



К.В. Александрова, Н.В. Бухтіярова, І.Ф. Беленічев, О.С. Шкода, С.В. Левіч

## Пошук цитостатиків з мінімальним проявом нейротоксичної дії серед похідних пурину

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** похідне пурину, нейротоксичність, система глутатіону.

**Ключевые слова:** производное пурина, нейротоксичность, система глутатиона.

**Key words:** purine derivative, neurotoxicity, glutathione system.

У дослідях на щурах встановлено, що похідне пурину – сполука з лабораторним шифром С-87 – при введенні у шлунок у дозі 100 мг/кг виявляє меншу нейротоксичну дію на організм, у порівнянні з відомими цитостатиками (азатиоприн, тіаміприн, 6-меркаптопурин, тіогуанін) в однакових умовах проведення дослідю.

В експериментах на крысах установлено, что производное пурина – соединение с лабораторным шифром С-87 – при введении в желудок в дозе 100 мг/кг проявляет меньшее нейротоксическое действие на организм, в сравнении с известными цитостатиками (азатиоприн, тиамиприн, 6-меркаптопурин, тиогуанин) в одинаковых условиях проведения опыта.

In experiments on rats it was investigated that Purine derivative with laboratory code С-87 in dose 100 mg/kg intrastomach shows less neurotoxic action on organism compared to known cytostatics (azathioprine, thiamiprine, 6-mercaptopurine and 6-thioguanine).

Останніми роками у лікуванні хворих зі злоякісними новоутвореннями досягнуто певних успіхів, пов'язаних з упровадженням у клінічну практику нових протипухлинних препаратів і схем їх введення. Головною перешкодою в досягненні бажаного ефекту є вроджена чи набута резистентність пухлин до лікарських препаратів і променевої дії, а також висока токсичність цих проявів, що нерідко обмежує проведення інтенсивної протипухлинної терапії [1,2]. Одним із специфічних ускладнень протипухлинної терапії є нейротоксичність – системне ускладнення, що знижує якість життя пацієнтів і що в ряді випадків обмежує ефективну дозу цитостатиків. Зазначені факти становлять підґрунтя для проведення цього дослідження, задачею якого було подати характеристику нейротоксичного впливу нового похідного пурину С-87 на організм.

### Мета роботи

Виявити ступінь нейротоксичності нового похідного пурину С-87 у порівнянні з відомими цитостатиками.

### Матеріали і методи дослідження

З метою оцінювання нейротоксичної дії отриманих сполук з цитостатичною активністю проведено ресинтез сполуки С-87 і референтних препаратів за методикою [3,4]. В експерименті використано білих безпородних щурів обох статей масою 160–180 г, отриманих з розплідника Інституту фармакології і токсикології АМН України. Тварин, що не відповідали критеріям, вилучено з дослідження протягом карантину. Всі експериментальні процедури здійснювали відповідно до «Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях». Досліджувані препарати вводили в шлунок за допомогою металевого зонда у вигляді суспензії, стабілізованої Твіном-80. Препарати вводили один раз на добу протягом 10 днів у дозі 100 мг/кг.

Вивчали вплив досліджуваних препаратів на орієнтовально-дослідницьку активність експериментальних тварин в умовах «відкритого поля» й на зберігання у

них умовної реакції пасивного уникання (УРПУ) [8]. Також вивчали вплив досліджуваних сполук на показники системи глутатіону й окислювальної модифікації білків (ОМБ) – АФГ та КФГ у головному мозку експериментальних тварин [6,8]. Статистичну обробку результатів проводили методами математичної статистики з застосуванням пакетів прикладних програм «Біостатистика для Windows, версія 4.03» і «Microsoft Excel 2002». Для кожної досліджуваної ознаки визначали показники середнього арифметичного ( $M$ ) і стандартної помилки середнього арифметичного ( $m$ ). Нормальність розподілу перевіряли з використанням тесту Колмогорова-Смирнова. За умови відповідності нормальності розподілу достовірність відмінностей досліджуваних величин оцінювали з використанням  $t$ -критерію Стьюдента. Достовірність відмінностей відносних величин оцінено із застосуванням критерію  $\chi^2$ . Достовірними вважали відмінності з рівнем значущості більше 95% ( $p \leq 0,05$ ) [8].

### Результати та їх обговорення

Через 10 діб після введення досліджуваних препаратів спостерігалось статистично вірогідне зниження всіх параметрів поведінки (вертикальній, горизонтальній руховій активності й емоційній реакції) у «відкритому полі», у порівнянні з контрольною групою ( $p \leq 0,05$ ), якій вводили тільки фізіологічний розчин.

А отже, цитостатики мають нейротоксичний ефект, оскільки порушення параметрів поведінки й орієнтації тварин є індикатором, що свідчить про розвиток нейротоксичного ефекту.

Введення нового похідного пурину (ксантину) призвело до статистично вірогідного підвищення показників емоційної і рухової активності у щурів ( $p \leq 0,05$ ), у порівнянні з групою тварин, що отримували тільки відомі цитостатики. Це вказує на безпеку препарату, тобто здатність знижувати нейротоксичність (табл. 1).

Таблиця 1

**Вплив досліджуваних препаратів на орієнтувально-дослідницьку активність експериментальних тварин**

Експериментальні групи	Горизонтальних переміщень	Вставань на задні лапи	Заглядань в отвір у підлозі
Контрольна	44,1±2,36	18,1±1,44	38,7±3,12
6-меркаптоурин	23,7±3,11*	10,0±1,32*	19,4±2,11*
С-87	41,1±2,11	16,8±2,12	37,5±1,89
6-тіогуанін	31,8±2,33	12,8±2	12,7±2,63*
Метронідазол	28,7±3,12*	14±1,72	15,4±1,11*
Азатиоприн	18,7±1,12*	10±1,12*	12,4±1211*
Тіаміприн	17,7±2,31*	9±1*	5,4±1*

Примітка: \* –  $p < 0,05$  відносно контролю.

Подібні дані про зниження нейротоксичності отримано при вивченні впливу препаратів на показники пам'яті в тесті УРПП (табл. 2).

Таблиця 2

**Вплив досліджуваних препаратів на латентний час умовної реакції пасивного побігання (УРПП) у експериментальних тварин**

Експериментальні групи	Латентний час до навчання, с	Латентний час після навчання, с
Контрольна	14,8±2,55	138,8±11
6-меркаптоурин	15±1	48,0±7*
С-87	12±2	105,4±9
6-тіогуанін	10,6±2,31	52,5±7,3*
Метронідазол	10,1±3,11	62,5±6,3*
Азатиоприн	11,4±2,31	57,5±4,1*
Тіаміприн	9,1±1,22	32,5±4,1*

Примітка: \* –  $p < 0,05$  відносно контролю.

Основним механізмом ушкоджуючої дії при хіміотерапії і променевої дії є надмірна генерація активних форм кисню та радикалів у результаті активації мікросомального окислення та радіолізу води. Оборотна реакція клітин зумовлена станом антиоксидантної системи, що підтверджується численними даними спеціальної літератури [5–7]. Ключова роль у захисті клітин від окислювального стресу належить системі глутатіону, при деривації якої в нейроні відбувається вторинна генерація АФК, що призводить до окислювальної модифікації білкових молекул. Тому доцільно було вивчити вплив похідного ксантину на систему глутатіону й ОМБ при його використанні в нейротоксичній дозі.

Введення досліджуваних препаратів у нейротоксичних дозах призводило до суттєвого зниження рівня відновленого глутатіону й збільшенню кількості продуктів ОМБ у головному мозку експериментальних тварин. Вміст АФГ, КФГ й окисленого глутатіону при цьому значно підвищувався, й відношення GSH/GSSG знижувалось, що свідчить про активацію процесів окислювального стресу в тканині мозку (табл. 3,4).

Таблиця 3

**Вплив досліджуваних препаратів на показники окислювальної модифікації білків (ОМБ) в мозку експериментальних тварин**

Група тварин	Продукти ОМБ, у.о./г білка	
	АФГ (270 нм)	КФГ (363 нм)
Контрольна	0,52±0,04	1±0,8
6-меркаптоурин	2,58±0,7*	3,97±0,11*
С-87	0,93±0,02	2,51±0,2
6-тіогуанін	1,78±0,05*	3,21±0,29*
Метронідазол	1,55±0,7*	2,11±0,11*
Азатиоприн	2,77±0,3*	4,88±0,14*
Тіаміприн	2,67±0,4*	4,55±0,1*

Примітка: \* –  $p < 0,05$  відносно контролю.

Таблиця 4

**Вплив досліджуваних препаратів на вміст відновленого (GSH), окисленого (GSSG) глутатіону й відношення GSH/GSSG в мозку експериментальних тварин**

Групи тварин	GSH (мкмоль/г тканини)	GSSG (нмоль/г)	GSH/GSSG
Контрольна	1,34±0,08	8,48±0,53	163
6-меркаптоурин	0,95±0,08*	10,64±0,64*	89*
С-87	1,06±0,08	10,08±0,35	104
6-тіогуанін	0,9±0,05**	107,7±0,3**	84*
Метронідазол	0,97±0,04*	11,64±0,21*	83*
Азатиоприн	0,9±0,08*	12,11±0,32*	74*
Тіаміприн	0,92±0,07*	13,22±0,11*	69*

Примітка: \* –  $p < 0,05$  відносно контролю.

Попереднє введення тварині нового похідного пурину С-87 призводило до підвищення рівня GSH і зниження рівня окисленого глутатіону і продуктів ОМБ, у порівнянні з групою тварин, що отримували широко вживані цитостатики й імунодепресанти. У результаті цього відбувалось відновлення відношення GSH/GSSG, що свідчить про зниження інтенсивності окислювального стресу.

**Висновки**

У результаті проведених досліджень вперше показано цілий ряд модулюючих ефектів нової сполуки С-87 – 6-(1-етил-2-метил-4-нітроїмідазоліл-5)тіоурин, похідного пурину (ксантину).

Встановлено, що одним з важливих механізмів зниження нейротоксичної дії у речовини С-87 в умовах індукції окислювального стресу є її властивість зберігати відновлені еквіваленти глутатіону й нормальне функціонування тіол-дисульфідної системи, що лімітує інтенсивність вільнорадикальних реакцій.

Отримані дані є патогенетичним обґрунтуванням для використання похідного пурину у якості потенційного цитостатика з мінімальним проявом нейротоксичної дії.

### Література

1. *Fulda S.* Molecular aspects of apoptosis induced by anticancer drugs in neuroblastoma cells / Fulda S., Susin S.A., Kroemer G // *Cancr Res.* – 1998. – №58. – P. 4453–4460.
2. *Ruiz-George O.M.* Prolonged cold ischemia: risk factor for acute rejection in renal grafting of cadaveric kidney transplantation / Ruiz-George O.M., Trujillo-Hernandez B., Millan-Guerrero R.O., Vasquez-Jimenez C // *Cir Cir.* – 2009. – №77(5). – P. 381–384.
3. *Кочергин П.М.* Рациональные химические схемы получения медицинских препаратов пуринового ряда (обзор) / Кочергин П.М., Александрова Е.В., Персанова Л.В. // *Хим.-фарм. журн.* – 2001. – Т. 35 (7). – С. 41–45.
4. *Кочергин П.М.* Синтез 2-амино-6-(нитроимидазолил)тиопуринов / Кочергин П.М., Александрова Е.В., Корсунский В.С., Шлихунова В.С. // *Химия гетероцикл. соедин.* – 2000. – №2. – С. 221–224.
5. *Губський Ю.І.* Основні шляхи утворення активних форм кисню в нормі та при ішемічних патологіях / Губський Ю.І., Беленічев І.Ф., Коваленко С.І. та ін. // *Совр. пробл. токсикол.* – 2004. – №2. – С. 8–16.
6. *Беленічев І.Ф.* Антиоксидантна система захисту організму (огляд літератури) / Беленічев І.Ф., Губський Ю.І., Левицький Є.Л. та ін. // *Совр. пробл. токсикол.* – 2002. – №3. – С. 24–31.
7. *Cao W.* Oxygen free radical involvement in ischemia and reperfusion injury to brain / Cao W., Carney J.M. // *Neurosci. Lett.* – 2000. – V.88, №4. – P. 233–238.
8. *Стефанов А.В.* Доклиническое изучение лекарственных средств / Стефанов А.В. – К.: Авиценна, 2002. – С. 347.

### Відомості про авторів:

Александрова К.В., д. хім. н., зав. каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики ЗДМУ.

Бухтіарова Н.В., к. біол. н., доцент каф. фармакології та медичної рецептури ЗДМУ.

Беленічев І.Ф., д. біол. н., професор, зав. каф. фармакології та медичної рецептури ЗДМУ.

Шкода О.С., к. фарм. н., асистент каф. органічної хімії ЗДМУ.

Левіч С.В., студент 5 курсу фармацевтичного факультету ЗДМУ.

### Адреса для листування:

Александрова К.В. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, ЗДМУ, каф. біологічної хімії та лабораторної діагностики.  
Тел.: (096) 355 00 92.