

УДК 615.01-015

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ОРИГИНАЛЬНОГО СИНТЕЗА НА БЕСКЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ

Шевченко А.А.

*ГОУ ВПО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М.Бербекова», Нальчик,
e-mail: irafe@yandex.ru*

Проведен анализ биологических свойств пяти групп веществ оригинального синтеза на бесклеточном уровне (модель регенерирующей печени). 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 STUDY OF BIOLOGICAL EFFECTS OF ORIGINAL SYNTHESIZED CHEMICAL SUBSTANCES IN NONCELLS LEVEL

Shevchenko A.A.

Kabardino-Balkarian State University, Nalchik, e-mail: irafe@yandex.ru

The influence of original synthesized chemical substances 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

Методология подходов разработки 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 [1, 3, 4, 5], с учетом активности транслугтаминазы (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 [6].

Однако предварительные результаты показали, что онкопротекторной активностью могут обладать также гетероциклические соединения, в частности, бис-уридилные, азафлуореновые и бензимидазольные производные, а также алкалоиды [2, 5]. 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. Целью исследования было изучение биологических

свойств химических веществ оригинального синтеза на бесклеточном уровне.

В ходе эксперимента проводились исследования биологических свойств метиленовых производных ксантина, соединений оригинального синтеза – структурных аналогов полиаминов, условно разделенных на группы: А – производные бензимидазола и азафлуорена; Б – производные анилина; В – производные диоксаборенинопиридина; Г – производные пиперидона; Д – производные азафлуорена.

Для получения бесклеточной тест-системы выполнялась стандартная парциальная гепатэктомия. Для определения скорости окислительного дезаминирования ди- и полиаминов из большого числа различных методов в качестве прототипа выбрали спектрофотометрический метод измерения активности гистидазы в плазме крови кролика в модификации Gordon и Peters. Активность диаимнооксидазы (ДАО) и полиаминоксидазы (ПАО) определялась спектрофотометрическим микрометодом. Совместное определение активности ключевого фермента синтеза полиаминов – орнитиндекарбоксилазы (ОДК) и уровней полиаминов проводилось методом ВЭЖХ. Для расчета удельных активностей ОДК и аминоксидаз, выраженных в нанокаталах на миллиграмм белка, проводилось определение концентрации белка в каждой пробе ткани. Определение проводилось по методу Lowry в модификации С.П. Сяткина [2].

Результаты исследований и их обсуждение

Количественная оценка влияния синтетических аналогов из исследуемых групп на обмен ПА в бесклеточной тест-системе из регенерирующей печени крыс определялась по характеру и величине их действия на активность аминоксидаз – ПАО и ДАО.

Полученные экспериментальные данные представлены в таблице. Полученные результаты свидетельствуют о том, что все исследованные вещества группы А, кроме 1А, существенно увеличивают распад спермина (См). Окисление путресцина (Пут) ускоряют соединения 3А, 10А и 12А, а спермидина (Сд) – 4А, 7А, 9А и 10А.

Влияние производных бензимидазола и азафлуорена (группа А) на скорость окислительного дезаминирования путресцина, спермина и спермидина и активность орнитиндекарбоксилазы в бесклеточной тест-системе из регенерирующей печени крыс

Вещество	V Пут, нкат\мг белка	VSд, нкат\мг белка	V См, нкат\мг белка	Активность ОДК, нкат/мг белка	Ингибирование активности ОДК, %
Контроль	13,5 ± 0,05	24,0 ± 2,05	6,0 ± 0,05	12,96 ± 0,07	0
1А	9,0 ± 0,02	6,1 ± 0,05*	6,0 ± 0,05	6,32 ± 0,05	51,23
2А	3,3 ± 0,03*	0,5 ± 0,05*	29,6 ± 0,55*	7,25 ± 0,08*	44,06
3А	14,5 ± 0,05	13,4 ± 0,15*	32,1 ± 1,00*	4,26 ± 0,06*	67,13
4А	5,1 ± 0,03*	29,4 ± 0,25	28,5 ± 0,75*	8,33 ± 0,07*	35,73
5А	3,5 ± 0,01*	9,4 ± 0,05*	27,0 ± 0,55*	9,23 ± 0,05*	28,78
6А	1,2 ± 0,05*	15,0 ± 0,15*	26,3 ± 0,55*	10,98 ± 0,07*	15,28
7А	10,0 ± 0,05	30,0 ± 0,6	22,1 ± 0,65*	8,00 ± 0,06*	38,27
8А	6,0 ± 0,05*	21,4 ± 0,85	32,1 ± 1,05*	3,61 ± 0,08*	72,14
9А	10,0 ± 0,05	35,6 ± 0,9*	23,0 ± 0,65*	5,02 ± 0,06*	61,26
10А	22,3 ± 0,07*	38,4 ± 0,85*	24,0 ± 0,75*	2,18 ± 0,06*	83,18
11А	5,5 ± 0,04*	11,2 ± 0,05*	20,5 ± 0,65*	10,00 ± 0,08*	22,84
12А	14,7 ± 0,06	25,0 ± 0,7	23,1 ± 1,05*	7,56 ± 0,06*	41,67

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

* – статистически достоверные отличия по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

** – скорость окислительного дезаминирования.

Следует отметить, что все исследованные вещества проявили ингибирующее действие на активность ОДК. Самыми активными оказались вещества 1А, 3А, 8А и 10А. Уровни ПА рассматривали как интегральные показатели изменения баланса скорости распада и синтеза ПА под влиянием тестируемых веществ. Все исследованные соединения вызывали снижение уровней Пут и ПА. Наиболее эффективными оказались 3А, 8А и 10А.

Все протестированные соединения группы Б вызывали статистически достоверные изменения в скорости окислительного дезаминирования ПА ($p < 0,05$). Вещество 9Б ингибировало дезаминирование Сд (на 35%), а вещество 11Б – Пут (на 14%) и См (на 9%). Это позволяет прогнозировать у них канцерогенные свойства. Все остальные вещества проявили канцерогенные свойства, активируя процесс окислительного дезаминирования. Довольно резкая активация См наблюдалась при действии вещества 5Б. Наибольшее активирующее действие на окислительный распад всех трех ПА оказало вещество 3Б.

Все тестируемые вещества группы В также вызывали статистически достоверные изменения активностей ДАО и ПАО. Процесс окислительного дезаминирования Пут значительно ингибировался всеми тестируемыми веществами этой группы. Скорость окислительного дезаминирования Сд уменьшалась в 2 раза, См – уменьшалась незначительно или оставался неизменным (при действии СоА2 и СоА3). Это позволило предположить наличие у всех исследуемых веществ данной группы канцерогенных свойств. Соединения группы – производные пиперидона значительно окислительное дезаминирование: скорость окислительного дезаминирования Сд уменьшалась в 1,6 раза, См – уменьшалась незначительно или оставался неизменным (при действии 1Г и 4Г). Это позволило предположить наличие у всех исследуемых веществ данной группы канцерогенных свойств. Таким образом, производные азафлуорена на бесклеточном уровне (тест-системы из регенерирующей и опухолевой ткани) демонстрируют потенциальные онкопротекторные свойства, существенно

снижая уровни и скорость синтеза путресцина и полиаминов, при этом существенно повышая скорость окислительного дезаминирования этих веществ.

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

Список литературы

1. Полиамины как биохимические маркеры антипролиферативного действия ингибиторов ферментов биосинтеза полиаминов и путресцина в культуре L-клеток / С.П. Сяткин, Т.Т. Березов, Н.Я. Гридина и др. // Вопр. мед. химии. – 1991. – Т. 37, № 6. – С. 77–81.
2. Сяткин С.П. Модифицированный метод определения белка в пробах с повышенным содержанием липо- и гликопротеидов // Вопр. мед. химии. – 1981. – Т. 27, № 1. – С. 136–138.
3. Byers TL, Pegg AE. Regulation of polyamine transport in Chinese hamster ovary cells // J. Biol Chem. 2004 Jul 16. – Vol. 279(29). – P. 29921–29929.

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

5. Sarkar FH, Yiwei L. Using chemopreventive agents to enhance the efficacy of cancer therapy // Can. Res. – 2006. – Vol. 66 (7). – P. 3347–3350.

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

Рецензенты:

Михальчик Е.В., д.б.н, ведущий научный сотрудник лаборатории биофизических методов исследований НИИФХМ ФМБА РФ, г. Москва;

Иванова М.Р., д.м.н., профессор кафедры общей и биологической химии Кабардино-Балкарского государственного университета, г. Нальчик.