УДК 615.01-015

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА И АЗАФЛУОРЕНА НА АКТИВНОСТЬ ОРНИТИНДЕКАРБОКСИЛАЗЫ В БЕСКЛЕТОЧНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЕ ИЗ РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

А.А. Шевченко, З.Ф. Хараева

ГОУ ВПО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова», г. Нальчик, <u>irafe@yandex.ru</u>

Проведен анализ результатов изучения характера и степени влияния производных бензимидазола и азафлуорена на ключевой фермент обмена полиаминов — орнитиндекарбоксилазу. Уровни полиаминов рассматривали как интегральные показатели активности клеток под влиянием тестируемых веществ. Выявлены вещества с потенциальной противоопухолевой активностью.

Ключевые слова: гетероциклические соединения, противоопухолевая активность.

THE INFLUENCE OF BENSILMINIDASOLE AND AZAFLUOREN ON ORNITINDECARBOKSILASE ACTIVITY IN NONCELLS TEST-SYSTEM OF REGENARATIVE RATS LIVER

A.A. Shevchenko, Z.F. Kharaeva

Kabardino-Balkarien State University, Nalchik, <u>irafe@yandex.ru</u>

The influence of bensilmidasol and azafluoren on ornitindecarboksilase activity in noncells test-system of regenerative rats liver was done. The levels of polyamines are the markers of activity of cells under influence of investigated substances. The substances with antitumor activity were discovered.

Keywords: heterocyclic substances, antitumor activity.

В настоящее время стало очевидным, что методология подходов к разработке новых перспективных химиотерапевтических соединений направленного действия с заранее заданными свойствами должна базироваться на фундаментальных исследованиях особенностей метаболизма опухолевой клетки. В этом отношении обмен полиаминов (ПА), являющихся эссенциальными факторами процессов клеточного роста и дифференцировки [6], с учетом

активности трансглутаминазы (ТГ) может служить удобной и надежной мишенью для поиска и конструирования противоопухолевых агентов, в частности, в качестве специфических ингибиторов ТГ и регуляторов активности ключевых ферментов обмена ПА. Была высказана гипотеза о том, что аналоги ПА способны замещать эндогенные ПА в клетке в участках связывания. Это приводит к нарушению функций внутриклеточных ПА [5]. Исследования огра-

ничились аналогами ПА алифатической структуры [7].

Однако предварительные результаты показали, что онкопротекторной активностью могут обладать также гетероциклические соединения, в частности, азафлуореновые и бензимидазольные [2] производные. Выбор данных веществ был обусловлен тем, что в их структуре можно выделить полиаминовые фрагменты. Изучение характера и степени влияния названных веществ на ключевые ферменты обмена ПА позволит сделать предположение об их возможном канцерогенном или противоопухолевом действии. Орнитиндекарбоксилаза (ОДК) — фермент, катализирующий образование полиамина путресцина во многих эукариотических клетках, характеризуется быстрой индукцией и очень коротким временем полусуществования.

Цель исследования

Изучение влияния производных бензимидазола и азафлуорена на активность орнитиндекарбоксилазы в бесклеточной тестсистеме из регенерирующей печени крыс.

Материалы и методы

В ходе эксперимента проводились исследования биологических свойств производных бензимидазола и азафлуорена.

Все вещества из группы производных метилксантина растворялись в воде, вещества оригинального синтеза — в диметилсульфоксиде (ДМСО) с добавлением кислот или щелочей (в зависимости от растворимости и устойчивости веществ), а в случаях труднорастворимости веществ использовалась ультразвуковая машина. Выбор именно этих соединений обусловлен сходством их структур со структурами соединений, противоопухолевая актив-

Влияние производных бензимидазола и азафлуорена на активность орнитиндекарбоксилазы в бесклеточной тест-системе

из регенерирующей печени крыс

| me become by tellers me term where | | |
|------------------------------------|-------------------------------|------------------|
| Вещество | Активность ОДК, нкат/мг белка | Ингибирование, % |
| Контроль | 12,96±0,07 | 0 |
| 1A | 6,32± 0,05 | 51,23 |
| 2A | 7,25±0,08* 67,13 | 44,06 |
| 3A | 4,26±0,06* | 67,13 |
| 4A | 8,33±0,07* | 35,73 |
| 5A | 9,23±0,05* | 28,78 |
| 6A | 10,98±0,07* | 15,28 |
| 7A | 8,00±0,06* | 38,27 |
| 8A | 3,61±0,08* | 72,14 |
| 9A | 5,02±0,06* | 61,26 |
| 10A | 2,18±0,06* | 83,18 |
| 11A | 10,00 ±0,08* | 22,84 |
| 12A | 7,56±0,06* | 41,67 |

Примечание: результаты представлены в виде $M\pm$ т для 9 проб

^{*}Статистически достоверные отличия от контроля, P < 0.05

ность которых доказана [4]. Были исследованы: 1A - 7-аминопиридо $[1,2-\alpha]$ бензимидазол; 2A - 7-нитропиридо $[1,2-\alpha]$ бензимидазол; 3A - 1-амино-4-азафлуорен; 4A - 1-амино-4-азафлуоренол; 7A - 9- $[\alpha$ -пиридиламинометилен]-4-азафлуорен; 8A-1-амино-9-фениламино-4 азафлуорен; 9A - 1-амино-4-азафлуоренон-9; 10A - 1,4-диазоацетонафтилен [1,2-f]-флуорантен.

В экспериментах были использованы белые беспородные крысы-самцы массой 100–130 г, содержащихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Для получения бесклеточной тестсистемы выполнялась стандартная парциальная гепатэктомия по методике Higgins, Anderson.

Совместное определение активности ключевого фермента синтеза полиаминов — ОДК проводилось методом ВЭЖХ. Для расчета удельных активностей ОДК, выраженных в нанокаталах на миллиграмм белка, проводилось определение концентрации белка в каждой пробе ткани регенерирующей печени. Определение проводилось по методу Lowry в модификации С. П.Сяткина [1]. Статистическую обработку проводили стандартными методами.

Результаты

Количественная оценка влияния синтетических аналогов ПА из исследуемых групп на обмен ПА в бесклеточной тест-системе из регенерирующей печени крыс определялась по влиянию на активность ОДК.

Следует отметить, что все исследованные вещества проявили ингибирующее действие на активность ОДК. Самыми активными оказались вещества 1A, 3A, 8A и 10A (табл-

ица). Уровни ПА рассматривали как интегральные показатели изменения баланса скорости распада и синтеза ПА под влиянием тестируемых веществ. Так как ключевым ферментом метаболизма полиаминов является орнитиндекарбоксилаза, свидетельствующая об активности метаболизма клетки, выявленная активность веществ 1А, 3A, 8A, 10A позволяет предположить существование противовопухолевой активности и требует дальнейших исследований.

Работа выполнена при поддержке гранта НК-125П Федеральной целевой программы «Научные и научнопедагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.

Список литературы

- 1. Сяткин С.П. Микрометод флуорометрического определения полиаминов и путресцина тканей животных тонкослойной хроматографией на пластинках Силуфола УВ-254 // Вопр. мед. химии. 1981. Т. 27, № 6. С. 848–851.
- 2. Сяткин С.П., Березов Т.Т., Гридина Н.Я. и др. Полиамины как биохимические маркеры антипролиферативного действия ингибиторов ферментов биосинтеза полиаминов и путресцина в культуре L-клеток//Вопр. мед. химии. 1991. Т. 37, № 6. С. 77—81.
- 3. Сяткин С.П., Березов Т.Т., Гридина Н.Я. и др. Полиамины как биохимические маркеры антипролиферативного действия ингибиторов ферментов биосинтеза полиаминов и путресцина в культуре L-клеток//Вопр. мед. химии. 1991. Т. 37, № 6. С.77–81.
- 4. Byers TL., Pegg AE. Regulation of polyamine transport in Chinese hamster

ovary cells//J. Biol Chem. — 2004, Jul 16. — V. 279(29). — P. 29921–29929.

5. Pines J. The cell cycle kinases//Semin. Cancer Biol. — 1994. — V. 5. — P. 305–313.

6. Sarkar FH, Yiwei L. Using chemopreventive agents to enhance the efficacy of cancer

therapy // Can. Res. — 2006. — V. 66 (7). — P. 3347–3350.

7. Wallace HM. Polyamine catabolism in mammalian cells: excretion and acetylation// Med.Sci.Res. — 1987. — V.15. — P.1437–1440.