

8. Kozyra S.A. Study of phenolic connections in plants of *Geum* L. sort / S.A. Kozyra, M.A. Kulagina, A.G. Serbin // Матеріали VII міжнародного симпозиума по фенольным соединениям: фундаментальные и прикладные аспекты (Москва, 19-23 окт. 2009 г.). - М., 2009. - С. 297-298.

9. Quantitative determination of flavonoids sum in the plants of *Geum* L. genus / С.А. Козыра, М.А. Кулагина, О.В. Радько, А.Г. Сербин // Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения: матер. научно-практич. конференции (23-28 мая 2011). - Новый Свет, 2011. - С. 256-257.

#### Резюме

**Козыра С.А.** Вивчення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у вегетативних органах рослин роду *Geum* L.

В траві, кореневищах з коренями *G. aleppicum*, *G. rivale*, *G. urbanum* методом УФ-спектрофотометрії вивчено кількісний вміст гідроксикоричних кислот. Показано, що максимальний вміст гідроксикоричних кислот спостерігається в підземній частині досліджуваних видів.

**Ключові слова:** *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L., *G. urbanum* L. трава, кореневище з коренями, гідроксикоричні кислоти.

#### Резюме

**Козыра С.А.** Изучение количественного содержания гидроксикоричных кислот в вегетативных органах растений рода *Geum* L.

В траве, корневищах с корнями *G. aleppicum*, *G. rivale*, *G. urbanum* методом УФ-спектрофотометрии изучено количественное содержание гидроксикоричных кислот. Показано, что максимальное содержание гидроксикоричных кислот наблюдается в подземной части исследуемых видов.

**Ключевые слова:** *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L., *G. urbanum* L. трава, корневища с корнями, гидроксикоричные кислоты.

#### Summary

**Kozyra S.A.** Study of quantitative content of hydroxycinnamic acids in vegetative organs of plants of the genus *Geum* L.

In the herb, rhizome with roots of *G. aleppicum*, *G. rivale*, *G. urbanum* by UV spectrophotometry the quantitative content of hydroxycinnamic acids was studied. It is shown that the maximum content of hydroxycinnamic acids observed in the underground part of investigated species.

**Key words:** *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L., *G. urbanum* L. herb of rhizome with roots, hydroxycinnamic acid.

*Рецензент: д.фарм.н., проф. А.Г. Сербин*

УДК 616.018: 612.325+57.044

## ВПЛИВ СПОЛУКИ З ЦИТОСТАТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ ПОХІДНОГО ДИГІДРОПІРОЛУ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ШЛУНКУ ЩУРІВ У ПОРІВНЯННІ З 5-ФТОРУРАЦИЛОМ

**В.К. Луженецька, Г.М. Кузнецова**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної  
медицини» Державного управління справами (Київ)*

#### Вступ

Більшість препаратів, що застосовуються на даний час для лікування злоякісних новоутворень, характеризуються високою токсичністю, яка часто випереджає лікувальний ефект. На сьогодні поширеними протипухлинними агентами є антиметаболіти, зокрема структурні аналоги нуклеотидів, які порушують синтез ДНК і таким чином пригнічують поділ клітин [1]. Через такі особливості найбільш частими побічними ефектами при терапії є ускладнення з боку тканин з високою проліферативною активністю, зокрема системи кровотворення і шлунково-кишкового тракту [2]. Тому актуальним є пошук нових препаратів, які б поєднували високу активність щодо ракових клітин та низьку токсичність для організму.

Останнім часом привертають до себе увагу інгібітори протеїнкіназ як специфічні інгібітори проліферативної активності [3]. Але їх системний вплив, зокрема на нормальні інтенсивно проліферуючі тканини, є малодослідженим. Особливо це стосується малих молекул - інгібіторів протеїнкіназ, які є гарною альтернативою моноклональним антитілам в плані універсальності щодо молекули-мішені (так звані «мультицільні препарати») та вартості [4]. Перспективними сполуками в якості таких специфічних протипухлинних агентів є похідні дигідропіролу, синтезовані Науково-виробничим хіміко-біологічним центром Київського національного університету імені Тараса Шевченка методом *in silico* дизайну як структурні аналоги цільних інгібіторів протеїнкіназ, що завдяки просторовій структурі молекул можуть взаємодіяти з АТФ-зв'язуючим центром цих ферментів і ефективно їх блокувати. Найбільша цитостатична активність *in vitro* та *in vivo* була встановлена для сполуки 5-аміно-

4-(1,3-бензотіазол-2-іл)-1-(3-метоксифеніл)-1,2-дигідро-3H-пірол-3-ону (надалі Д1) [5-7]. Також було показано відносну безпечність даної сполуки для кишечника при пероральному застосуванні [8].

При пероральному введенні лікарських препаратів першими органами, що з ними контактують, є ротова порожнина та шлунок. Оцінка токсичності діючої речовини за таких умов є важливим критерієм можливості подальшої розробки препарату на її основі.

Тому **метою** роботи було дослідити вплив похідного дигідропіролу Д1 на слизову оболонку шлунку щурів при тривалому пероральному введенні. У якості препарату порівняння було обрано 5-фторурацил (5-Фтор-2,4-(1H,3H)-піримідиндіон), що вже багато років є основою хіміотерапевтичних схем при лікуванні колоректального раку людини [1]. Також було досліджено сумісний вплив даних сполук.

#### Матеріали і методи дослідження

Дослідження проведені відповідно до принципів біоетики, законодавчих норм та положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Стразбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Дослідження проводили на 40 статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях з початковою масою тіла 120-130 г. Щурів утримували в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні при природному освітленні. Експеримент тривав 7 тижнів. Д1 вводили *per os* щоденно натще у дозі 2,3 мг/кг маси тіла (що за умов повного всмоктування створює концентрацію його в крові  $10^{-4}$ М) розчиненим у соняшниковій олії та 15% ДМСО (всього 0,1 мл) [6]. 5-ФУ вводили внутрішньоочеревинно щотижнево в дозі 45 мг/кг (1/5 LD50) маси тіла, розчиненим у фізіологічному розчині (0,32-0,34 мл в залежності від маси тіла тварини) [9]. Контрольні тварини отримували відповідні розчинники в еквівалентних об'ємах такими ж способами протягом тих же термінів. Щури були розподілені на 4 групи: 1 – контроль, 2 – група Д1, 3 – група 5-ФУ, 4 – група Д1+5-ФУ.

Після знеживлення під ефірним наркозом у тварин видаляли шлунок, який фіксували в рідині Буена протягом 14 діб. Для гістологічного дослідження виділяли фундальну частину шлунку та виготовляли парафінові зрізи товщиною 5-7 мкм, які забарвлювали гематоксилін-еозином з дофарбуванням оранжем G і заключали в канадський бальзам [10]. Морфологічні дослідження проводили за

допомогою світлового мікроскопу Axioskop 40 з фотокамерою Axio Cam Cam MR c5 (Karl Zeiss). Статистичну обробку даних здійснено за допомогою пакету програм Microsoft Excel for Windows. Міжгрупові відмінності вважали вірогідними при  $p < 0,05$ .

#### Отримані результати та їх обговорення

У тварин контрольної групи слизова оболонка шлунку мала типову гістологічну структуру без ознак патологічних процесів [11, 12]: м'язова та підслизова оболонки розвинені нормально, шлункові залози слизової оболонки розміщені компактно, клітинний склад і співвідношення головні: парієтальні клітини – в межах гістологічної норми (рис. 1).

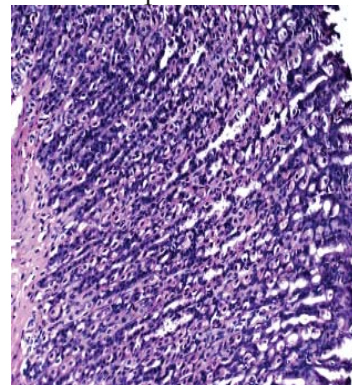


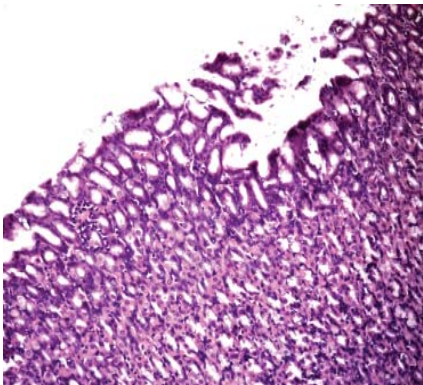
Рис. 1. Мікрофотографія зрізу фундального відділу шлунку щурів контрольної групи. Забарвлення гематоксилін-еозин-оранж, збільшення  $\times 200$ .

У групі Д1 морфологічні зміни строми шлункової стінки представлені помірним набряком підслизової оболонки та власної пластинки слизової оболонки, поодинокими зонами з ознаками запалення у вигляді лімфоїдно-гістіоцитарної інфільтрації. Подекуди спостерігалися ділянки поверхневої десквамації епітелію залоз, їх скелетизації та поверхневої деструкції (рис. 2). Парієтальні клітини шлункових залоз розвинені нормально, мали вигляд крупних клітин з рожевою цитоплазмою та світлим ядром. Подекуди спостерігалися двоядерні

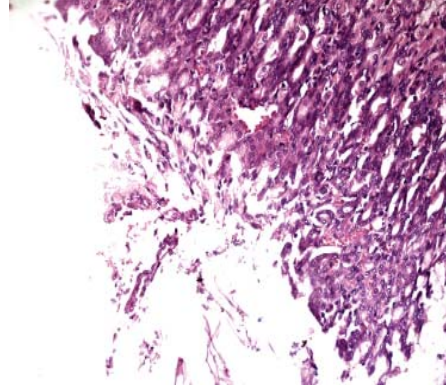
клітини, що свідчить про посилення секреції соляної кислоти, яке є одним з патогенетичних чинників формування деструктивно-запальних процесів у слизовій оболонці [13].

У тварин групи 5-ФУ морфологічні зміни слизової оболонки шлунку були більш вираженими: спостерігався виражений набряк підслизової оболонки, часті зони з ознаками запалення у вигляді вогнищевої лімфо-гістіоцитарної інфільтрації, поширені пошкодження поверхневого епітелію, що варіювали від пошкодження апікальної частини епітеліоцитів на верхівках залоз до ділянок повної десквамації епітелію залоз. На значній поверхні мала місце поверхнева скелетизація та поверхнева деструкція залоз, нашарування на поверхні епітелію (рис. 3). В зоні головних клітин у невеликій

кількості формувалися ділянки по типу кист, висланих циліндричним епітелієм, місцями на межі переходу зони парієтальних клітин у зону головних клітин спостерігалася дистрофія епітеліальних клітин з осередками некрозу. Подекуди дистрофічні зміни спостерігалися і в парієтальних клітинах.

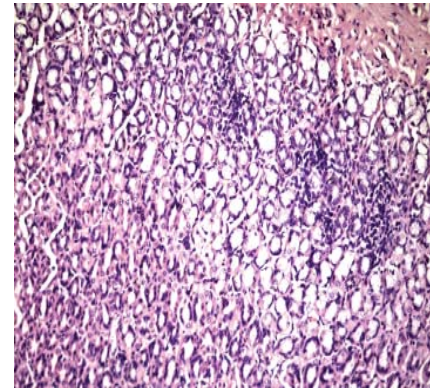


**Рис. 2.** Мікрофотографія зрізу фундального відділу шлунку щурів групи Д1 (вплив Д1 протягом 7 тижнів). Запалення слизової оболонки у вигляді лімфо-гістіоцитарної інфільтрації, та поверхневої деструкції залоз. Забарвлення гематоксилін-еозин-оранж, збільшення  $\times 200$ .



**Рис. 3.** Мікрофотографія фундального відділу шлунку щурів групи 5-ФУ (вплив 5-ФУ протягом 7 тижнів). Деструкція залоз слизової оболонки шлунку та нашарування на поверхні епітелію, крововиливи. Забарвлення гематоксилін-еозин-оранж, збільшення  $\times 200$ .

У слизовій оболонці шлунку щурів групи Д1+5-ФУ спостерігалися зміни, характерні як для групи Д1, так і для групи 5-ФУ. Ознаки запальних процесів у вигляді набряку та зон лімфоїдно-гістіоцитарної інфільтрації у підслизовій оболонці і власній пластинці слизової були виражені помірно (рис. 4). Пошкодження поверхневого епітелію, представлені ділянками поверхневої десквамації епітелію залоз, їх скелетизації та поверхневої деструкції, за інтенсивністю були подібними до таких у групі Д1. Натомість дистрофічні зміни головних клітин епітеліальної вистилки при сумісній дії досліджуваних сполук були більш вираженими порівняно з групою 5-ФУ: спостерігалися досить часто, іноді мали значну площу та подекуди захоплювали зону парієтальних клітин, супроводжувалися ознаками некрозу. В той же час у половини тварин слизова оболонка шлунку вказаних патологічних змін не мала.



**Рис. 4.** Мікрофотографія зрізу фундального відділу шлунку щурів групи Д1+5-ФУ (сумісний вплив Д1 і 5-ФУ протягом 7 тижнів). Набряк підслизової оболонки з зонами лімфо-гістіоцитарної інфільтрації. Забарвлення гематоксилін-еозин-оранж, збільшення  $\times 200$ .

## Висновки

1. Вплив Д1 на слизову оболонку шлунку щурів був незначним, проявлявся у вигляді невеликих ділянок десквамації епітелію поверхневих відділів шлункових залоз, подекуди скелетизованих залоз із втратою епітеліальних клітин, та вогнищевої лімфо-гістіоцитарної інфільтрації підслизової основи слизової оболонки.

2. 5-ФУ, навпаки, спричиняв досить значне пошкодження слизової оболонки у вигляді великих ділянок десквамації епітелію залоз, поверхневої деструкції залоз та нашарування на поверхні епітелію. Вогнищева помірна лімфо-гістіоцитарна інфільтрація підслизової основи слизової оболонки була більш розповсюдженою порівняно з ефектом Д1, подекуди мала місце дистрофія епітеліальних клітин з осередками некрозу та формування мікрокист.

3. При сумісній дії Д1 і 5-ФУ ознаки запалення, викликані 5-ФУ, дещо нівелювалися, десквамація епітелію та деструкція шлункових залоз були меншими, проте дистрофічні зміни епітелію поглиблювалися порівняно з реакцією на один 5-ФУ. Отримані дані свідчать про зростання ризику побічних ефектів з боку шлунку при сумісному застосуванні Д1 і сполук фторпіримідинового ряду.

4. Таким чином, похідне дигідропіролу при пероральному введенні значно менше впливає на слизову оболонку шлунку щурів порівняно з традиційним антинеопластичним препаратом 5-фторурацилом, і тому є перспективним у плані подальших досліджень як потенційний протипухлинний агент.

## Література

1. Олійниченко П.И. *Справочник по полихимиотерапии опухолей / П.И. Олійниченко, З.П. Булкина, Т.И. Синиборода. - Киев: Здоровье, 2000. - 301 с.*
2. Телетаева Г.М. *Профилактика и лечение желудочно-кишечных осложнений лекарственной терапии (тошнота и рвота, мукозиты, диарея) / Г.М. Телетаева // Практическая онкология. - 2009. - Т. 10, № 3. - С. 158-167.*

3. Dancey J. Issues and progress with protein kinase inhibitors for cancer treatment / J. Dancey, E.A. Sausville // *Nature Rev. Drug Discovery*. – 2003. – Vol. 2, № 4. – P. 296-313.

4. Имянитов Е.Н. Обице представления о таргетной терапии / Е.Н. Имянитов // *Практ. Онкология*. – 2010. – Т. 11, № 3. – С. 123-130.

5. Цитотоксичний вплив на пухлинні клітини *in vitro* агентів з проти-пухлинним та анти метастатичним ефектом / Л.В. Гарманчук, Н.В. Сенчило, В.В. Нікуліна [та ін.] // *Фізика живого*. – 2011. – Т. 19, № 2. – С. 51-53.

6. Кузнєцова Г.М. Протипухлинна дія цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу при хемо-індукованому канцерогенезі товстої кишки щурів. / Г.М. Кузнєцова // *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: зб.наук.праць*. – Київ; Луганськ, 2011. – Вип. 5 (107). – С. 66-74.

7. Пат. на корисну модель № 22204 (UA), АБ1К31/40. Сполука 1,4-замісних 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-онів, що має протиракову активність / Дубініна Г.Г., Воловенко Ю.М. – Опубл. 25.04.2007, Бюлл. №5.

8. Кузнєцова Г.М. Порівняння впливу цитостатичних сполук похідного дигідропіролу і 5-фторурацилу на слизову оболонку кишечника щурів / Г.М. Кузнєцова, Г.В. Острівська, В.К. Рибальченко // *Современные проблемы токсикологии*. – 2011. – № 1-2. – С. 47-51

9. Взаємозв'язок показників пухлинного росту і ростової активності прилеглих до колоректальних пухлин тканин кишечника щурів, що зазнавали впливу цитостатиків похідного дигідропіролу і 5-фторурацилу за умов ДМГ-індукованого канцерогенезу / Г.М. Кузнєцова, О.В. Оглобля, Т.А. Воловенко, В.К. Рибальченко // *Фізика живого*. – 2011. – Т. 19, № 1. – С. 33-39.

10. Горальський Л.П. Основи гістологічної техніки і морфо-функціональні методи досліджень у нормі та при патології: навчальний посібник / Л.П. Горальський, В.Т. Хомич, О.І. Кононський. – Житомир: Полісся, 2005. – 288 с.

11. Афанасьєв Ю.И. Гистология / Ю.И. Афанасьєв, Н.А. Юрина, Е.Ф. Котовский. – М.: Медицина, 2003. – 737 с.

12. Гистология (введение в патологию) / Н.В. Бойчук, Р.Р. Исламов, Э.Г. Улумбеков, Ю.А. Чельшев; под. ред. Э.Г.Улумбекова, Ю.А. Чельшева. – М.: Геотар медицина, 1998. – 960 с.

13. Аруин Л.И. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л.И. Аруин, Л.Л. Капуллер, В.А. Исаков. – М., 1998. – 496 с.

#### Резюме

**Луженецька В.К., Кузнєцова Г.М.** Вплив сполуки з цитостатичною активністю похідного дигідропіролу на слизову оболонку шлунку щурів у порівнянні з 5-фторурацилом.

Проведено порівняння впливу цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу (Д1) і антинеопластичного препарату 5-фторурацил на слизову оболонку

**Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології**

шлунку здорових щурів та досліджено сумісний вплив даних сполук. Показано, що Д1 викликає менші зміни у слизовій оболонці шлунку порівняно з 5-фторурацилом, але при сумісній дії вказаних сполук негативні зміни поглиблюються.

**Ключові слова:** слизова оболонка шлунку, похідне дигідропіролу, 5-фторурацил.

#### Резюме

**Луженецькая В.К., Кузнєцова Г.Н.** Влияние соединения с цитостатической активностью производного дигидропиррола на слизистую оболочку желудка крыс в сравнении с 5-фторурацилом.

Проведено сравнение влияния цитостатического соединения производного дигидропиррола (Д1) и антинеопластического препарата 5-фторурацил на слизистую оболочку желудка здоровых крыс. Показано, что Д1 вызывает менее значительные изменения в слизистой оболочке желудка по сравнению с 5-фторурацилом, но при совместном действии данных соединений негативные изменения усиливаются.

**Ключевые слова:** слизистая оболочка желудка, производное дигидропиррола, 5-фторурацил.

#### Summary

**Luzhenetska V.K., Kuznetsova H.M.** Impact of cytostatic compound dihydropyrrol derivative on rat stomach mucosa compared with 5-fluorouracil.

The comparison of influence of cytostatic compound dihydropyrrol derivative (D1) and antiproliferative drug 5-fluorouracil on rat stomach mucosa was conducted. Lesser mucosa changes caused by D1 in comparison with 5-fluorouracil, but expanded ones caused by combined action of both compounds, were observed.

**Key words:** stomach mucosa, dihydropyrrol derivative, 5-fluorouracil.

**Рецензент: д.біол.н., проф. Б.П. Романюк**

**Екологічні аспекти сучасної біології та медичної генетики**