choi JH, Dai Z, Wang J, Kim D, Tang X, et al. Improving Tumor Specificity and Anticancer Activity of Dasatinib by Dual-Targeted Polymeric Micelles. *ACS Applied Materials & Interfaces* [Internet]. American Chemical Society (ACS); 2017 Oct 10;9(42):36642–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/acsami.7b12233>
- Yuan JD, ZhuGe DL, Tong MQ, et al. pH-sensitive polymeric nanoparticles of mPEG-PLGA-PGlu with hybrid core for simultaneous encapsulation of curcumin and doxorubicin to kill the heterogeneous tumour cells in breast cancer. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* [Internet]. 2018 June 19;46:302–13. Available from: <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1423495>

Я. Р. Шалай, С. М. Мандзинець, М. В. Попович,
В. П. Гренюх, О. Р. Кулачковський, А. М. Бабський

ВПЛИВ ПОХІДНОГО ТІАЗОЛУ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛІТИН ЛІМФОМИ НЕМЕТ–КЕЛНЕРА

Ультраструктура клітини відображає її фізіологічний стан. За допомогою електронно-мікроскопічних досліджень можна виявити вплив пошкоджуючих чинників на різні структурно компоненти клітини [Зинь та ін., 2014; Takahashi *et al.*, 2021]. Електронна мікроскопія поряд з дослідженням структури можливість встановити причинно-наслідкові зв'язки між різними патологічними станами та ультраструктурними змінами в клітині [Mandzynets *et al.*, 2011; Tizro *et al.*, 2018].

Електронно-мікроскопічні препарати клітин лімфоми NK/Ly були приготовлені за стандартною методикою описаною раніше [Kaminsky *et al.*, 2008] і сфотографовані за допомогою трансмісійного електронного мікроскопу PEM100 (Electron-SELMІ, Україна) [Shalai *et al.*, 2019]. Похідні тiazолу N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід (БФ1) і 7-бензил-8-метил-2-пропілпіразоло[4,3-е]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-он (ПП2) були синтезовані і люб'язно надано співробітниками кафедри органічної хімії ЛНУ імені Івана Франка (завідувач - професор М.Д. Обушак).

Якісний аналіз електронних зображень контрольних клітин лімфоми NK/Ly виявив наявність головних клітинних органел (рис. 1). Ядра (1) мають овальну форму та займають більшу площу клітини, з одним або кількома ядерець (3) різної форми. Площа цитоплазми (2) становить приблизно 20–30 % від площі всієї клітини. Дане співвідношення площі ядра до цитоплазми (Я/Ц) є характерним для пухлинних клітин з інтенсивними проліферативними та синтетичними процесами. На рисунку також добре видно різного розміру та форми мітохондрії (4) та лізосоми (5) з електронно щільним матриксом. На плазматичних мембранах лімфоми добре помітні вип'ячування ниткоподібної форми (6) (рис.1)

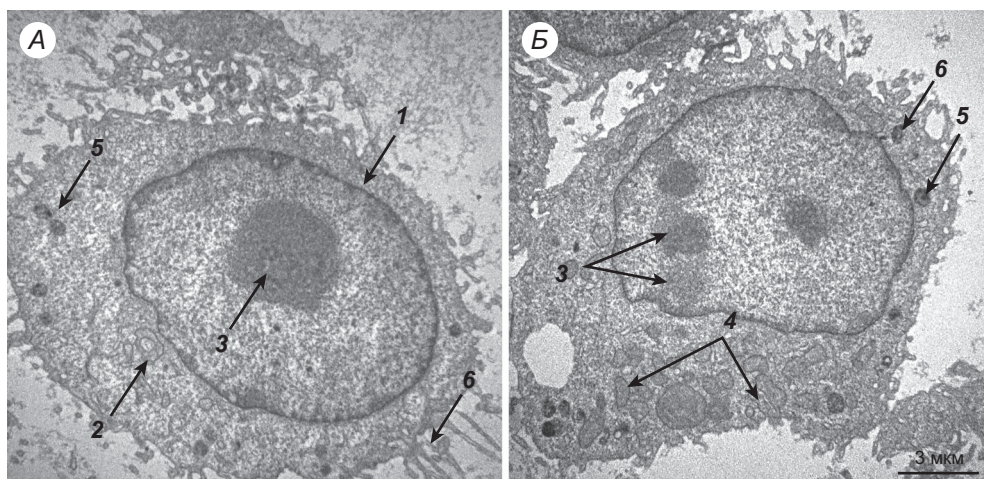


Рис. 1. Електронні мікрофотографії контрольних клітин ліфноми NK/Ly. Стрілками показано: 1 – ядро, 2 – цитоплазма, 3 – ядерце, 4 – мітохондрії, 5 – лізосоми, 6 – вип'ячування плазматичної мембрани

Встановлено, що після 10-хвилинної інкубації ракових клітин з БФ-1 у концентраціях 10 і 50 мкМ були виявлені деструктивні зміни клітин ліфноми переважно апоптичного типу. Зокрема, клітини зменшувалися (*shrinkage*) і втрачали свою еліптичну форму. Спостерігали також деформацію ядра, зменшення його розмірів (А1, Б1, Г1), руйнування плазматичної мембрани (А7, В7, Г7), набухання крист мітохондрій (Б4) (рис. 2).

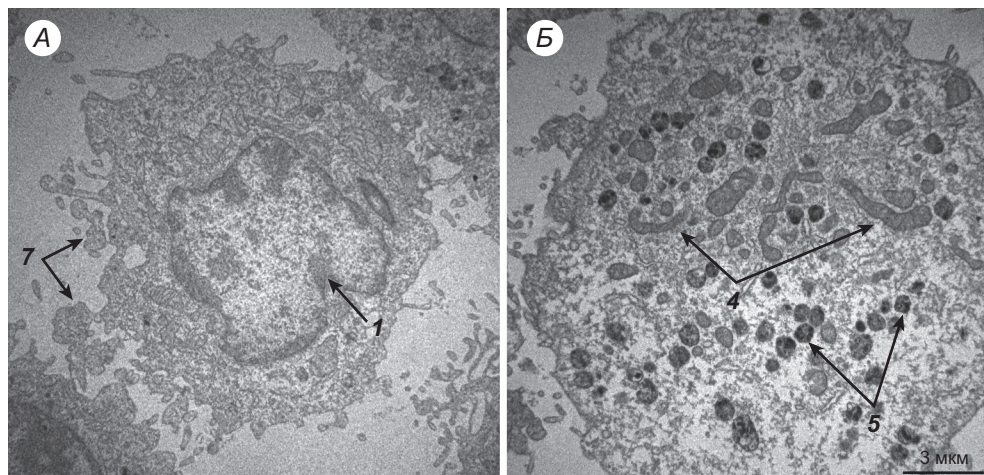


Рис. 2. Електронні мікрофотографії клітин ліфноми NK/Ly за дії БФ1 у концентрації 10 і 50 мкМ. Стрілками показано: 7 – руйнування плазматичної мембрани. Інші пояснення див. у рисунку 1

За дії ПП2 у концентрації 10 мкМ і тривалості інкубації 10 хв також виявлено пошкодження морфологічної структури клітин (рис. 2). Вони зменшувались і втрачали еліптичну форми (А), а їхні ядра деформувались (Б, В). За дії

ПП2 у клітинах лімфоми збільшувалась кількість лізосом. Кількість мітохондрій майже не змінювалась порівняно з контролем, але змінювалась їх форма. За дії ПП2 у вищій концентрації (50 мкМ) виявлено порушення структури клітин як апоптичного, так і некротичного типу. Зокрема спостерігали апоптичне зменшення розміру клітин, деформацію і редукцію клітинного ядра, збільшення кількості вип'ячування плазматичної мембрани (*blebbing*), а той і зникнення ("розчинення") плазматичної мембрани. З іншого боку, некротичні клітини набухають, у них немає ядра, кристи мітохондрій втрачають паралельне розташування і також набухають, а деякі клітини лімфоми зазнають фагоцитозу здорового лімфоцита (рис. 3).

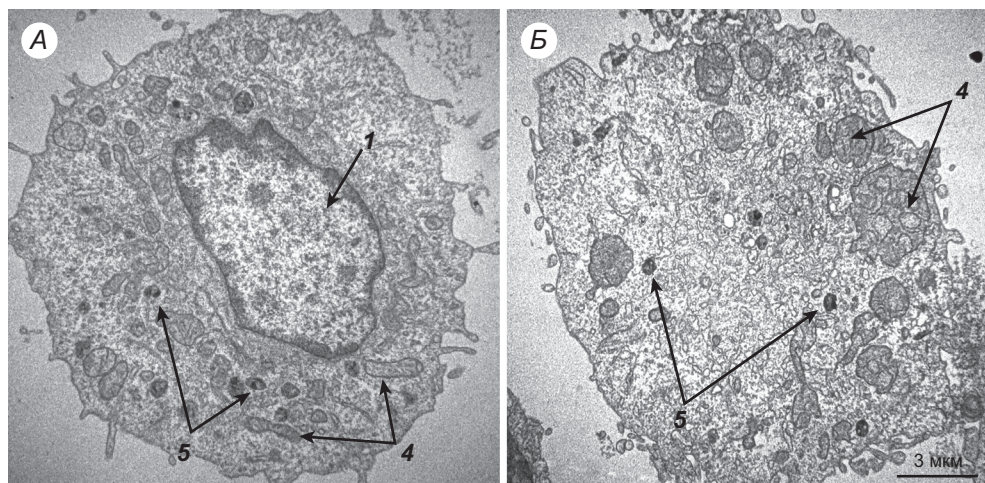


Рис. 3. Електронні мікрофотографії клітин лімфоми NK/Ly за дії ПП2 у концентрації 10 і 50 мкМ. Інші пояснення див. у рисунку 1

На підставі якісного аналізу електронно-мікроскопічних фотографій встановлено, що БФ1 та ПП2 призводять до таких проявів цитотоксичності як фрагментація і дезінтеграція ядра клітин лімфоми, руйнування плазматичної мембрани, набухання крист мітохондрій, апоптоз, некроз та ін.

Результати кількісного аналізу електронних фотографій клітин лімфоми представлено у Таблиці. Встановлено, що співвідношення Я/Ц контрольних клітин лімфоми NK/Ly становило 0,69 умовних одиниць (у. о.). За дії досліджуваних речовин у концентраціях 10 мкМ і 50 мкМ спостерігали тенденцію до зниження цього показника, проте такі зміни не були підтверджені статистично. За дії БФ1 у концентрації 10 та 50 мкМ достовірно збільшувалася кількість (на 40% і 100% відповідно, $*P < 0,05$) та площа лізосом (на 27% і 53% відповідно, $*P < 0,05$, $**P < 0,01$). За дії ПП2 у концентрації 10 та 50 мкМ також спостерігали збільшення площі лізосом (на 34% та 58% відповідно, $*P < 0,05$, $**P < 0,01$). Кількість лізосом збільшувалася за дії ПП2 лише у концентрації 50 мкМ (на 72%, $*P < 0,05$). За дії досліджуваних похідних тіазолу не спостерігали достовірних змін площі мітохондрій, однак речовина ПП2 у концентрації 50 мкМ достовірно збільшувала кількість цих органел на 47% ($*P < 0,05$).

Кількісний аналіз електронної мікроскопії контрольних клітин лімфоми та за дії похідних тіазолу БФ1 та ПП2

№	Показник	Контроль	БФ1		ПП2	
			10 мкм	50 мкм	10 мкм	50 мкм
1	Я/Ц (у. о.)	0,69	0,61	0,53	0,56	0,51
2	Площа лізосом (%)	100±11,2	127±7,2*	153±12,7**	134±8,1*	158±13,6**
3	Кількість лізосом (на клітину)	11±2	18±3*	22±4**	16±3	19±4*
4	Площа мітохондрії (%)	100±8,6	110±7,2	94±3,9	105±3,5	109±4,1
5	Кількість мітохондрій (на клітину)	17±4	19±2	21±3	22±3	25±4*
	Примітки	Велике ядро займає 70% клітини	Клітина і ядро втрачають еліптичну форму		Деформація і деструкція ядра, збільшення кількості лізосом	

Отже, похідні тіазолу зумовлюють порушення ультраструктури клітин лімфоми NK/Ly та достовірно змінюють кількісні показники, зокрема збільшується кількість і площа лізосом, що свідчить про активацію деструктивних щодо ракових клітин процесів.

- Зинь А, Безкоровайний А, Гарасим Н, Кулачковський О, Санагурський Д. Морфологічні й ультраструктурні зміни у зародках в'юна впродовж ембріогенезу та за дії гіпохлориту натрію. Вісник Львівського університету. Серія біологічна [Інтернет]. 2014; 67: 18–28. Доступно на: <http://publications.lnu.edu.ua/bulletins/index.php/biology/article/view/4652>
- Mandzynets SM, Kulachkovskii OR, Bura MV. Effect of avermectin on the ultrastructural characteristics of loach embryos. Cytology and Genetics [Internet]. Allerton Press; 2011 Oct;45(5):318–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.3103/s0095452711050070>
- Shalai YR, Popovych MV, Kulachkovskyy OR, Hreniukh VP, Mandzynets SM, et al. Effect of novel 2-amino-5-benzylthiazole derivative on cellular ultrastructure and activity of antioxidant system in murine lymphoma cells. Studia Biologica [Internet]. Ivan Franko National University of Lviv; 2019;13(1):51–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1301.591>
- Kaminskyy V., Kulachkovskyy O., Stoika R. A decisive role of mitochondria in defining rate and intensity of apoptosis induction by different alkaloids. 2008; Toxicol Lett., 2008; 177(3):168–81.
- Takahashi N, Aoyama F, Sawaguchi A. Three-dimensional culture of a pancreatic cancer cell line, SUIT-58, with air exposure can reflect the intrinsic features of the original tumor through electron microscopy. Microscopy [Internet]. Oxford University Press (OUP); 2020 Aug 11;70(2):192–200. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/jmicro/dfaa046>
- Tizro P, Choi C, Khanlou N. Sample Preparation for Transmission Electron Microscopy. Biobanking [Internet]. Springer New York; 2018 Dec 12;417–24. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_33

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОХІДНИХ 4-ТІАЗОЛІДИНОНУ Й АНАЛІЗ ЇХНЬОЇ ПРОТИПУХЛИННОЇ АКТИВНОСТІ

У процесі пошуку нових ліків дедалі більшою популярністю користуються гетероциклічні сульфур- та нітрогенвмісні сполуки, які легко модифікуються за допомогою органічного синтезу. Новітні похідні 4-тіазолідинону привертають до себе увагу як перспективні сполуки з високою фармакологічною активністю, низькою загальною токсичністю, можливістю хімічної модифікації молекул та широким спектром біологічної активності [Зіменковський та ін., 2004; Lesyk 2020; Taha et al., 2020; Verma et al., 2008]. Тому 4-тіазолідини та споріднені гетероцикли інтенсивно досліджують для конструювання нових молекул і розробки активних фармацевтичних інгредієнтів [Nigwan et al., 2019]. Фармакофор-гібридний підхід є ефективним під час створення оригінальних молекул завдяки поєднанню різних хімічних заміників, що передбачає поєднання в одній молекулі різних фрагментів, які можуть бути частинами, біоміметиками та/або біоізостерами активних фармацевтичних інгредієнтів [Devinyak et al., 2014; Taha et al., 2020]. Це дає змогу посилити ефективність діючої речовини або зумовлює появу нових ефектів. Унікальною особливістю цих гетероциклічних сульфур- та нітрогенвмісних сполук є те, що до їхньої базової структури можна легко додавати нові активні групи, які змінюють біологічні властивості цих сполук. Більшість біологічно активних форм 4-тіазолідинону належать до похідних 5-ілідену (5-ену), який відіграє вирішальну роль у фармакологічній дії [Nigwan et al., 2019]. Однією з модифікацій цих гетероциклів є приєднання індолінового фрагменту до тіазолідинового ядра. Сам ізатин (1H-індол-2,3-діон) також має протипухлинну активність, але для покращення фармакологічних властивостей проведено галогенування окремих сполук у 5-му положенні ізатину. Кон'югація 5-ен-фрагмента до карбонільної групи в положенні C4 ядра тіазолідинону робить сполуки електрофільними і потенційно реакційноздатними [Asati et al., 2014; Taha et al., 2020]. Більше того, 5-ен-4-тіазолідини забезпечують спорідненість до білків-рецепторів, оскільки акцептори Міхаеля

є одними з найефективніших активаторів Nrf2 через модифікацію Keap1, що відкриває нові перспективи у створенні інноваційних протипухлинних молекул [Narale et al., 2016; Nirwan et al., 2019]. Використання тiazолідинону (роданін, 2,4-тіазолідинон, гідантоїн) та ізатину (1H-індол-2,3-діон) дає змогу створити низку молекул з високою біологічною активністю [Kaminsky et al., 2011; Lesyk, 2020]. Синтез неконденсованих похідних способом поєднання тiazолідинону з іншими гетероциклами, зокрема, піразоліновим [Shaaban et al., 2012] та індоліновим [Mokhtari et al., 2012; Vine et al., 2009], є перспективним напрямком створення протипухлинних діючих речовин на основі тiazолідинону. Отже, було ідентифіковано низку активних сполук тiazолідино-піразолінів і піразоліно-індолів з високою антинеопластичною дією *in vitro* [Havrylyuk et al., 2012, 2016; Lesyk, 2020]. Зокрема виявлено, що поєднання біологічно активних молекул з різними механізмами дії часто демонструють синергічні ефекти [Havrylyuk et al., 2012, 2016; Lesyk et al., 2004; Lesyk, 2020]. Ще однією з таких модифікацій є приєднання індолінового фрагменту до тiazолідинового ядра. Сам ізатин (1H-індол-2,3-діон) має протипухлинну активність, але для її посилення додатково було проведено галогенування у 5-му положенні [Havrylyuk et al., 2012].

Поєднання різних біоактивних фрагментів із комплементарними фармакоформними функціями часто є передумовою для прицільного створення ліганду та потенційної селективності для біологічних мішеней [Зіменковський та ін., 2004; Havrylyuk et al., 2012; Lesyk, 2020; Martínez et al., 2020]. Доведено, що структура бічних груп похідних 4-тіазолідинону може впливати на механізми активації сигнальних шляхів апоптозу, індукованого цими сполуками у пухлинних клітинах [Чумак та ін. 2014; Panchuk et al., 2012]. Отже, серед неконденсованих похідних 4-тіазолідинону значна увага привертається до кон'югатів піразолін-тіазолідинон-ізатин завдяки їхній високій протипухлинній активності. Виявлено, що 5-ен-4-тіазолідинони можуть діяти як: 1) інгібітори антиапоптичних протеїно-протеїнових взаємодій між Bcl-2 та родиною Bax, а також як інгібітори їх взаємодії з доменами рецепторів; 2) інгібітори JSP-1 "атипових" представників родини подвійних специфічних фосфатаз (JNK-стимулююча фосфатаза-1); 3) інгібітори ЦОГ через їх потенційну протиракову активність; 4) інгібітори інсуліноподібного рецептора фактора росту-1; 5) селективні інгібітори позаклітинних сигнальних регульованих кіназ-1 та 2 (ERK $\frac{1}{2}$); 6) модулятори естрогенпов'язаного рецептора-а (ERR-a); 7) інгібітори Pim-1 та Pim-2; 8) інгібітори CDK1 та CDK1/циклін B; 9) інгібітори полоподібної кінази 1 (Plk1); 10) агенти з інгібіторною дією HP-2 (SHP-2, нерцепторний білок-тирозинфосфатаза, який опосередковує клітинну сигналізацію через фактори росту та цитокіни, що діють через кіназний шлях RAS/MAP; 11) інгібітори фактора некрозу пухлини (TNF α); 12) інгібітори рецепторів інтегрину $\alpha v \beta 3$, тощо [Assi, 2017; Nirwan et al., 2019; Shaaban et al., 2012; Thornton et al., 2015; Zou et al., 2019].

Апоптоз, індукований 4-тіазолідинонами, був продемонстрований на різних лініях пухлинних клітин [Kobylynska et al., 2016, 2019]. Індукція апоптозу 4-тіазолідинонами може бути реалізована через інгібування PARP-, MAPK-,

JNK-, Bcl-2-, CDK1/циклін В чи бути залежною від родини каспаз [Nirwan et al., 2019]. Механізм запуску апоптозу пов'язаний головню з пригніченням функції Bcl-2/Bcl-XL, хоча були описані інші ефекти 5-ен-4-тіазолідинону на апоптотичний сигнальний шлях, опосередкований мітохондріями [Lesyk, 2020; Verma et al., 2008]. Гомодимеризований Вах діє на аніонний канал, локалізований у зовнішній мембрані мітохондрій, що призводить до вивільнення цитохрому с, який активує каскад каспаз [Deshmukh et al., 2016]. Відомо, 4-тіазолідинони також знижують потенціал мітохондріальної мембрани у лейкоцитних клітинах, що є одним з найважливіших механізмів опосередкованої мітохондріями апоптотичної загибелі клітин [Зіменковський та ін., 2004]. Подібні дані були отримані за дії похідних 2-гетериламіно-4-тіазолідинону, які спричиняли роз'єднання дихання і фосфорилування мітохондрій, а також окисно-відновні зміни у клітинах HT29, у фазах суб-G0/G1 та G2/M клітинного циклу [El-Taher et al., 2017].

Більшість пухлин розвивають мультирезистентність клітин до протипухлинних препаратів, яка часто пов'язана із надмірною експресією глікопротеїну мембранної проникності (P-gp) [Amawi et al., 2019; Cao et al., 2019; Li et al., 2016]. За даними деяких авторів, 4-тіазолідинони (наприклад, 5-[(4-метилфеніл)метиле]-2-(феніламіно)-4(5Н)-тіазолон і 5-(2,4-дигідроксибензилден)-2-(феніліміно)-1,3-тіазолідин-4-он) інгібують ріст стійких до протипухлинних ліків клітин недрібноклітинного раку легень і товстої кишки людини, незалежно від статусу P-gp та p53 та індукують апоптоз [Martínez et al., 2020]. З літератури відомо, що протипухлинний ефект 5-ен-4-тіазолідинону також може бути досягнутий за допомогою зворотного блокування прогресування клітинного циклу на межі фаз G2/M клітинного циклу, що призводить до індукції апоптозу [Nirwan et al., 2019].

Моніторингом цитотоксичної дії потенційних лікарських засобів у світі масштабю займаються у Національному інституті раку (США). Проте таке тестування не передбачає вивчення молекулярних механізмів дії біологічно-активних сполук, без знання яких неможливо визначити молекулярні мішені дії та обґрунтувати схеми хіміотерапії. Саме тому, молекулярні механізми дії похідних 4-тіазолідинону залишаються не з'ясованими.

Ще однією перешкодою до застосування похідних 4-тіазолідинону є те, що більшість синтезованих сполук мають низьку водорозчинність і високу ліпофільність. Низька водорозчинність властива багатьом оригінальним протипухлинним субстанціям, що перешкоджає їх подальшому застосуванню [Mankar et al., 2018; Narvekar et al., 2014; Savjani et al., 2012]. На сьогодні ці малорозчинні протипухлинні сполуки солубілізуються за допомогою високих концентрацій поверхнево-активних речовин і розчинників, які спричиняють виникнення побічних реакцій [Narvekar et al., 2014; Savjani et al., 2012; Tian et al., 2012]. Тому розробка інноваційних протипухлинних субстанцій із низькою токсичністю на сьогоднішньому етапі залишається актуальною.

Розуміння молекулярних механізмів сполук, які спричиняють апоптоз, як механізми уникнення апоптотичної смерті пухлинними клітинами, є ключовими за оцінки чутливості до терапії пухлин [Dasgupta et al., 2020; Elmore, 2007; Gong et al., 2018]. Молекулярні механізми відіграють вирішальну роль в індукованому протипухлинними лікарськими засобами апоптозі і випадках, коли злоякісні клітини ухиляються від апоптотичної смерті. Власне молекулярні підходи є ключовими для раціональнішого відбору за синтезу нових протипухлинних субстанцій.

Для наукових гіпотез щодо можливого механізму протипухлинної активності високоактивних похідних 4-тіазолідинонів сьогодні застосовують комплекс *in silico* підходів, серед яких *COMPARE*-аналіз, *QSAR*-аналіз та молекулярний докінг. За допомогою цих методів можна оцінити вибірковість цитотоксичної дії сполуки та її подібність до відомих протипухлинних засобів, активних синтетичних і природних сполук з бази даних Національного інституту раку в США [Boyd, Paull, 1995]. Такий аналіз ґрунтується на порівнянні параметрів диференційного інгібування росту культивованих ліній пухлинних клітин з різними цитотоксичними агентами і може опосередковано свідчити про можливий механізм їх цитотоксичної дії. За достатньої кореляції (коефіцієнт кореляції Пірсона (PCC) > 0,6) досліджувана сполука з високою ймовірністю може мати такий самий механізм дії, як і стандартний засіб. За відсутності кореляції сполука може володіти новим/іншим механізмом дії. Бази даних Національного інституту раку і Бази даних білків (Protein Data Bank) за результатами скринінгу на клітинних лініях і визначення молекулярних мішеней речовин дозволяють визначити можливий протипухлинний механізм сполук [Devinyak et al., 2014]. Для вивчення обирають ензими, які беруть участь у механізмах протипухлинної дії.

За даними Національного інституту раку досліджувана сполука Les-3833 (5-бромо-3-{2-[5-(4-метоксифеніл)-3-нафтален-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4,5-дигідро-1,3-тіазол-5-іліден}-2,3-дигідро-1*H*-індол-2-он) – це біфункціональна молекула з мембранозв'язувальним доменом та інгібуючою активністю цитозольної АТФ-ази p97/VCP, яка виявляє свій механізм дії через ендоплазматичний ретикулум, GP = -36,64 [Wang et al., 2009]. Молекулярний докінг аналіз підтвердив значну афінність сполуки Les-3833 з інгібітором мітоген-активованої протеїнкінази і топоізомерази II, CheckPoint кіназ 1 і 2, серин/треонінпротеїнкінази, а також каспази-6 і каспази 8 [Kobylińska et al., 2021].

Методи молекулярного докінгу *in silico* дозволяють визначити потенційні молекулярні мішені для новітніх молекул і просторово візуалізувати механізми взаємодії протипухлинних сполук із клітинними ензимами. Для вивчення були обрані найімовірніші мішені дії похідних 4-тіазолідинону, зокрема, тирозинкіназа, CheckPoint кінази, серин/треонінпротеїнкіназа, мітоген-активована протеїнкіназа і родина каспаз, які відіграють важливу роль в апоптотичних процесах у клітині. На підставі результатів докінгових досліджень, встановлено, що сполука Les-3833 потенційно утворює два водневих зв'язки в активному центрі

CheckPoint кінази-1 – між NH-групою ізатину і СО-групою 85-го глутаміну В-ланцюга ензиму (довжина зв'язку – 1,863 Å, енергія зв'язку – 7,605 кДж/моль) і між СО-групою ізатину і NH-групою 87-го цистеїну В-ланцюга ензиму (довжина зв'язку – 1,792 Å, енергія зв'язку – 7,659 кДж/моль) (рис. 2). Окрім цього, виникають гідрофобні взаємодії сполуки Les-3833 з амінокислотами валіном 23^м і 90^м глутаміном у В-ланцюзі ензиму CheckPoint кінази-1 (рис. 1). Результати молекулярного докінгу *in silico* підтверджені даними імуноблот аналізу Chk-1 за дії сполук Les-3288 і Les-3833 [Kobylynska et al., 2021].

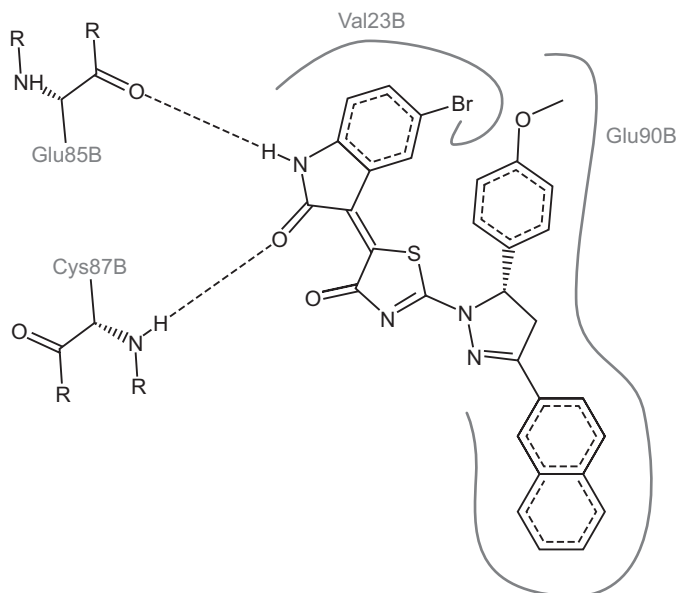


Рис. 1. Схематичне зображення зв'язків сполуки Les-3833 в активному центрі ензиму CheckPoint кінази-1

Отримані результати свідчать про присутність кількох механізмів протипухлинної дії похідних 4-тіазолідинону, що очевидно пов'язане із наявністю різних заміників у структурі молекули. Проведені розрахунки свідчать про високу ймовірність інгібувальної взаємодії топоізомерази II, мітоген-активованої протеїнкінази, CheckPoint кіназ 1 і 2, серин/треоніпротеїнкінази, каспази-3, каспази-6 і каспази-8. Підсумовуючи, ми пропонуємо узагальнювальну гіпотетичну схему сигнальних шляхів механізмів дії похідних 4-тіазолідинону під час інкубації з пухлинними клітинами (рис. 2).

Дослідження токсичності і фармакокінетичних параметрів є важливими для оцінки динаміки розподілу протипухлинних сполук у різних органах. Наприклад, молекули, які є ефективними *in vitro*, можуть виявитися ефективнішими *in vivo* через позитивну кінетику (наприклад, більшу абсорбцію, кращий розподіл) [Jin et al., 2020; Zheng et al., 2019]. Ці параметри можна використовувати для прогнозування впливу досліджуваної сполуки в організмі людини. Фармакокінетичні параметри виявляють швидкість, з якою препарат виводиться

з організму, як правило, шляхом печінкового обміну і/або ниркової екскреції [Jin et al., 2020; Mashayekhi-Sardoo et al., 2019; Wilsker et al., 2019]. Площа під кривими концентрації речовин у плазмі крові є параметром, який тісно залежить від кількості лікарських засобів, які потрапляють у системний кровообіг і повинні бути виведені (кліренс) з організму. Тому його можна використовувати як показник впливу речовини на тканини для вимірювання кількості препарату, засвоєного організмом, або ефективності біохімічних процесів, які характеризують елімінацію препарату [Jin et al., 2020; Mashayekhi-Sardoo et al., 2019; Wilsker et al., 2019]. Хімічні властивості складових компонентів ліків можуть суттєво впливати на їх фармакокінетику. Речовина має бути водорозчинною і, водночас, здатною перетнути кілька гідрофобних бар'єрів (зокрема, плазматичну мембрану клітин) [Jin et al., 2020; Mashayekhi-Sardoo et al., 2019; Wilsker et al., 2019].

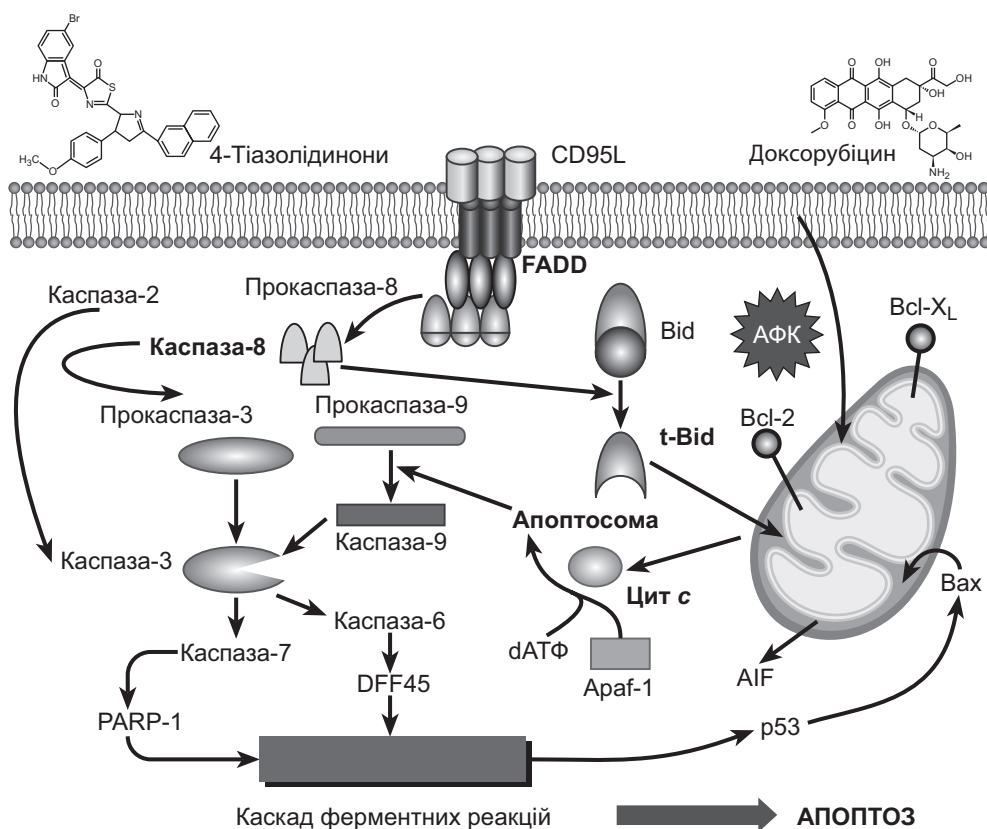


Рис. 2. Гіпотетична схема механізмів дії похідних 4-тіазолідинону у клітині

Важливим чинником, який впливає на нирковий кліренс, є розподільні та зв'язуючі характеристики речовини. Сполука, зв'язана з білками, має триваліший період напів-виведення, оскільки нирковий кліренс є низьким, а швидкість

потоків сечі становить 1–2 мл/хв [Huang, 2018]. На концентрацію препарату у плазмі крові безпосередньо впливає клубочкова фільтрація і повторне всмоктування, оскільки обидва процеси є пасивними. Препарат, не зв'язаний з білками плазми, виводиться за механізмом фільтрації, демонструючи лінійну залежність між швидкістю виведення та концентрацією сполуки в плазмі [Huang, 2018; Pérez-Pitarch et al., 2017]. Аналіз фармакокінетичних параметрів дає змогу визначити правильний режим дозування для отримання ефективної терапевтичної концентрації та прогнозу дії лікарських засобів [Jin et al., 2020; Zheng et al., 2019]. Під час дослідження фармакокінетики доксорубіцину в щурів було продемонстровано, що після доведеного введення максимальна концентрація (1,7 мкг/мл) у плазмі крові досягається відразу після введення, і вона знижується до 0,3 мкг/мл на 1 год [Pérez-Pitarch et al., 2017]. В експериментах з Les-3833 на мишах встановлено, що ця сполука дуже швидко надходить у кров дослідних мишей, оскільки її концентрація у плазмі досягала максимуму вже на 1,88–2,23 хв після введення. Надалі концентрація Les-3833 у плазмі крові спадала нижче за кількісні межі. Під час визначення кліренсу доксорубіцину в печінці та нирці лабораторних щурів, зменшення його кількості з $26,4 \pm 0,2$ мкг/г (30 хв) до $4,1 \pm 0,6$ мкг/г (24 год) у печінці та з $37,2 \pm 5,8$ мкг/г (30 хв) до $5,2 \pm 0,2$ мкг/г (24 год) у нирках виявлено [Pérez-Pitarch et al., 2017]. Les-3833 виводився з печінки і нирки мишей аналогічним чином – від 1,02 мкг / г (15 хв) до 0,42 мкг/г (24 год) у печінці та від 0,4 мкг/г (15 хв) до 0,2 мкг/г (24 год) у нирці [Kobylynska et al., 2020]. Отже, похідні 4-тіазолідинону мають кращу фармакокінетику, ніж доксорубіцин.

Для оцінки лікувальної дії нових речовин важливо визначити їхню цитотоксичну активність на різних лініях пухлинних клітин людини і тварин. Розуміння механізмів взаємозв'язку між виникненням пухлини та чутливістю до лікування є ключовим питанням для розробки нових протипухлинних ліків. Для цього застосовують два підходи: (1) пошук механізмів подолання наслідків мутацій у пухлинних клітинах, які можуть впливати на механізми дії ліків; та (2) розробку схем хіміотерапії, здатної блокувати різні способи активації апоптозу. Вища антинеопластична активність синтетичних похідних 4-тіазолідинону щодо культивованих клітин ліній пухлин людини позитивно корелює із вищою токсичною дією цих сполук у піддослідних щурів. Вивчення біобезпеки активних фармацевтичних інгредієнтів, зокрема їх гострої токсичності, є одним із обов'язкових етапів розробки нових ліків. Під час макроскопічного огляду внутрішніх органів щурів, яким вводили похідні 4-тіазолідинону, не виявлено ознак інтоксикації або інших проявів патології. Вірогідних відмінностей між масовими коефіцієнтами внутрішніх органів контрольної і дослідних груп тварин не виявлено. Встановлено, що синтетичні похідні 4-тіазолідинону належать до 3-го класу токсичності (помірно токсичні речовини) і мають слабку здатність до кумуляції [Кобилінська, 2013]. Водночас, доксорубіцин, виявляючи найвищу антинеопластичну активність, одночасно є достатньо ток-

сичним для організму. Всі щурі, яким упродовж 10 діб вводили доксорубіцин, загинули, тоді як введення шурам похідних 4-тіазолідинону протягом 20 днів не спричиняло летальних наслідків [Кобилінська та ін., 2014, 2017; Kobylinska et al., 2015, 2016]. Отже, похідні 4-тіазолідинону характеризуються нижчим загальним токсичним впливом, зокрема кардіо-, гепато- і нефротоксичною дією в організмі щурів. Про це свідчать результати визначення активності маркерних ферментів та концентрації загального білка, сечовини, креатиніну, а також вмісту катіонів натрію і аніонів хлориду у сироватці крові піддослідних щурів [Кобилінська та ін., 2014; Kobylinska et al., 2015; 2016]. Знижена загальна токсичність похідних 4-тіазолідинону, виявлена за їх використання *in vivo*, дозволяє застосовувати їх у вищих дозах для лікування лабораторних тварин.

Злоякісна трансформація клітин супроводжується підвищеною генерацією ними активних форм кисню (АФК) внаслідок функціонування продуктів певних онкогенів під час росту пухлини [Moloney et al., 2018; Rodic et al., 2018; Srinivas et al., 2019]. АФК відіграють на клітинному рівні багатофункціональну роль, діючи як цитотоксичні чинники і як сигнальні вторинні посередники, що беруть участь у регуляції проліферації клітин. Отже, протипухлинна терапія повинна бути спрямована також і на залучення АФК і тонко регулювати їхній баланс, щоб, з одного боку, вбити пухлинні і, з другого боку, зберегти нормальні клітини. Високий рівень цих вільнорадикальних метаболітів вважають однією з основних причин негативних побічних реакцій протипухлинних ліків в організмі [Rodic et al., 2018]. Адаптація окисно-відновного потенціалу клітин за участю антиапоптотичних і антиоксидантних факторів дає змогу пухлинним клітинам не лише виживати, але й набувати стійкості до дії протипухлинних препаратів [Moloney et al., 2018]. Перспективною може бути хіміотерапія, націлена на суттєве підвищення внутрішньоклітинного рівня АФК, покликаною знищити пухлинні клітини, зменшуючи їхню антиоксидантну здатність [Moloney et al., 2018; Rodic et al., 2018; Srinivas et al., 2019; Yang et al., 2016]. Тому вивчення про- та антиоксидантного балансу є важливим для розуміння механізму дії протипухлинних лікарських засобів. Ступінь компенсованості системи вільнорадикального окиснення, може слугувати одним із важливих критеріїв токсичного впливу протипухлинних ліків на організм. Негативні побічні ефекти протипухлинних лікарських засобів пов'язані з порушенням балансу у системі вільнорадикального окиснення, у яких надмірна активація не може бути нейтралізована системою антиоксидантного захисту [Gorini et al., 2013]. Очевидно, що для розробки нових терапевтичних стратегій в онкологічній практиці, необхідно створювати ліки, мішенню яких будуть власне пухлинні клітини.

Виявлено, що після введення протипухлинних похідних 4-тіазолідинону лабораторним шурам у їхній крові зростає рівень АФК [Кобилінська, 2018; Kobylinska et al., 2016; 2017, 2019]. Серед досліджуваних протипухлинних речовин найсильніший оксидативний стрес індукує доксорубіцин, який спричиняє

підвищення рівня найтоксичніших супероксидного і гідроксильного радикалів. Вміст цих радикалів був значно нижчий у сироватці крові щурів за введення похідних 4-тіазолідинону в порівнянні із введенням доксорубіцину. Ці дані узгоджуються з результатами визначення біохімічних показників кардіотоксичності у щурів (активність креатинкінази, лактатдегідрогенази, аспартатамінотрансферази і аланінамінотрансферази) [Кобилінська та ін., 2014; 2017; Kobylynska et al., 2015; 2016]. До того ж доксорубіцин індукує зростання рівня H_2O_2 , а похідні 4-тіазолідинону не мають такого впливу [Kobylynska et al., 2017].

Інтенсивно вивчається дія сірководню (H_2S) як регулятора різноманітних метаболічних процесів. Відомо, що сірководень може слугувати медіатором антиоксидантних, протизапальних та антиапоптотичних процесів [Сукманський, 2014; Kashfi, 2018]. Він підсилює апоптоз клітин ссавців *in vitro*, використовуючи мітохондріальний шлях для активації каспази 3 і MAP-кіназ, що супроводжується генерацією АФК і зниженням концентрації глутатіону [Сукманський, 2014]. Є гіпотеза, що H_2S слугує неорганічним субстратом дихання, оскільки він може передавати електрони на останній третій пункт спряження у дихальному ланцюгу мітохондрій [Kashfi, 2018]. Тому підвищення вмісту H_2S стимулюватиме синтез АТФ за аеробних умов, і, навпаки, зниження його вмісту інгібуватиме цей процес. У механізмах впливу H_2S на клітини важливе місце посідає його антиоксидантна дія [Kashfi, 2018]. Відомо, що сірководень гальмує продукцію АФК і підвищує активність антиоксидантних ензимів [Kashfi, 2018]. Він також пригнічує індуковане кальцієм відкривання мітохондріальної пори у клітинах міокарду щурів зі спонтанною гіпертензією, тобто стабілізує мембрани мітохондрій [Сукманський, 2014; Kashfi, 2018]. У наших дослідженнях виявлено підвищення вмісту H_2S за дії доксорубіцину і зниження такого вмісту за дії похідних 4-тіазолідинону [Kobylynska et al., 2017].

Виявлено, що доксорубіцин і, меншою мірою, сполука Les-3833 індукують зростання вмісту нітрат-аніону, який взаємодіє із супероксидним радикалом з утворенням пероксинітриду. Це могло бути причиною, чому ми не виявили зростання вмісту O_2^- , оскільки він швидко використовується у вищевказаній реакції. Розклад пероксинітриду відбувається двома способами – з утворенням нітрат-аніону та з продукуванням кисневих радикалів, зокрема гідроксильного. Тому нітрат-аніон можна вважати маркером утворення пероксинітриду [Pescoraro et al., 2020]. NO-редуктаза відновлює нітрит- і нітрат-аніони до NO. Водночас, у сироватці крові щурів, яким вводили протипухлинні речовини, не виявлено зростання активності NO-синтази і NO-редуктази, навпаки, у деяких випадках, відбувається зниження активності цих ензимів. Очевидно, підвищення вмісту нітрат-аніону спричинене вивільненням його із “депо” NO. Зокрема, за надлишку NO відбувається утворення нітрозотіолів, нітрозилування глутатіону, сірководню, цистеїну білків за участю SH-груп [Kashfi, 2018]. NO може вивільнятися із цих “запасів” за дії екстремальних чинників, забезпечуючи високий рівень нітроген оксиду [Kashfi, 2018]. Окрім цього, опубліковано цікаві дослідження

про підвищення акумуляції полімерних міцел систем доставки протипухлинних ліків у пухлинах, цьому сприяють процеси вазодилатації за участі NO [Pecoraro et al., 2020].

Виявлено кореляцію між підвищеним рівнем показників пероксидного окиснення ліпідів і зниженою активністю ензимів антиоксидантного захисту за дії протипухлинних речовин у печінці, серці та нирці лабораторних тварин, і токсичними ефектами (кардіо-, гепато та нефротоксичність) цих сполук у щурів [Кобилінська, 2018; Кобилінська та ін., 2014, 2016, 2017; Kobylynska et. al., 2015–2017; 2019]. Введення щурам похідних 4-тіазолідинону спричинило значно нижчий рівень продуктів ліпопероксидації та меншу амплітуду зниження активності ензимів антиоксидантного захисту порівняно з ефектами доксорубіцину.

Отже, похідні на основі 4-тіазолідинону, володіють антинеопластичною активністю *in vitro* та протипухлинною активністю *in vivo*, а також зумовлюють зміни у балансі системи вільнорадикального окиснення \leftrightarrow антиоксидантна активність у щурів [Kobylynska et. al., 2017, 2019]. Виявлене збільшення кількості продуктів реакцій ліпопероксидації та зниження активності ензимів антиоксидантного захисту (СОД, КАТ та ГПО) у тканинах печінки, серця та нирки щурів, яким вводили похідні 4-тіазолідинону, менш виражені, ніж такі зміни, індуковані доксорубіцином [Kobylynska et. al., 2017, 2019]. Результати аналізу величин індексу оксидативного стресу дозволяють припустити, що доксорубіцин посилює оксидативний стрес, а похідним 4-тіазолідинону притаманні нижчі прооксидантні властивості.

Важливою проблемою, яку рідко беруть до уваги під час оцінювання ефективності протипухлинних ліків, є їхня антиоксидантна здатність до поглинання стабільного радикала 1,1-дифеніл-2-пікрилгідрозилу [Kobylynska et. al., 2019]. Ми виявили унікальну властивість похідних 4-тіазолідинону до знешкодження вільних радикалів, яка залежала від тривалості інкубації *in vitro*. Здатність доксорубіцину до поглинання 1,1-дифеніл-2-пікрилгідрозилу зменшувалася з тривалістю інкубації [Kobylynska et. al., 2019]. Такою характеристикою досліджуваних похідних 4-тіазолідинону можна пояснити їх нижчу кардіо-, гепато- та нефротоксичність порівняно з доксорубіцином, оскільки потенціал продукування вільнорадикальних метаболітів доксорубіцину був значно вищим після 24 год інкубації. Отже, окрім протипухлинної активності, похідні 4-тіазолідинону здатні знижувати рівень вільних радикалів, який є важливим для інактивації шкідливих вільнорадикальних метаболітів у біологічних системах. Баланс вільнорадикальне окиснення \leftrightarrow антиоксидантна активність у тканинах та органах, зокрема у печінці, серці та нирці, можна використовувати як прогностичний критерій для оцінювання загальних токсичних ефектів протипухлинних лікарських засобів.

- Гаврилюк ДЯ, Зіменковський БС, Лесик РБ, Роман ОМ. 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4*H*-тіазол-5-ілден}-1,3-дигідроіндол-2-они, що виявляють протипухлинну активність. Патент на корисну модель № 69857. u201114202. Опубл. 10.05.2012. Бюл. № 19.
- Зіменковський БС, Лесик РБ. 4-Тіазолідони. Хімія, фізіологічна дія, перспективи. Вінниця: Нова книга; 2004. 106 с.
- Кобилінська ЛІ. Вплив нових протипухлинних похідних 4-тіазолідинонів у комплексі з ПЕГ-вмісним полімерним носієм на прооксидантно-антиоксидантний статус у тканинах печінки, серця і нирки щурів. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія [Інтернет]. 2018;3(83):40–51. Доступно на: <https://doi.org/10.25040/есрб2018.03.040>
- Кобилінська ЛІ, Гаврилюк ДЯ, Патерега ІІ, Коцюмбас ІЯ, Лесик РБ, Зіменковський БС, та ін. Дослідження гострої токсичності та кумулятивних властивостей у щурів нових похідних 4-тіазолідонів із потенційною антинеопластичною активністю. Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки [Інтернет]. 2013;4(63):38–43. Доступно на: <http://protox.medved.kiev.ua/index.php/ua/issues/2013/4/item/395-study-of-acute-toxicity-and-cumulative-properties-in-rats-of-novel-synthetic-4-tiazolidone-derivatives-with-potential-antineoplastic-activity>
- Кобилінська ЛІ, Гаврилюк ДЯ, Рябцева АО, Мітіна НС, Заїченко ОС, Зіменковський БС, та ін. Дослідження біохімічних показників кардіотоксичної дії нових протипухлинних похідних 4-тіазолідинонів і доксорубіцину у комплексах із поліетиленглікольвмісним полімерним носієм у сироватці крові щурів. Український біохімічний журнал [Інтернет]. 2014;86(6):84–95. Доступно на: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj86.06.084>
- Кобилінська ЛІ, Рябцева АО, Мітіна НС, Заїченко ОС, Стойка РС. Корекція біохімічних показників загальної токсичної дії доксорубіцину за його доставки у складі комплексу із ПЕГ-вмісним полімерним наноносієм у щурів. / У книзі “Багатофункціональні наноматеріали для біології і медицини: молекулярний дизайн, синтез і застосування”. За ред. член-кор. НАН України Р. С. Стойки. Київ: Наукова думка; 2017. 183–194.
- Сукманський ОІ. Газотрансмітери – новий вид біорегуляторів (огляд літератури). Журнал Національної академії медичних наук України. 2014;20(2):153–9.
- Чумак ВВ, Панчук РР, Манько НО, та ін. Порівняльне дослідження на пухлинних клітинах людини *in vitro* цитотоксичної активності різних за структурою ізатинвмісних похідних 4-тіазолідинону. Біологічні студії [Інтернет]. 2014;8(2):29–42. Доступно на: <http://dx.doi.org/10.30970/sbi.0802.357>
- Чумак ВВ, Філь МР, Панчук РР та ін. Дослідження антинеопластичної дії нових ізомерних похідних 4-тіазолідинону. Український біохімічний журнал [Інтернет] 2014;86(6):96–105. Доступно на: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj86.06.096>
- Amawi H, Sim H-M, Tiwari AK, Ambudkar SV, Shukla S. ABC transporter-mediated multidrug-resistant cancer. Drug Transporters in Drug Disposition, Effects and Toxicity [Internet]. Springer Singapore; 2019;549–80. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-7647-4_12
- Asati V, Mahapatra DK, Bharti SK. Thiazolidine-2,4-diones as multi-targeted scaffold in medicinal chemistry: Potential anticancer agents. European Journal of Medicinal Chemistry [Internet]. Elsevier BV; 2014 Nov;87:814–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.10.025>

- Assi M. The differential role of reactive oxygen species in early and late stages of cancer. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* [Internet]. American Physiological Society; 2017 Dec 1;313(6):R646–R653. Available from: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00247.2017>
- Boyd MR, Paull KD. Some practical considerations and applications of the national cancer institute *in vitro* anticancer drug discovery screen. *Drug Development Research* [Internet]. Wiley; 1995 Feb;34(2):91–109. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/ddr.430340203>
- Cao Y, Li Z, Mao L, Cao H, Kong J, Yu B, et al. The use of proteomic technologies to study molecular mechanisms of multidrug resistance in cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2019 Jan;162:423–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.10.001>
- Deshmukh AR, Bhosle MR, Khillare LD, Dhumal ST, Mishra A, Srivastava AK, et al. New tetrazoloquinolinyl methoxyphenyl-4-thiazolidinones: synthesis and antihyperglycemic evaluation. *Research on Chemical Intermediates* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2016 Aug 10;43(2):1107–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11164-016-2686-5>
- Devinyak O, Havrylyuk D, Zimenkovsky B, Lesyk R. Computational search for possible mechanisms of 4-thiazolidinones anticancer activity: the power of visualization. *Molecular Informatics* [Internet]. Wiley; 2014 Mar;33(3):216–29. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/minf.201300086>
- El-Taher S, Metwaly M. DFT and PCM-TD-DFT investigation of the electronic structures and spectra of 5-(3-phenyl-2-propenylidene)-2-thioxo-4-thiazolidinone derivatives. *Journal of Molecular Structure* [Internet]. Elsevier BV; 2017 Apr;1134:840–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.01.014>
- Gorini C, Harris IS, Mak TW. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nature Reviews Drug Discovery* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2013 Nov 29;12(12):931–47. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrd4002>
- Harale RR, Shitre PV, Sathe BR, Shingare MS. Pd nanoparticles: an efficient catalyst for the solvent-free synthesis of 2,3-disubstituted-4-thiazolidinones. *Research on Chemical Intermediates* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2016 Mar 2;42(8):6695–703. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11164-016-2490-2>
- Havrylyuk D, Roman O, Lesyk R. Synthetic approaches, structure activity relationship and biological applications for pharmacologically attractive pyrazole/pyrazoline–thiazolidine-based hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2016 May;113:145–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.02.030>
- Havrylyuk D, Zimenkovsky B, Vasylenko O, Gzella A, Lesyk R. Synthesis of new 4-thiazolidinone-, pyrazoline-, and isatin-based conjugates with promising antitumor activity. *Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. American Chemical Society (ACS); 2012 Oct 9;55(20):8630–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/jm300789g>
- Havrylyuk D, Zimenkovsky B, Vasylenko O, Zaprutko L, Gzella A, Lesyk R. ChemInform abstract: synthesis of novel thiazolone-based compounds containing pyrazoline moiety and evaluation of their anticancer activity. *ChemInform* [Internet]. Wiley; 2009 Aug 4;40(31). Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/chin.200931120>
- Huang J. Drug-induced nephrotoxicity and drug metabolism in renal failure. *Current Drug Metabolism* [Internet]. Bentham Science Publishers Ltd.; 2018 Jul 9;19(7):558–558. Available from: <http://dx.doi.org/10.2174/138920021907180709121120>

- Jin IS, Jo MJ, Park C-W, Chung YB, Kim J-S, Shin DH. Physicochemical, pharmacokinetic, and toxicity evaluation of Soluplus® polymeric micelles encapsulating fenbendazole. *Pharmaceutics* [Internet]. MDPI AG; 2020 Oct 21;12(10):1000. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics12101000>
- Kaminsky D. A facile synthesis and anticancer activity evaluation of spiro[thiazolidinone-isatin] conjugates. *Scientia Pharmaceutica* [Internet]. MDPI AG; 2011;79(4):763–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.3797/scipharm.1109-14>
- Kashfi K. The dichotomous role of H₂S in cancer cell biology? Déjà vu all over again. *Biochemical Pharmacology* [Internet]. Elsevier BV; 2018 Mar;149:205–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2018.01.042>
- Kobylinska LI, Boiko NM, Panchuk RR, Grytsyna II, Klyuchivska OY, Biletska LP, et al. 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. *Croatian Medical Journal* [Internet]. Croatian Medical Journals; 2016 Apr;57(2):151–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.3325/cmj.2016.57.151>
- Kobylinska LI, Havrylyuk DY, Ryabtseva AO, Mitina NE, Zaichenko OS, Lesyk RB, et al. Biochemical indicators of hepatotoxicity in blood serum of rats under the effect of novel 4-thiazolidinone derivatives and doxorubicin and their complexes with polyethyleneglycol-containing nanoscale polymeric carrier. *The Ukrainian Biochemical Journal* [Internet]. Co. Ltd. Ukrinformnauka; 2015 Apr 27;87(2):122–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj87.02.122>
- Kobylinska LI, Havrylyuk DY, Mitina NE, Zaichenko AS, Lesyk RB, Zimenkovsky BS, Stoika RS. Biochemical indicators of nephrotoxicity in blood serum of rats treated with novel 4-thiazolidinone derivatives or their complexes with polyethyleneglycol-containing nanoscale polymeric carrier. *The Ukrainian Biochemical Journal* [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2016 Feb 29;88(1):51–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj88.01.051>
- Kobylinska L, Khylyuk D, Subtelna I, Kitsera M, Lesyk R, et al. *In silico* identification and biochemical validation of plausible molecular targets of 4-thiazolidinone derivative Les-3833 as a potential anticancer agent. *The Ukrainian Biochemical Journal* [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2021 May 20;93(2):7–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj93.02.007>
- Kobylinska L, Klyuchivska O, Lesyk R, Stoika R. Targeting of the pro-oxidant-antioxidant balance *in vitro* and *in vivo* by 4-thiazolidinone-based chemotherapeutics with anticancer potential. *The Ukrainian Biochemical Journal* [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2019 Apr 1;91(2):7–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj91.02.007>
- Kobylinska L, Lozynskii A, Lesyk R, Stoika R, Vari SG. Biodistribution and anticancer characteristics of Les-3833, a novel 4-thiazolidinone-based lead compound. *Scientia Pharmaceutica* [Internet]. MDPI AG; 2020 Mar 30;88(2):18. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/scipharm88020018>
- Kobylinska LI, Panchuk RR, Lesyk RB, Zimenkovsky BS, Stoika RS, et al. Indicators of oxidative and nitrosative stress and activity of enzymes of nitric oxide metabolism in rats treated with 4-thiazolidinone derivatives possessing antineoplastic activity. *The Ukrainian Biochemical Journal* [Internet]. National Academy of Sciences of Ukraine (Co. LTD Ukrinformnauka); 2017 Oct 25;89(5):77–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj89.05.077>

- Lesyk R. Drug design: 4-thiazolidinones applications. Part 1. Synthetic routes to the drug-like molecules. *Journal of Medical Science* [Internet]. Poznan University of Medical Sciences; 2020 Mar 31;89(1):e406. Available from: <http://dx.doi.org/10.20883/medical.406>
- Lesyk R. Drug design: 4-thiazolidinones applications. Part 2. Pharmacological profiles. *Journal of Medical Science* [Internet]. Poznan University of Medical Sciences; 2020 Jun 26;89(2):e407. Available from: <http://dx.doi.org/10.20883/medical.e407>
- Lesyk R, Zimenkovsky B. 4-Thiazolidinones: Centenarian history, current status and perspectives for modern organic and medicinal chemistry. *Current Organic Chemistry* [Internet]. Bentham Science Publishers Ltd.; 2004 Nov 1;8(16):1547–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.2174/1385272043369773>
- Li W, Zhang H, Assaraf YG, Zhao K, Xu X, Xie J, et al. Overcoming ABC transporter-mediated multidrug resistance: Molecular mechanisms and novel therapeutic drug strategies. *Drug Resistance Updates* [Internet]. Elsevier BV; 2016 Jul;27:14–29. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drug.2016.05.001>
- Mankar S, Rach P. Solubility enhancement of poor water soluble drugs by solid dispersion: A review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* [Internet]. Society of Pharmaceutical Technocrats; 2018 Sep 6;8(5):44–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v8i5.1887>
- Martínez R, Di Geronimo B, Pastor M, Zapico JM, Coderch C, Panchuk R, et al. Multitarget Anticancer Agents Based on Histone Deacetylase and Protein Kinase CK2 Inhibitors. *Molecules* [Internet]. MDPI AG; 2020 Mar 25;25(7):1497. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25071497>
- Mashayekhi-Sardoo H, Mohammadpour AH, Nomani H, Sahebkar A. The effect of diabetes mellitus on pharmacokinetics, pharmacodynamics and adverse drug reactions of anticancer drugs. *Journal of Cellular Physiology* [Internet]. Wiley; 2019 Apr 24;234(11):19339–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.28644>
- Mokhtari S, Mosaddegh M, Hamzeloog Moghadam M, Soleymani Z, Ghafari S, Kobarfard F. Synthesis and cytotoxic evaluation of novel 3-substituted derivatives of 2-indolinone. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* [Internet]. Springer; 2012;11(2):411–21. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3832156/>
- Moloney JN, Cotter TG. ROS signalling in the biology of cancer. *Seminars in Cell & Developmental Biology* [Internet]. Elsevier BV; 2018 Aug;80:50–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.05.023>
- Narvekar M, Xue HY, Eoh JY, Wong HL. Nanocarrier for poorly water-soluble anticancer drugs – barriers of translation and solutions. *AAPS PharmSciTech* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2014 Apr 2;15(4):822–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-014-0107-x>
- Nirwan S, Chahal V, Kakkar R. Thiazolidinones: Synthesis, reactivity, and their biological applications. *Journal of Heterocyclic Chemistry* [Internet]. Wiley; 2019 Mar 12;56(4):1239–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jhet.3514>
- Panchuk RR, Chumak VV, Fil' MR, Havrylyuk DY, Zimenkovsky BS, Lesyk RB, et al. Study of molecular mechanisms of proapoptotic action of novel heterocyclic 4-thiazolidone derivatives. *Biopolymers and Cell* [Internet]. Institute of Molecular Biology and Genetics (NAS Ukraine); 2012 Mar 20;28(2):121–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.00003d>

- Pecoraro M, Pala B, Di Marcantonio M, Muraro R, Marzocco S, Pinto A, et al. Doxorubicin-induced oxidative and nitrosative stress: Mitochondrial connexin 43 is at the crossroads. *International Journal of Molecular Medicine* [Internet]. Spandidos Publications; 2020 Jul 6;46(3):1197–209. Available from: <http://dx.doi.org/10.3892/ijmm.2020.4669>
- Pérez-Pitarch A, Guglieri-López B, Nacher A, Merino V, Merino-Sanjuán M. Impact of undernutrition on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of anticancer drugs: A literature review. *Nutrition and Cancer* [Internet]. Informa UK Limited; 2017 Mar 29;69(4):555–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/01635581.2017.1299878>
- Rodic S, Vincent MD. Reactive oxygen species (ROS) are a key determinant of cancer's metabolic phenotype. *International Journal of Cancer* [Internet]. 2018 Feb 1;142(3):440–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.31069>
- Savjani KT, Gajjar AK, Savjani JK. Drug solubility: Importance and enhancement techniques. *ISRN Pharmaceutics* [Internet]. Hindawi Limited; 2012 Jul 5;2012:1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.5402/2012/195727>
- Shaaban MR, Mayhoub AS, Farag AM. Recent advances in the therapeutic applications of pyrazolines. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* [Internet]. Informa Healthcare; 2012 Mar;22(3):253–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1517/13543776.2012.667403>
- Srinivas US, Tan BWQ, Vellayappan BA, Jeyasekharan AD. ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology* [Internet]. Elsevier BV; 2019 Jul;25:101084. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2018.101084>
- Taha M, Rahim F, Ullah H, Wadood A, Farooq RK, Shah SAA, et al. Synthesis, *in vitro* urease inhibitory potential and molecular docking study of benzofuran-based-thiazolidinone analogues. *Scientific Reports* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2020 Jun 30;10(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-67414-7>
- Thornton C, Hagberg H. Role of mitochondria in apoptotic and necroptotic cell death in the developing brain. *Clinica Chimica Acta* [Internet]. Elsevier BV; 2015 Dec;451:35–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2015.01.026>
- Tian Y, Mao S. Amphiphilic polymeric micelles as the nanocarrier for peroral delivery of poorly soluble anticancer drugs. *Expert Opinion on Drug Delivery* [Internet]. Informa Healthcare; 2012 Apr 20;9(6):687–700. Available from: <http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2012.681299>
- Verma A, Saraf SK. 4-Thiazolidinone – A biologically active scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2008 May;43(5):897–905. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.07.017>
- Vine KL, Matesic L, Locke JM, Ranson M, Skropeta D. Cytotoxic and anticancer activities of isatin and its derivatives: A comprehensive review from 2000–2008. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* [Internet]. Bentham Science Publishers Ltd.; 2009 May 1;9(4):397–414. Available from: <http://dx.doi.org/10.2174/1871520610909040397>
- Wang C, Youle RJ. The role of mitochondria in apoptosis. *Annual Review of Genetics* [Internet]. Annual Reviews; 2009 Dec 1;43(1):95–118. Available from: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134850>
- Wilsker DF, Barrett AM, Dull AB, Lawrence SM, Hollingshead MG, Chen A, et al. Evaluation of pharmacodynamic responses to cancer therapeutic agents using DNA damage markers. *Clinical Cancer Research* [Internet]. American Association for Cancer Research (AACR); 2019 Feb 21;25(10):3084–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-18-2523>

- Yang Y, Karakhanova S, Hartwig W, D'Haese JG, Philippov PP, Werner J, et al. Mitochondria and mitochondrial ROS in cancer: Novel targets for anticancer therapy. *Journal of Cellular Physiology* [Internet]. Wiley; 2016 Jun 20;231(12):2570–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.25349>
- Zheng Y, Shi S, Liu Y, Zhao Y, Sun Y. Targeted pharmacokinetics of polymeric micelles modified with glycyrrhetic acid and hydrazone bond in H22 tumor-bearing mice. *Journal of Biomaterials Applications* [Internet]. SAGE Publications; 2019 Apr 16;34(1):141–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/0885328219841487>
- Zou J, Lei T, Guo P, Yu J, Xu Q, Luo Y, et al. Mechanisms shaping the role of ERK1/2 in cellular senescence (Review). *Molecular Medicine Reports* [Internet]. Spandidos Publications; 2018 Nov 29; Available from: <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2018.9712>

ГЕТЕРОЦИКЛІЧНІ СПОЛУКИ: ПІДСУМКИ І ПЕРСПЕКТИВИ

Щоб оцінити світові тенденції в розвитку досліджень, присвячених гетероциклічним сполукам для біомедичного використання, доцільно проаналізувати інформацію, наявну в базі даних: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=heterocyclic+compounds>. Станом на 20.11.2021 р., у цій базі числяться 3 220 673 наукові статті, з них 149 897 статей присвячені гетероциклічним сполукам природного походження, тобто чітко переважають синтетичні гетероциклічні сполуки. Серед статей по всіх гетероциклічних сполуках, 463 721 стаття стосується ліків на базі цих сполук, зокрема 14 759 статей присвячені протипухлинним лікам. Цікаво відзначити, що серед статей, присвячених природним гетероциклічним сполукам, відсоток статей, що стосуються ліків, значно вищий, а саме 84 152 статті зі 149 897 статей (близько 60 %). Тобто природа значно випереджає органічний синтез на шляху створення ліків на основі гетероциклічних сполук, хоча в природі цей шлях триває не до порівняння довше, але він нічого їй не коштує, бо це еволюційний процес. Дослідники, що займаються створенням нових гетероциклічних сполук, не мають стільки часу, як природа, і вимагають значних капіталовкладень.

Одним із перспективних підходів на цьому шляху є створення нових гібридних гетероциклічних сполук, про які згадується в 46 363 статтях. Цікаво, що тут поєднання ключових слів “hybrid heterocyclic compounds AND drugs” відмічено в 23 081 статті, що становить практично 50% від усіх статей. Це свідчить про важливість такого методичного підходу в створенні гетероциклічних сполук для потреб медицини. Існують два основні методичні підходи в синтезі гібридних гетероциклічних сполук: 1) структурна модифікація гетероциклічних кілець і/чи функціональних груп при них; 2) приєднання до гетероциклічних сполук інших органічних або мінеральних речовин.

Серед відомих гетероциклічних сполук чільне місце займають тіазоли (thiazoles – 102 006 статей, серед яких медикаментозним чинникам присвячено 17 826 статей, з них протипухлинним лікам – 2 181 статей, а протизапальним – 6 932 статті). У нашій монографії головну увагу було звернено на сульфур-вмісні гетероцикли (sulphur-containing heterocycles – 523 статті, з них медикаментам

присвячені 67 статей). Така порівняно мала кількість статей на цю тему свідчить про недостатню вивченість цих гетероциклічних сполук і створення потенційних ліків на їх основі.

Як згадано вище, протипухлинний потенціал похідних тіазолу є найвищим, що може бути пов'язане зі структурним різноманіттям похідних тіазолу, що відповідає за їх специфічну протипухлинну активність. Відомі кілька класів похідних тіазолу, таких як основи Шиффа, а також моно-, ді-, три- і гетероциклічні замісники, які володіють протипухлинною активністю. Розроблено молекулярне моделювання цих сполук, що передбачає посилення протипухлинної активності модифікованих структур. Синтетична хімія тіазолів, головним чином, націлена на посилення їхньої цитотоксичності [Shweta et al. 2018].

За більшістю прогнозів, в найближчі роки рак стане основною причиною смертності в світі [WHO, 2020], тому створення нових протипухлинних засобів належить до найбільш актуальних досліджень у фармацевтичній хімії. Тіазольне кільце -принципово важливий структурний каркас, присутній у молекулах багатьох медикаментів, тому хіміки-органіки, які розробляють сполуки, потенційно важливі для медицини, синтезують велику кількість нових гетероциклічних сполук із кількома реакційними сайтами. Нові сполуки тіазолу, корисні для створення нових ліків, описані у чисельних патентах [Morigi et al., 2015], в яких також розглядаються потенційні молекулярні мішені цих сполук, важливі для прояву їхньої біологічної активності.

Для синтезу відомої п'ятичленної гетероциклічної структури тіазолу розроблені різні методи. Проведені роботи над модифікацією тіазолового кільця дозволили створити нові каркаси, що володіють дією антиоксиданта, знеболювального, протизапального, антимікробного, протигрибкового, противірусного, сечогінного, протисудомного, нейропротекторного чи протипухлинного чинника. Велика увага дослідників приділяється чинникам із цитотоксичною дією, але меншими негативними побічними ефектами, що дуже важливо для протипухлинних препаратів [Leoni et al., 2014]. Зареєстровані чисельні патенти, присвячені похідним тіазолу, здатними інгібувати фосфатидилінозитол-3-кіназу та інші протеїнкінази і модулювати активність ензимів, пов'язаних з клітинним метаболізмом і проліферацією. Велику кількість патентів зареєстровано на похідні тіазолу із фармакологічною активністю щодо специфічних клітинних рецепторів [Leoni et al., 2014].

Проведено серію робіт із синтезу різних заміщених похідних тіазолу, зокрема встановлено, що 2-заміщений амініотіазоловий фрагмент забезпечує протизапальну активність тіазолів, яку за силою можна порівняти з активністю індометацину чи аспірину [Franklin et al., 2008, Deb et al., 2014].

Побічні ефекти та стійкість клітин до протипухлинних ліків, що використовуються в даний час, створюють нагальну потребу в створенні нових препаратів з низькими побічними ефектами та високою селективністю. 1,2,3-тіазол є привілейованим будівельним матеріалом для розробки нових протипухлинних засобів, і деякі його похідні вже застосовують в клініці або під час клінічних

випробувань для лікування онкохворих [Zhi et al., 2019]. Важливе місце тут займають гібридні молекули, при які мова піде далі. Показано, що гібридизація каркаса 1,2,3-триазолу з іншими протипухлинними фармакофорами може забезпечити набуття ними цінних терапевтичних властивостей, зокрема, для лікування онкохворих з пухлинами, резистентними до ліків [Zhi et al., 2019].

Дуже корисним для синтезу 2-заміщених похідних амініотіазолу із карбоновими кислотами (у вигляді складного ефіру) є метод мікрохвильового опромінення, який є простим, не вимагає багато часу для проведення реакції й забезпечує високий вихід продукту [Attimarad et al., 2017].

Синтезовано низку 4-заміщених 1H-піразолінів [Shaaban et al., 2012] з високою здатністю до інгібування росту злоякісних клітин різних ліній *in vitro* [Navrylyuk et al., 2009] та ефективністю лікування та/або профілактики раку багатьох типів.

За Програмою Національного Інституту Раку (США) перевірено цитотоксичну дію ряду піразолін-вмісних бензімідазолів щодо 60 ліній пухлинних клітин [Shaharyar et al., 2009]. Найвищу активність тут продемонструвала сполука 31, що володіла високою селективністю щодо клітинних ліній лейкозу CCRF-CEM і RPMI-8226 (GI50 становив 2,23 і 2,76 мкМ, відповідно. Оцінено протипухлинну активність та інгібувальний вплив похідних 32 і 33 1-ацетил-3,5-дифеніл-4,5-дигідро-(1H)-піразолу на пухлинні клітини множинною медикаментозною стійкістю (multi-drug resistance, MDR), що опосередковується Р-глікопротеїном (продукт гена *mdr1*) на поверхні клітин. Цей глікопротеїн надає раковим клітинам стійкості до протипухлинних ліків [Manna et al., 2002, Kobayashi et al., 1994], зменшуючи їхнє накопичення у клітинах. Обидві сполуки 32 і 33 є ефективними блокаторами активності білка-транспортера MDR1.

Трансформуючий фактор росту бета-типу (TGF- β) є привабливою молекулярною мішенню для дії протипухлинних чинників, оскільки він може брати участь у регуляції апоптозу, зокрема пухлинних клітин. Синтезовано похідні дигідропіразолів, що діяли як інгібітори передачі сигналу TGF- β [Sawyer et al., 2002]. Вони мали значення IC₅₀ нижче 20 мкМ для рецептора TGF- β типу I.

Протипухлинну дію піразолінів описано й в інших роботах [Mohamed et al., 2012].

Використання чисельних гетероциклів з атомами азоту як хіміотерапевтичних препаратів було дозволене американською агенцією FDA (Food and Drug Administration, USA) [Vitaku et al., 2014]. Багато з них містять азотно-азотний (NN) зв'язок, наприклад олапариб, ефективний в лікуванні досить поширеного раку яєчника [Ledermann et al., 2012], аксітиніб, який отримав схвалення для лікування нирково-клітинного раку [Wu et al., 2015], понатиніб для лікування хронічного мієлоїдного лейкозу та гострого лімфобластного лейкозу із Філадельфійською хромосомою [Wu et al., 2015] та ібрутиніб як препарат першої лінії для лікування хронічного лімфолейкозу [Byrd et al., 2013].

Опубліковано низку оглядових статей, присвячених піразолінам, зокрема особливостям їхнього синтезу і структури [Yusuf et al., 2014, Farooq et al., 2020],

а також характеристиці біологічної активності [Marella et al., 2013, Alex et al., 2014, Shaaban et al., 2012, Kumar et al., 2009]. Один огляд стосується терапевтичного потенціалу стероїдних піразолінів [Bansal et al., 2020], але немає даних щодо протипухлинної активності гібридів піразоліну. Встановлено, що більшість біологічно активних піразолінів належать до ізомерів 2-піразоліну [Matiadis, Sagnou, 2020].

Кількість експериментальних статей, присвячених протипухлинній активності піразолінів, в цілому, свідчить про загальну тенденцію до створення гібридних молекул цих гетероциклічних сполук, оскільки молекулярна гібридизація виявилася ефективною стратегією для розробки мультитаргетних чинників, що містять два або більше фармакофори в одній молекулі [Nepali et al., 2014]. Кон'югати 2-піразоліну можна класифікувати за приєднаними біологічно активними одиницями на прості і складні гетероароматичні сполуки. Такі сполуки, як піридин, фуран, тіофен, приєднують до бічних атомів вуглецю або до азоту-1 кільця, отримуючи переважно халконів, що не вважаються гібридами. Піразоліни, які також називають дигідропіразолами, становлять клас п'ятичленних гетероциклів із двома сусідніми атомами азоту. Залежно від місця ендоециклічного подвійного зв'язку, розрізняють три типи піразолінів; 1-піразоліни, 2-піразоліни та 3-піразоліни.

Серед гібридів піразолінів із медикаментозними субстанціями, потенційне клінічне значення мають: 1) кон'югати з кумарином, хіноліном та інші бензол-конденсовані шестичленні гетероциклічні піразолінові гібриди; 2) гібриди індол-піразолін та інші бензол-конденсовані п'ятичленні гетероциклічні піразолінові гібриди; 3) гібриди ізатин-піразолін та інші п'ятичленні гетероциклічні піразолінові гібриди на основі бензолу; 4) гібриди тіазолу та тіазолідинона піразоліну; 5) гібриди тіазолу та бензотіазолу піразоліну; 6) гібриди тіазолідинон-піразолін; 7) два азотовмісні гетероцикло-піразолінові гібриди та аналоги; 8) піразоло-піразолінові гібриди; 9) гібриди імідазолу та бензимидазолу-піразоліну та інші два гетероатомні гетероциклічні гібриди піразоліну; 10) гібриди три або більше азотних гетероциклічних-піразолінів та їхні аналоги; 11) триазол-піразолінові гібриди; 12) триазин-піразолінові гібриди; 13) гібриди з три або більше гетероатомними гетероциклічними-піразолінами; 14) гібриди піразолінів із стероїдами; 15) інші некласифіковані гібриди на основі піразоліну [Matiadis, Sagnou, 2020].

Аналіз публікацій до квітня 2020 року з використанням надійних баз даних (Scopus, Google Scholar та Reaxys) і комбінації ключових слів, таких як піразолін(и), протипухлинний, протипухлинний і цитотоксичний, виявив першу згадку про цитотоксичну дію піразоліну в складі синтезованого кон'югату таксол-піразолін у 1996 р. [Appendino et al., 1996]. З тих пір спостерігали зростаючий інтерес дослідників у цій області до протипухлинного потенціалу цієї гетероциклічної структури. Кількість наукових статей, за винятком оглядів, опублікованих з використанням термінів “піразолін” або “піразолін” і “протипухлинний”, зросла майже вдвічі (з 35 до 68) у період з 2014–2016 рр. до 2017–2019 рр. [Matiadis, Sagnou, 2020].

У 2011 році, Zhu et al. [Lv et al., 2011] перевірили 42 тiazоліл-піразолінові сполуки на їх антипроліферативну дію і здатність інгібувати активність кінази рецептора епідермального фактора росту. Встановлено взаємозв'язки “структура-активність”, що свідчать про те, що наявність двох метильних груп у позиціях 3 і 4 фенільного кільця С-3 значно підвищує здатність сполуки інгібувати кіназну активність цього рецептора. У продовженні цієї роботи було синтезовано серію аналогів, що містять бензодіоксол в положення С-5 замість арильної групи. Одна із отриманих сполук за номером 43 продемонструвала дуже високу антипроліферативну активність із значеннями IC_{50} на рівні 0,09 та 0,12 мкМ щодо пухлинних клітинних ліній MCF-7 та B16-F10, відповідно [Wang et al., 2013]. Рівень інгібування кінази HER-2 цією сполукою також виявився найвищим ($IC_{50} = 0,18$ мкМ).

Тiazолідиниони містять біологічно важливе п'ятичленне гетероциклічне кільце з двома гетероатомами, а саме атомом сірки в положенні 1 і атомом азоту у положенні 3, разом з карбонільною групою в позиціях 2, 4 або 5 [Nigwan et al., 2013]. Встановлено, що тiazолідиниони мають широкий спектр біологічних застосувань як протитуберкульозні, протимікробні, противірусні та протипухлинні засоби. (див. огляд [Matiadis, Sagnou, 2020]), що робить їх привабливою структурою для створення нових молекулярних гібридів.

Серед лідерів із синтезу і дослідження гібридів піразоліну, що містять тiazолідинон з високою цитотоксичною активністю, перебуває команда хіміків-фармацевтів на чолі з проф. Романом Лесиком, що працює у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького. Вони синтезували цілу бібліотеку переважно арилідену та кількох незаміщених кон'югатів тiazолону [Navrylyuk et al., 2008], протипухлинну активність яких *in vitro* було перевірено в Національному Інституті Раку (NCI, США). Проведений скринінг синтезованих сполук показав їхні середні значення GI_{50} і TGI на рівні 0,071 і 0,76 мкМ, відповідно. За своєю структурою ці сполуки є неконденсованими гібридними молекулами, що містять тiazолідинон, піразолін та індолон, причому наявність метоксигрупи в положенні 4 фенільного кільця С-5 була вирішальною для їхньої цитотоксичної активності. Аналоги, що містять піразольну структуру замість піразоліну без присутності тiazолонового кільця, володіли значно нижчою біологічною активністю.

Стероїди включають клас природних ліпідів, що містяться в тваринах, рослинах і грибах і виявляють широкий спектр біологічної активності. Завдяки своїй конформації та ліпофільності вони здатні проникати в клітини та зв'язуватися з рецепторами ядра та мембрани. Деякі з них були задокументовані як протипухлинні чинники, що інгібують активність таких ензимів як ароматаза і сульфаз в клітинах раку молочної залози, 5 α -редуктаза під час гіперплазії передміхурової залози і навіть як модулятори активності специфічних рецепторів, таких як рецептори естрогену або рецептори андрогену [Salvador et al., 2013]. Створені протиракові гібридні стероїдні молекули, які поєднують протипухлинну дію із гетероциклічним компонентом в одній структурі. У біль-

шості стероїдних кон'югатів здійснено приєднання піразолінової частини до D-кільця (п'ятичленного циклопентанового кільця) каркаса стероїдів або утворення нового піразолінового п'ятого кільця, приєданого на D-кільці.

Ідея створення гібридних молекул, що складаються з двох або більше терапевтичних одиниць в одній молекулі, виявилася досить плідною. Особливістю стратегії молекулярної гібридизації є забезпечення можливості розробки нових біологічно активних сполук, які націлені одночасно на кілька молекулярних мішеней, завдяки чому вони стають менш вразливими до факторів, що забезпечують множинну медикаментозну резистентність. Піразоліни, як молекули із потужною протипухлинною активністю, були відібрані багатьма дослідниками для розробки універсальних протипухлинних структур. Використання піразолінів для створення гібридних молекул, що містять додатковий гетероциклічний або негетероциклічний каркас, дає змогу синтезувати нові молекулярні структури із протипухлинною активністю, яка суттєво перевищує таку активність вихідних сполук.

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>.

World Health Organization. Cancer: Key Facts. Available online: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (accessed on 15 March 2020).

Morigi R, Locatelli A, Leoni A, Rambaldi M. Recent Patents on Thiazole Derivatives Endowed with Antitumor Activity. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery* [Internet]. Bentham Science Publishers Ltd.; 2015 Sep 16;10(3):280–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.2174/1574892810666150708110432>.

Leoni A, Locatelli A, Morigi R, Rambaldi M. Novel thiazole derivatives: a patent review (2008 – 2012; Part 1). *Expert Opinion on Therapeutic Patents* [Internet]. Informa Healthcare; 2013 Nov 12;24(2):201–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1517/13543776.2014.858121>

Leoni A, Locatelli A, Morigi R, Rambaldi M. Novel thiazole derivatives: a patent review (2008 – 2012. Part 2). *Expert Opinion on Therapeutic Patents* [Internet]. Informa Healthcare; 2014 Apr 19;24(7):759–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1517/13543776.2014.910196>

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>

Deb PK, Kaur R, Chandrasekaran B, Bala M, Gill D, Kaki VR, et al. Synthesis, anti-inflammatory evaluation, and docking studies of some new thiazole derivatives. *Medicinal Chemistry Research* [Internet]. Springer Science and Business Media LLC; 2013 Nov 9;23(6):2780–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00044-013-0861-4>

Xu Z, Zhao S-J, Liu Y. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as potential anticancer agents: Current developments, action mechanisms and structure-activity relationships. *European Journal*

- of Medicinal Chemistry [Internet]. Elsevier BV; 2019 Dec;183:111700. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111700>
- Attimarad MV, Khedr MA, Aldhubiab BE. Microwave Assisted Synthesis, Pharmacological Activities, and Molecular Docking Studies of Ethyl 2-[2-Substituted-4-(Thiophenyl)Thiazolyl] Acetates. *Iran J Pharm Res.* 2017 Fall;16(4):1379-1395. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29552047/>
- Shaaban MR, Mayhoub AS, Farag AM. Recent advances in the therapeutic applications of pyrazolines. *Expert Opin Ther Pat.* 2012 Mar;22(3):253-91. Available from: [10.1517/13543776.2012.667403](https://doi.org/10.1517/13543776.2012.667403).
- Havrylyuk D, Zimenkovsky B, Vasylenko O, Zaprutko L, Gzella A, Lesyk R. Synthesis of novel thiazolone-based compounds containing pyrazoline moiety and evaluation of their anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2009 Apr;44(4):1396–404. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.09.032>
- Shaharyar M, Abdullah MM, Bakht MA, Majeed J. Pyrazoline bearing benzimidazoles: Search for anticancer agent. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2010 Jan;45(1):114–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.09.032>
- Manna F, Chimenti F, Bolasco A, Secci D, Bizzarri B, Befani O, et al. Inhibition of amine oxidases activity by 1-acetyl-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* [Internet]. Elsevier BV; 2002 Dec;12(24):3629–33. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0960-894x\(02\)00699-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0960-894x(02)00699-6)
- Kobayashi H, Thambi Dorai JF, Ohnuma H, Ohnuma T. Reversal of drug sensitivity in multidrug-resistant tumor cells by an MDR1 (PGY1) ribozyme. *Cancer research* [Internet]. 1994; 54(5): 1271-5 .
- Scott Sawyer J, Beight DW, Britt KS, Anderson BD, Campbell RM, Goodson T, et al. Synthesis and activity of new aryl- and heteroaryl-substituted 5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-b]pyrazole inhibitors of the transforming growth factor- β type I receptor kinase domain. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* [Internet]. Elsevier BV; 2004 Jul;14(13):3581–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.04.007>
- Shaaban MR, Mayhoub AS, Farag AM. Recent advances in the therapeutic applications of pyrazolines. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* [Internet]. Informa Healthcare; 2012 Mar;22(3):253–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1517/13543776.2012.667403>
- Vitaku E, Smith DT, Njardarson JT. Analysis of the Structural Diversity, Substitution Patterns, and Frequency of Nitrogen Heterocycles among U.S. FDA Approved Pharmaceuticals. *Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. American Chemical Society (ACS); 2014 Oct 7;57(24):10257–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/jm501100b>
- Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *The Lancet Oncology* [Internet]. Elsevier BV; 2014 Jul;15(8):852–61. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045\(14\)70228-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045(14)70228-1)
- Wu P, Nielsen TE, Clausen MH. FDA-approved small-molecule kinase inhibitors. *Trends in Pharmacological Sciences* [Internet]. Elsevier BV; 2015 Jul;36(7):422–39. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2015.04.005>.
- Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Flinn IW, Burger JA, Blum KA, et al. Targeting BTK with Ibrutinib in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *New England Journal of Medicine* [Internet]. Massachusetts Medical Society; 2013 Jul 4;369(1):32–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1215637>

- Yusuf M, Jain P. Synthetic and biological studies of pyrazolines and related heterocyclic compounds. *Arabian Journal of Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2014 Nov;7(5):553–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.09.013>
- Farooq S, Ngaini Z, Daud AI, Khairul WM. Microwave Assisted Synthesis and Antimicrobial Activities of Carboxylpyrazoline Derivatives: Molecular Docking and DFT Influence in Bioisosteric Replacement. *Polycyclic Aromatic Compounds* [Internet]. Informa UK Limited; 2021 Jun 21;1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/10406638.2021.1937236>
- Marella A, Rahmat Ali M, Tauquir Alam M, Saha R, Tanwar O, Akhter M, et al. Pyrazolines: A Biological Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* [Internet]. Bentham Science Publishers Ltd.; 2013 Apr 1;13(6):921–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.2174/1389557511313060012>.
- Alex JM, Kumar R. 4,5-Dihydro-1H-pyrazole: an indispensable scaffold. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* [Internet]. Informa UK Limited; 2013 Jul 1;29(3):427–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.3109/14756366.2013.795956>.
- Shaaban MR, Mayhoub AS, Farag AM. Recent advances in the therapeutic applications of pyrazolines. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* [Internet]. Informa Healthcare; 2012 Mar;22(3):253–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1517/13543776.2012.667403>.
- Kumar S, Bawa S, Drabu S, Kumar R, Gupta H. Biological Activities of Pyrazoline Derivatives -A Recent Development. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* [Internet]. Bentham Science Publishers Ltd.; 2009 Nov 1;4(3):154–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.2174/157489109789318569>.
- Bansal R, Singh R. Steroidal pyrazolines as a promising scaffold in drug discovery. *Future Medicinal Chemistry* [Internet]. Future Science Ltd; 2020 May;12(10):949–59. Available from: <http://dx.doi.org/10.4155/fmc-2019-0325>.
- Matiadis D, Sagnou M. Pyrazoline Hybrids as Promising Anticancer Agents: An Up-to-Date Overview. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. MDPI AG; 2020 Jul 31;21(15):5507. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21155507>
- Nepali K, Sharma S, Sharma M, Bedi PMS, Dhar KL. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. Elsevier BV; 2014 Apr;77:422–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.03.018>
- Appendino G, Jakupovic J, Varese M, Belloro E, Danieli B, Bombardelli E. *ChemInform Abstract: The Chemistry and Occurrence of Taxane Derivatives. Part 27. Synthesis of 7,9-Nitrogen-Substituted Paclitaxel Derivatives.* *ChemInform* [Internet]. Wiley; 2010 Aug 4;28(7) Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/chin.199707201>
- Lv PC, Li DD, Li QS, Lu X, Xiao ZP, Zhu HL. Synthesis, molecular docking and evaluation of thiazolyl-pyrazoline derivatives as EGFR TK inhibitors and potential anticancer agents. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2011 Sep 15;21(18):5374–7. Available from: [10.1016/j.bmcl.2011.07.010](http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.07.010).
- Sayed AR, Gomha SM, Abdelrazek FM, Farghaly MS, Hassan SA, Metz P. Design, efficient synthesis and molecular docking of some novel thiazolyl-pyrazole derivatives as anticancer agents [Internet]. *BMC Chem.* 2019 Sep 24;13(1):116. Available from: [10.1186/s13065-019-0632-5](https://doi.org/10.1186/s13065-019-0632-5).
- Nirwan S, Chahal V, Kakkar R. Thiazolidinones: Synthesis, Reactivity, and Their Biological Applications. *Journal of Heterocyclic Chemistry* [Internet]. Wiley; 2019 Mar 12;56(4):1239–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jhet.3514>

Salvador JAR, Carvalho JFS, Neves MAC, Silvestre SM, Leitão AJ, Silva MMC, et al. Anti-cancer steroids: linking natural and semi-synthetic compounds. Nat Prod Rep [Internet]. Royal Society of Chemistry (RSC); 2013;30(2):324–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/c2np20082a>

Наукове видання

Серія “Біологічні Студії”

ПРОТИПУХЛИННІ ПЕРСПЕКТИВИ СУЛЬФУРВМІСНИХ 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. . Тираж 200 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 №