

Л. Б. Бондаренко<sup>1</sup>, Т. А. Карацуба<sup>1</sup>, О. О. Хавич<sup>1</sup>,  
Г. М. Шаяхметова<sup>1</sup>, Н. І. Шарикіна<sup>1</sup>, В. М. Коваленко<sup>1</sup>,  
Н. В. Левицька<sup>2</sup>, К. В. Полковниченко<sup>2</sup>, М. М. Калачінська<sup>3</sup>

## Ефект етил 2-(хіназолін-4-іламіно)-4,5,6,7-тетрагідробензо[*b*]тіофен-3-карбоксилат гідрохлориду на ДНК, РНК, білки хроматину й показники стану антиоксидантної системи в карциномі Герена та незмінених тканинах матки щурів

<sup>1</sup>Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

<sup>2</sup>Навчально-науковий центр «Інститут біології і медицини»  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка

<sup>3</sup>Відкритий міжнародний університет розвитку людини «Україна», м. Київ

**Ключові слова:** похідне хіназоліну, карцинома Герена, ДНК, РНК, фрагментація, антиоксидантна система

Ріст захворюваності на новоутворення зумовлює пошук нових високоефективних методів лікування цієї групи патологій. Серед найпоширеніших засобів боротьби з пухлинами наразі поряд з хірургічним їхнім видаленням і радіотерапією чільне місце займає й хіміотерапія [1]. Введення цитостатиків або цитотоксичних сполук може застосовуватись і як самостійний підхід, так і в складі методів комплексного лікування. Успіхи сучасної органічної хімії в напрямі докінг-аналізу дозволяють швидко вести спрямований синтез сполук з передбачувано високою цитотоксичною чи цитостатичною активністю. Однак на шляху створення нових протипухлинних засобів виникає низка проблем, серед яких чи не найбільочішими є розвиток толерантності пухлини до дії цитостатика та наявність суттєвих небажаних побічних ефектів у таких препаратів [2–5].

Дослідження останніх років свідчать про значну роль у обох цих процесах метаболічних змін, що виникають не в пухлині, а в організмі в цілому внаслідок лікування. У той самий час стандартні підходи до

вивчення специфічної фармакологічної дії та токсичності протипухлинних засобів не дають змоги провести детальну комплексну оцінку метаболічних змін поза пухлиною, хоча давно стало очевидним, що неспецифічна дія хіміотерапії може на тлі пригнічення росту пухлин викликати незворотні зміни в організмі, які надалі суттєво погіршать його шанси на видужання. Ці обставини зумовлюють актуальність включення в доклінічні дослідження нових протипухлинних засобів вивчення їхніх ефектів як на пухлини, так і на прилеглі не уражені тканини для оптимізації хіміотерапії.

**Мета дослідження** – порівняти вплив етил 2-(хіназолін-4-іламіно)-4,5,6,7-тетрагідробензо[*b*]тіофен-3-карбоксилат гідрохлориду (ЕХТК) на ДНК, РНК, білки хроматину, процеси фрагментації ДНК і показники стану антиоксидантної системи в карциномі Герена та незмінених тканинах матки.

**Матеріали та методи.** Дослідження впливу ЕХТК проводили на білих щурах-самицях лінії Вістар масою 150–250 г, вирощених у віварії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ». Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні за умов вільного доступу до води. План досліджень був

розглянутий і схвалений Комітетом з біоетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням з тваринами та їхнім використанням в експериментах, були дотримані. Тварин розподіляли на групи за методом рандомізації з попереднім карантинним протягом 7 діб. ЕХТК було синтезовано у відділі медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ» і попередньо охарактеризовано як перспективну сполуку з протипухлинною активністю [5].

Вплив даного похідного хіназоліну на складові хроматину та стан антиоксидантної системи вивчали за умов експериментальної моделі карциноми Герена, яку одержували шляхом трансплантації тканин пухлини тваринам за стандартними методами [6]. Тварини були розподілені за методом рандомізації на 3 групи по 6 тварин у кожній: 1 – інтактні щури; 2 – контроль (карцинома Герена); 3 – карцинома Герена + ЕХТК (24,37 мг/кг). Структурну формулу ЕХТК наведено на рисунку 1.

Тваринам 3 групи перорально вводили ЕХТК, а щурам 1 і 3 груп - відповідний об'єм 0,9 % водного розчину хлориду натрію. Введення проводили кожні 48 год, починаючи з наступної доби після трансплантації карциноми Герена, протягом двох тижнів. На 15 добу експерименту (після 24 год голодування) тварин зважували, потім під легким ефірним наркозом знеживлювали методом цервікальної дислокації, вилучали пухлини й відповідні тканини без неопластичних змін для подальших досліджень. Заморожені в рідкому азоті тканини гомогенізували та виді-

ляли геномну ДНК, РНК і білки [7]. Для виділення нуклеїнових кислот гомогенізацію зразка (50 мкг) проводили в 1 мл TRI-реагенту («Sigma», США), після чого додавали 200 мкл хлороформу, струшували, залишали стояти за кімнатної температури протягом 15 хв. Далі центрифугували – 12000 g, 2 °C, 15 хв, після чого розчин розділився на три фази: червону (білки), білу (містить ДНК) і безбарвну (містить РНК). Фракції акуратно розшаровували окремо в пробірки для очищення та визначення вмісту. Для виділення РНК у мікропробірку з відбіраною безбарвною фазою додавали 0,5 мл ізопропанолу, відстоювали 5–10 хв за кімнатної температури та центрифугували – 12 000 g, 2 °C, 10 хв, зливали супернатант. До осаду додавали 75 % етанол до об'єму 2 мл, центрифугували за 12 000 g, 2 °C, 5 хв, зливали супернатант. Процедуру повторювали двічі. Одержаний зразок РНК висушували та розводили в 100 мкл DEPC-води. Для виділення ДНК в епендорф з відбіраною фракцією додавали 0,3 мл 100 % етанолу, відстоювали 2–3 хв за кімнатної температури, центрифугували – 2000 g, 2 °C, 5 хв, зливали супернатант. До осаду додавали розчин 0,1 моль/л цитрату натрію в 10 % етанолі (2 мл), відстоювали 30 хв і центрифугували – 2000 g, 2 °C, 5 хв, зливали супернатант. Осад промивали 2 рази в 70 % етанолі, як зазначено вище, та висушували. Одержаний зразок ДНК висушували та розводили у 100 мкл DEPC-води. Спектрофотометричне визначення концентрації ДНК і РНК проводили за загальноприйнятим методом [8]. Вимірювали поглинання світла за довжини хвилі 260 нм. Розраховували концентрацію ДНК, використовуючи коефіцієнт перерахунку 6,5 за формулою:

$$C_{\text{ДНК}} [\text{мкг} / \text{мл}] = A_{260} \cdot 6,5.$$

Аналогічно проводили визначення вмісту РНК і розраховували її концентрацію, використовуючи коефіцієнт перерахунку 5,2 за формулою:

$$C_{\text{РНК}} [\text{мкг} / \text{мл}] = A_{260} \cdot 5,2.$$

Вміст гістонів визначали за модифікованим методом Н. В. Смирнова [9].

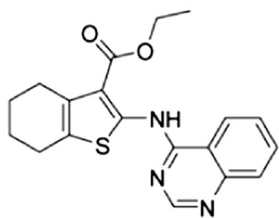


Рис. 1. Структурна формула етил 2-(хіназолін-4-іламіно)-4,5,6,7-тетрагідробензо[б]тіофен-3-карбоксилат гідрохлориду

Для визначення ступеня фрагментації ДНК її розчиняли у ТВЕ буфері (10 м моль/л Tris-HCl і 1 м моль/л EDTA, рН 8) і розділяли в 2 % агарозному гелі 80В; 83 МА, 6 W, 2 год. Після завершення електрофорезу гелі забарвлювали розчином бромистого етидію (5 мкг/мл) і фотографували в УФ-світлі за допомогою системи GelDoc («BioRad», США) [10].

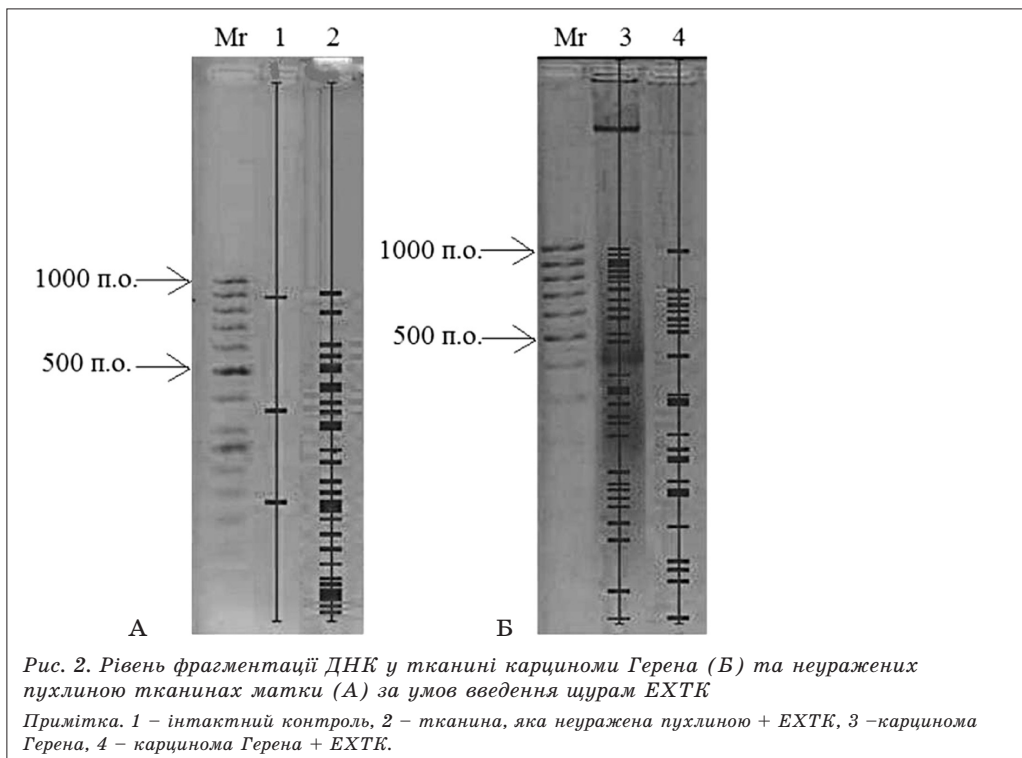
У гомогенатах тканин також визначали активність вільнорадикальних процесів за швидкістю індукованого аскорбатом накопичення продуктів реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) за методом І. Д. Стальної та Т. Г. Гаришвілі [11] і вміст небілкових і пов'язаних з білками SH-груп [12].

Отримані дані представляли як середнє значення  $\pm$  похибка середнього ( $M \pm m$ ). Статистичний аналіз результатів експерименту проводили з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідною в разі  $p \leq 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Розвиток онкологічного процесу невідворотно веде до значних порушень у струк-

турі біополімерів клітини (ДНК, РНК, протеїнів, ліпідів), що в свою чергу може відіграти вирішальну роль в її життєздатності та навіть призвести до загибелі. Нуклеїнові кислоти, що входять до складу хроматину, підлягають летальному розщепленню індукованими ними ендонуклеазами [13], тому одним з найінформативніших маркерів протікання процесів апоптозу в організмі вважають рівень і характер фрагментації ДНК [14].

Результати вивчення впливу пухлини Герена та її лікування ЕХТК на процеси фрагментації ДНК у клітинах її тканин наведені на рисунку 2 і в таблиці 1. Як видно з фотографій електрофореграм, розвиток карциноми Герена призводить до значного посилення процесів фрагментації ДНК порівняно з інтактним контролем. Якщо в інтактній тканині матки на електрофореграмі відмічено лише 3 фрагменти ДНК довжиною 900, 350 і 70 пар основ, то за умов розвитку пухлини Герена – 27. Із них фрагментів з довжинами молекул від 1000 до 500 пар основ було 12; фрагментів з довжинами молекул від 500 до 200 пар основ – 6; фрагментів з довжинами



## Процент фрагментації ДНК в експериментальних тварин

Показник	Експериментальна група			
	тканина матки (інтактний контроль)	тканина матки (без інвазивного ураження) + етил 2-(хіназолін-4-іламіно)-4,5,6,7-тетрагідробензо[ <i>b</i> ]тіофен-3-карбоксилат гідрохлорид	карцинома Герена	карцинома Герена + етил 2-(хіназолін-4-іламіно)-4,5,6,7-тетрагідробензо[ <i>b</i> ]тіофен-3-карбоксилат гідрохлорид
Фрагментація ДНК, %	11,92	50,20	61,99	54,40

молекул від 200 до 20 пар – 9. Причому за вмістом переважали фрагменти ДНК з середніми розмірами (від 900 до 500 пар основ). Процент фрагментації ДНК зріс майже в 6 разів від 11,92 % у нормі до 61,99 % – за карциноми Герена (табл. 1). Дані дослідження цілком узгоджуються з результатами інших авторів, які відзначали, що за умов розвитку онкологічного процесу відбувається значне посилення рівня фрагментації ДНК (який у нормі зазвичай коливається в межах 5–8 %) [15]. В експериментах іншої групи вітчизняних дослідників [16] також було показано, що пошкодження ДНК корелює з ростом карцином Герена в щурів.

Цікаво було порівняти вплив лікування ЕХТК на процеси фрагментації ДНК у клітинах пухлини Герена та в клітинах тканин, не уражених неопластичним процесом.

У клітинах тканин, не уражених неопластичним процесом, лікування ЕХТК також призводило до стимуляції процесів фрагментації ДНК порівняно з інтактним контролем, хоча й не в такому ступені, як це мало місце в разі нелікованої карциноми Герена. Так, загальна кількість утворених фрагментів складала 23, з них з довжинами молекул від 1000 до 500 пар основ – 5, фрагментів з довжинами молекул від 500 до 200 пар основ – 5,

фрагментів з довжинами молекул від 200 до 20 пар – 13. У цьому разі за вмістом переважали фрагменти ДНК з найменшими розмірами (від 200 до 20 пар основ). Процент фрагментації ДНК склав 50,2 %. У клітинах пухлини Герена лікування ЕХТК призвело до пригнічення процесів фрагментації ДНК порівняно з нелікованою карциномою Герена. Так, загальна кількість утворених фрагментів склала 21, з довжинами молекул від 1000 до 500 пар основ – 8, фрагментів з довжинами молекул від 500 до 200 пар основ – 4, фрагментів з довжинами молекул від 200 до 20 пар – 9. У цьому випадку за вмістом переважали фрагменти ДНК з найменшими розмірами (від 200 до 20 пар основ). Процент фрагментації ДНК становив 54,4 %.

Відзначений нами вплив ЕХТК на ДНК як на тлі онкологічного процесу, так і в неуразжених неопластичним процесом тканинах вочевидь зумовлений цитотоксичним впливом сполуки на клітини, що супроводжується пригніченням їхньої мітотичної активності. Подібну активність має інша складна гетероциклічна сполука – етопозид, що ефективно пригнічує мітотичну активність клітин карциноми Герена [17]. Отримані нами результати демонструють таку саму відсутність вибіркості цитотоксичної дії ЕХТК,

як й етопозиду, адже рівень фрагментації в разі його введення зростає як у клітинах карциноми Герена, так і в клітинах тканин, не уражених пухлинним ростом. Внеском у такий ефект ЕХТК може бути його взаємодія, подібно до інших сполук з ортоконденсованими системами в структурі молекули, з протеїнами з сімейства Bcl-2, що включає як антиапоптотичні (Bcl-xL, Bcl-2, Bcl-w, A1, Mcl-1), так і проапоптотичні (Bak, Bax, Bid, Bim, Bad, Bik, Bmf, Noxa, Puma) білки [18–20]. Крім безпосереднього впливу на молекули біополімерів ЕХТК здатен діяти й опосередковано. Цитотоксичний ефект даної сполуки може бути пов'язаний з активацією апоптозу через церамід-опосередковані шляхи [19], де продукція цераміду є важливим етапом у запуску цитоток-

сичними агентами ланцюга подій загибелі пухлинних клітин.

У роботах різних груп дослідників показано, що превалювання прямого або опосередкованого шляхів реалізації цитотоксичних ефектів у різних препаратів, що застосовуються для хімотерапії різних пухлин, сильно варіює залежно від їхньої хімічної природи [20].

Було досліджено вміст РНК, ДНК, співвідношення РНК/ДНК, вміст РНК відносно загального вмісту нуклеїнових кислот і вміст гістонів у карциномі Герена за умов введення щурам тест-зразка ЕХТК (табл. 2).

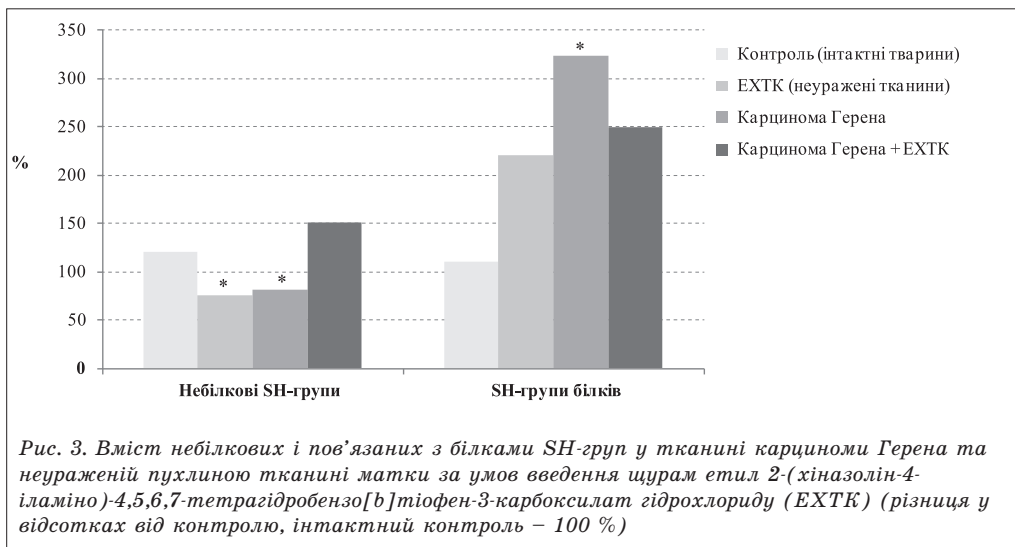
З одержаних результатів видно, що якщо ефект ЕХТК на фрагментацію ДНК не відзначався вузькою тканинною специфічністю, то в разі дослідження впливу на процеси біосинтезу

Таблиця 2

*Вміст нуклеїнових кислот, їхнє співвідношення, вміст гістонів у клітинах карциноми Герена та тканини матки без непластичних змін за умов введення щурам етил 2-(хіназолін-4-іламіно)-4,5,6,7-тетрагідробензо[*b*]тіофен-3-карбоксилат гідрохлориду*

Показник	Експериментальна група			
	тканина матки (інтактний контроль)	тканина матки (без інвазивного ураження) + етил 2-(хіназолін-4-іламіно)-4,5,6,7-тетрагідробензо[ <i>b</i> ]тіофен-3-карбоксилат гідрохлорид	карцинома Герена	карцинома Герена + етил 2-(хіназолін-4-іламіно)-4,5,6,7-тетрагідробензо[ <i>b</i> ]тіофен-3-карбоксилат гідрохлорид
Вміст РНК, мкг/мг	31,43 ± 3,57	30,73 ± 6,48	90,92 ± 16,48*	120,03 ± 2,72*
Вміст ДНК, мкг/мг	105,37 ± 2,29	102,0 ± 46,0	98,68 ± 0,68	97,91 ± 3,69
РНК/ДНК	0,30 ± 0,04	0,30 ± 0,07 <sup>#, &amp;</sup>	0,92 ± 0,16*	1,23 ± 0,23*
РНК/загальний вміст нуклеїнових кислот	0,23 ± 0,02	0,23 ± 0,04 <sup>#, &amp;</sup>	0,48 ± 0,04*	0,550 ± 0,003*
Гістони, мг/мг тканини	0,55 ± 0,02	0,67 ± 0,02 <sup>*, #, &amp;</sup>	0,33 ± 0,03*	0,43 ± 0,04*

Примітка. \**p* < 0,05 порівняно з інтактним контролем, <sup>#</sup>*p* < 0,05 порівняно з показником групи з пухлинами без введення препарату, <sup>&</sup>*p* < 0,05 порівняно з показником групи з пухлинами та введенням препарату.



та катаболізму нуклеїнових кислот чітко видно вірогідну різницю в дії даного похідного хіназоліну на клітини карциноми Герена та клітини тканин, не уражених пухлинним ростом, за всіма дослідженими показниками.

У клітинах тканин, не уражених неопластичним процесом, лікування ЕХТК не призводило до вірогідних відмінностей від рівня інтактного контролю за вмістом РНК, ДНК, співвідношенням РНК/ДНК, вмістом РНК відносно загального вмісту нуклеїнових кислот і вмістом гістонів.

У клітинах пухлини Герена лікування ЕХТК призводило до поглиблення порушень обміну нуклеїнових кислот порівняно з групою нелікованої карциноми Герена, очевидно внаслідок цитотоксичної дії сполуки.

Одержані нами дані цілком узгоджуються з результатами інших авторів, які встановили, що в нормі кількість ДНК є мало варіабельним показником, тоді як кількість РНК, залученої до синтезу білка, може різко змінюватися [21]. Життєздатні нормальні клітини, як правило, мають більш високі співвідношення РНК/ДНК, ніж ті, які мають відхилення від норми [22].

З іншого боку, аналіз вмісту ДНК і РНК у клітинах пухлин також вказує на можливість стимуляції накопичення РНК і ДНК (наприклад, у метастазуючих карциномах) [23].

Відмінності в рівнях РНК, гістонів, а також у співвідношеннях РНК/ДНК і

РНК відносно загального вмісту нуклеїнових кислот, які наведено в таблиці 2, можуть вказувати на вмикання механізмів гальмування мітотичного циклу в клітинах пухлини під дією ЕХТК [23–25], що може бути додатковим підтвердженням його цитотоксичного ефекту на пухлинні клітини.

На рисунку 3 наведено результати дослідження вмісту відновленого глутатіону та пов'язаних з білками SH-груп у тканині карциноми Герена та неураженій пухлиною тканині за введення щурам ЕХТК. За умов розвитку карциноми Герена відбуваються суттєві зміни вмісту небілкових і пов'язаних з білками SH-груп, що не може не позначитись на стані систем антиоксидантного захисту клітин організму [26]. Лікування ЕХТК дозволяє нормалізувати ці показники. Цікаво, що на відміну від тканини пухлини, у неураженій пухлиною тканині вірогідний ефект досліджуваного препарату відсутній, що може вказувати на наявність специфічного не лише цитостатичного, але й опосередкованого впливом на системи антиоксидантного захисту, впливу ЕХТК на карциному Герена.

Це припущення підтверджується й нашими результатами з вивчення впливу ЕХТК на вміст ТВК-реактивів у клітинах карциноми Герена та в клітинах тканини, не ураженої непласичним процесом (рис. 4). За умов впливу ЕХТК на клітини пухлини



Герена відзначається значне пригнічення продукції ТБК-реактантів, яке відсутнє в клітинах, не уражених пухлинним ростом.

#### Висновки

Вивчення впливу ЕХТК на ДНК, РНК, білки хроматину, процеси фрагментації ДНК, вміст ТБК-реактантів, небілкових і пов'язаних з білками SH-груп у карциномі Герена та незмінених

тканинах матки показало, що дана сполука вірогідно змінювала більшість досліджуваних показників як порівняно з інтактними тваринами, так і з карциномою Герена без лікування. Специфічність впливу ЕХТК на клітини пухлин була найвираженішою щодо змін вмісту ДНК, РНК, білків хроматину, а також ТБК-реактантів, небілкових і пов'язаних з білками SH-груп.

1. Nanoscale drug delivery strategies for therapy of ovarian cancer: conventional vs targeted. S. Gupta, Y. Pathak, M. K. Gupta, S. P. Vyas. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2019. V. 47. P. 4066–4088. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1677680>.
2. Smithson C. R., Schneider S. M. Ibrutinib: a new targeted therapy for hematologic cancers. *Clin J Oncol Nurs.* 2015. V. 19. P. E47-51. <https://doi.org/10.1188/15.CJON.E47-E51>.
3. Ali I. Nano drugs: novel agents for cancer chemo-therapy. *Curr Cancer Drug Targets.* 2011. V. 11. P. 130.
4. Clinical applications of nanomedicine in cancer therapy. Norouzi M., Amerian M., Amerian M., Atyabi F. *Drug Discov Today.* 2019. pii: S1359-6446(19)30377-0. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.09.017>. [Epub ahead of print] Review.
5. Протипухлинна активність похідних хіназоліну на недрібноклітинному раку легенів людини (підкапсульний тест). Н. О. Мешкова, О. О. Хавич, Г. М. Олійник та ін. Матеріали V Національного з'їзду фармакологів України. 18–20 жовтня 2017, м. Запоріжжя. 2017. С. 94–95.
6. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США; под ред. З. П. Софьиной и др. Москва : Медицина, 1980. 296 с.
7. Current Protocols in Toxicology; ed. M. Maines. N.Y. : John Wiley & Sons, Inc., 2005. 2758 p.
8. Великов В. А. Молекулярная биология. Практическое руководство: учеб. пособие для студ. биол. фак. и фак. нано- и биомед. технол., обуч-ся по напр. «Биология (020400)», «Биология-пед (050100)», «Биотехнические системы и технологии (200100)», «Медицинская физика (011200)» и по спец. «Биоинженерия и биоинформатика (020501)». Саратов : Издательство «Саратовский источник», 2013. 84 с.: ил.
9. Смирнов Н. В. Фракционирование гистоновых белков печени крысы. Современные методы в биологии; ред. В. Н. Орехович. Москва : Медицина, 1977. С. 349–353.
10. Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. P. Lee, J. Costumbrado, C. Hsu Y. Kim *Journal of Visualized Experiments.* 2012. V. 62. P. 57–59.
11. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биологии; ред. В. Н. Орехович. Москва : Медицина, 1977. С. 66–68.

12. Sedlak J., Lindsay R. H. Estimation of total, protein-bound, and non protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 1968. V. 25. P. 192–205.
13. DMBA-induced cytotoxicity in lymphoid and nonlymphoid organs of B6C3F1 mice: relation of cell death to target cell intracellular calcium and DNA damage. S. W. Burchiel, D. A. Davis, S. D. Ray et al. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1992. V. 113. P. 126–132
14. Wang X., Yongke Lu Y., Cederbaum A. I. Induction of Cytochrome P450 2E1 Increases Hepatotoxicity Caused by Fas Agonistic Jo2 Antibody in Mice. *Hepatology*. 2005. V. 42. P. 400–411.
15. Erol A. Systemic DNA damage response and metabolic syndrome as a premalignant state. *Curr. Mol. Med.* 2010. V. 3. P. 321–334.
16. Комбінований вплив екзогенних оксидів азоту та малих доз іонізуючої радіації на розвиток генетичної нестабільності та утворення вільнорадикальних сполук при пухлинному рості. О. А. Главін, Б. І. Герашенко, Н. М. Рябченко та ін. *Сучасні проблеми токсикології*. 2011. Т. 5. С. 108–109
17. Лукашова О. П. Действие ионизирующей радиации и препарата «Этопозид» на процессы апоптоза и ультраструктуры клеток карциномы Герена. *Український радіологічний журнал*. 2013. Т. 21. С. 56–63.
18. Патент США: Індукуючі апоптоз засоби для лікування злоякісних пухлин та імунологічних і аутоімунних захворювань. Автори патента: Сауерс Э. Дж. (US), Ван С. (US), Салливан Дж. (US), Канзер А. (US), Уэндт М. Д. (US), Джадд Э. С. (US), Тао Чжи-фу (US). C07D471/04, C07D463/00, A61P35/00, A61K31/437. URL: <http://www.findpatent.ru/patent/266/2662812.html>.
19. Ceramide-induced cell death in malignant cells. A. Carpinteiro, C. Dumitru, M. Schenck, E. Gulbins. *Cancer Letters*. 2008. V. 264. P. 1–10.
20. Вплив поєднаної дії іонізуючого випромінювання та хіміопрепаратів на вміст проапоптозного ліпиду цераміду в карциномі Герена. Т. Сегеда, Н. Мітрьєва, Т. Бакай, Л. Гребіник. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2012. Вип. 60. С. 111–116.
21. Bulow J. F. RNA-DNA ratios as indicators of growth rates in fish: A review. In: Summerfelt RC, Hall GE, editors. *The age and growth of fish*. The Iowa State University Press; Ames, Iowa: 1987. P. 45–64.
22. Robinson S. M., Ware D. Ontogenetic development of growth rates in larval Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*, measured with RNA/DNA ratios in the Strait of Georgia, British Columbia. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1988. V. 45. P. 1422–1429.
23. Новичков Е. В., Вотинцев А. А. Значение гистоспектрофотометрических параметров опухоли в прогнозе метастазирования серозной овариальной карциномы. *Пермский медицинский журнал*. 2006. Т. 23. С. 112–137.
24. Морфология внутренних органов и опухоли лабораторных крыс с перевитым раком печени Рс-1 при пероральном введении флавоноидсодержащих экстрактов аврана лекарственного (*Gratiola Officinalis L.*) и кукурузы антоциановой (*Zea Mays L.*). Н. А. Наволокин, Н. В. Полуконова, Г. Н. Маслякова и др. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2013. Т. 9. С. 74–81.
25. Traganos F., Darzynkiewicz Z., Melamed M. R. The ratio of RNA to total nucleic acid content as a quantitative measure of unbalanced cell growth. *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*. 1982. V. 2. P. 212–218.
26. Hutcheson R., Rocic P. The Metabolic Syndrome, Oxidative Stress, Environment, and Cardiovascular Disease: The Great Exploration. *Experimental Diabetes Research*. 2012. V. 2012. P. 1–13.

**Л. Б. Бондаренко, Т. А. Карацуба, О. О. Хавич, Г. М. Шаяхметова,  
Н. І. Шарикіна, В. М. Коваленко, Н. В. Левицька, К. В. Полковниченко,  
М. М. Калачінська**

**Ефект етил 2-(хіназолін-4-іл аміно)-4,5,6,7-тетрагідробензо[*b*]тіофен-3-карбоксилат гідрохлориду на ДНК, РНК, білки хроматину й показники стану антиоксидантної системи в карциномі Герена та незмінених тканинах матки**

Стандартні підходи до вивчення специфічної фармакологічної дії та токсичності протипухлинних засобів не дають змоги провести детальну комплексну оцінку метаболічних змін поза пухлиною, хоча давно стало очевидним, що неспецифічна дія хіміотерапії може на тлі пригнічення росту пухлин викликати незворотні зміни в організмі, які надалі суттєво погіршать його шанси на видужання. Ці обставини зумовлюють актуальність включення в доклінічні дослідження нових протипухлинних засобів вивчення їхніх ефектів як на пухлини, так і на прилеглі не уражені тканини, для подальшої оптимізації хіміотерапії.

*Мета дослідження* – порівняти вплив етил 2-(хіназолін-4-іламіно)-4,5,6,7-тетрагідробензо[*b*]тіофен-3-карбоксилат гідрохлориду (ЕХТК) на ДНК, РНК, білки хроматину, процеси фрагментації ДНК, вміст ТБК-реактантів і SH-груп у карциномі Герена та незмінених тканинах матки.



Дослідження впливу ЕХТК проводили на білих щурах – самицях лінії Вістар. Тварини були розподілені за методом рандомізації на 3 групи по 6 тварин у кожній: 1 – інтактні щури; 2 – позитивний контроль (карцинома Герена); 3 – карцинома Герена + ЕХТК (24,37 мг/кг).

Вивчення впливу ЕХТК на ДНК, РНК, білки хроматину, процеси фрагментації ДНК, вміст ТБК-реактантів та небілкових і пов'язаних з білками SH-груп у карциномі Герена та незмінених тканинах матки показало, що дана сполука вірогідно змінювала більшість досліджуваних показників як порівняно з інтактними тваринами, так і з карциномою Герена без лікування. Ефект ЕХТК на фрагментацію ДНК не відзначався вузькою тканинною специфічністю. Специфічність впливу ЕХТК на клітини пухлин була найвираженішою у випадку змін вмісту ДНК, РНК, білків хроматину, а також ТБК-реактантів, небілкових і пов'язаних з білками SH-груп.

*Ключові слова:* похідне хіназоліну, карцинома Герена, ДНК, РНК, фрагментація, антиоксидантна система

**Л. Б. Бондаренко, Т. А. Карацуба, О. А. Хавич, А. М. Шаяхметова, Н. И. Шарыкина, В. Н. Коваленко, Н. В. Левицкая, К. В. Полковниченко, М. Н. Калачинская**  
**Эффект этил 2-(хиназолин-4-ил amino)-4,5,6,7-тетрагидробензо[b]тиофен-3-карбоксилат гидрохлорида на ДНК, РНК, белки хроматина и показатели состояния антиоксидантной системы в карциноме Герена и неизмененных тканях матки**

Стандартные подходы к изучению специфического фармакологического действия и токсичности противоопухолевых средств не позволяют провести детальную комплексную оценку метаболических изменений вне опухоли, хотя давно стало очевидным, что неспецифическое действие химиотерапии может на фоне угнетения роста опухолей вызвать необратимые изменения в организме, которые в дальнейшем существенно ухудшат его шансы на выздоровление. Эти обстоятельства обуславливают актуальность включения в доклинические исследования новых противоопухолевых средств изучение их эффектов как на опухоли, так и на прилегающие не пораженные ткани, для дальнейшей оптимизации химиотерапии.

*Цель исследования* – сравнить влияние этил 2-(хиназолин-4-ил amino)-4,5,6,7-тетрагидробензо[b]тиофен-3-карбоксилат гидрохлорида (ЭХТК) на ДНК, РНК, белки хроматина, процессы фрагментации ДНК и содержание ТБК-реактантов и SH-групп в карциноме Герена и неизмененных тканях матки.

Исследование влияния ЭХТК проводили на белых крысах-самках линии Вистар. Животные были распределены по методу рандомизации на 3 группы по 6 животных в каждой: 1 – интактные крысы; 2 – положительный контроль (карцинома Герена); 3 – карцинома Герена + ЭХТК (24,37 мг/кг).

Изучение влияния ЭХТК на ДНК, РНК, белки хроматина, процессы фрагментации ДНК, содержание ТБК-реактантов, а также небелковых и связанных с белками SH-групп в карциноме Герена и неизмененных тканях матки показало, что данное соединение достоверно изменяло большинство исследуемых показателей как по сравнению с интактными животными, так и с карциномой Герена без лечения. Эффект ЭХТК на фрагментацию ДНК не отличался узкой тканевой специфичностью. Специфичность влияния ЭХТК на клетки опухолей была наиболее выраженной в отношении изменений содержания ДНК, РНК, белков хроматина, ТБК-реактантов, небелковых и связанных с белками SH-групп.

*Ключевые слова:* производное хиназолина, карцинома Герена, ДНК, РНК, фрагментация, антиоксидантная система

**Л. В. Bondarenko, T. A. Karatsuba, O. O. Khavich, G. M. Shayakhmetova, N. I. Sharykina, V. M. Kovalenko, N. V. Levitskaya, K. V. Polkovnichenko, M. M. Kalachinskaya**  
**The effect of ethyl 2-(quinazolin-4-yl amino)-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]thiophene-3-carboxylate hydrochloride on DNA, RNA and chromatin proteins and antioxidant system state in Guerin carcinoma and unchanged uterine tissues**

Chemotherapy is one of the most common means of controlling tumors, along with their surgical removal and radiotherapy. Standard approaches to the study of the specific pharmacological action and toxicity of antitumor agents don't allow to carry out a detailed comprehensive assessment of metabolic changes outside the tumor, although it has long been apparent that the nonspecific effect of chemotherapy simultaneously with tumor growth inhibition can cause irreversible changes in organs which could significantly worsen organism's recovery chances. These circumstances determine the relevance of the inclusion into the preclinical studies of new antitumor agents the investigation of their effects on both the tumor and adjacent non-affected tissues, for further optimization of chemotherapy.

*The aim of the study* – to compare the effects of ethyl 2-(quinazolin-4-yl amino)-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]thiophene-3-carboxylate hydrochloride (EQTC) on DNA, RNA, chromatin proteins, DNA fragmentation processes and contents of TBA-reactants and SH-groups in Guerin's carcinoma and unmodified uterine tissues.

---

---

The study of the EQTC effects was performed on white females Wistar rats. Animals were randomized to 3 groups of 6 animals each: 1 – intact rats; 2 – positive control (Guerin's carcinoma); 3 EQTC Guerin's carcinoma + EQTC (24,37 mg/kg).

Study of the effect of EQTC on DNA, RNA, chromatin proteins, DNA fragmentation processes, TBA-reactants, non-protein and protein-related SH groups in Guerin's carcinoma and unmodified uterine tissues showed that investigated compound significantly changed most of the studied parameters as compared with intact animals but also to Guerin's carcinoma without treatment. The specificity of the influence of EQTC on tumor cells was most pronounced by the changes in contents of DNA, RNA, chromatin proteins, TBA-reactants, non-protein and protein-related SH-groups.

*Key words: quinazoline derivative, Guerin's carcinoma, DNA, RNA, fragmentation, antioxidant system*

---

*Надійшла: 24 жовтня 2019 р.*

*Прийнята до друку: 17 грудня 2019 р.*

**Контактна особа:** Бондаренко Л. Б., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.