



УДК 57.044:616.34-006

О. М. Бабута, О. В. Линчак, В. К. Рибальченко

Порівняння ефективності нової таргетної сполуки похідного малеїміду і цитостатика 5-фторурацилу при хемоіндукованому раку товстої кишки у щурів

(Представлено членом-кореспондентом НАН України В. Ф. Сагачем)

Похідне малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (MI-1) є достатньо ефективною сполукою порівняно з 5-фторурацилом при хемоіндукованому канцерогенезі товстої кишки щурів. MI-1 є перспективною сполукою для подальших досліджень і може стати основою для розробки нових антиканцерогенних препаратів таргетного спрямування.

Рак товстої кишки є однією з найбільш поширених злоякісних пухлин. На його частку припадає 45% випадків захворювання на рак шлунково-кишкового тракту у жінок і 60% у чоловіків. Існують декілька шляхів патогенезу колоректального раку. У більшості випадків причиною виникнення цієї форми раку є хромосомна нестабільність, яка призводить до поступового перетворення від норми до аденом та карцином, в інших випадках причиною є нуклеотидна нестабільність. Мутації двох класів генів — пухлинних генів-супресорів і протоонкогенів — дають клітині проліферативну перевагу і сприяють розвитку злоякісного фенотипу [1–3].

Перспективними для лікування різних форм раку є таргетні препарати. Однією з таких сполук є похідне малеїміду — 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (MI-1), що має виражену цитостатичну активність по відношенню до культур трансформованих і пухлинних клітин, зокрема до культури аденокарциноми товстої кишки [4, 5].

У зв'язку з цим ми ставили на меті дослідження ефективності похідного малеїміду MI-1 у лікуванні хемоіндукованого раку товстої кишки щурів у порівнянні зі цитостатиком, що широко застосовується для лікування пухлин товстої кишки — 5-фторурацилом (5-Ф), а також їх комбінованого впливу.

Дослідження проведено на 60 білих щурах-самцях з масою 180–200 г, що утримувалися в стандартних умовах віварію. Для моделювання раку товстої кишки використовували 1,2-диметилгідразин (ДМГ), який вводили щотижнево протягом 20 тижнів у дозі 20 мг/кг,

© О. М. Бабута, О. В. Линчак, В. К. Рибальченко, 2014

що є достатнім для індукції і подальшого розвитку колоректального раку у щурів [6]. З 21-го тижня експерименту тварин було розділено на чотири групи: I — експериментальний контроль (нічого не отримували); II — отримували МІ-1 у дозі 2,7 мг/кг щодобово; III — отримували 5-Ф (45 мг/кг); IV — отримували МІ-1 у дозі 2,7 мг/кг щодобово в комбінації з 5-Ф (45 мг/кг). Тварин декапітували на 27-му тижні експерименту.

Відпрепаровану товсту кишку розрізали по всій довжині та аналізували за допомогою лупи: кількість, локалізацію та площу пухлин реєстрували за допомогою спеціальних схем [7]. Пухлини вирізали та фіксували в 10%-му нейтральному забуференому формаліні, піддавали стандартній гістологічній обробці, фарбували гематоксиліном з дофарбуванням еозином. Аналіз зрізів проводили за допомогою світлового мікроскопа Olympus BX-41.

Результати досліджень обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням *t*-критерію Стьюдента. Результати наведено у вигляді середнього арифметичного (*M*) та стандартної похибки середнього арифметичного (*m*) для певної вибірки (*n*). Для відповідних розрахунків використовували стандартний пакет програм статистичного аналізу Microsoft Excel 2007.

У всіх експериментальних щурів були виявлені новоутворення в товстій кишці, переважна більшість пухлин локалізувалася в низхідному відділі товстої кишки, що є характерним для даної моделі канцерогенезу [6, 7]. Новоутворення мали різний розмір та форму: виступаючі, підійняті, плоскі, заглиблені, а також гранулярні та агранулярні. Пухлини були як з ендofітним, так і з екзофітним типом росту. Ендofітний тип росту переважав у тварин, які отримували лише ДМГ, екзофітний — у щурів, що отримували МІ-1 та МІ-1 з 5-Ф. Гістологічними дослідженнями було показано наявність аденом та аденокарцином. У щурів, які отримували похідне малеїміду МІ-1, переважну більшість пухлин становили аденоми. Загалом картина відповідала описаній у літературі для пухлин у щурів, викликаних ДМГ [6, 7]. У табл. 1 наведено результати дослідження впливу МІ-1 та 5-Ф при ДМГ-індукованому раку товстої кишки.

Таблиця 1. Ефективність похідного малеїміду МІ-1 та 5-фторурацилу при ДМГ-індукованому раку товстої кишки ($M \pm m$; $n = 15$)

Відділ товстої кишки	Група			
	I	II	III	IV
Середня кількість пухлин на щура				
Сліпа	$2,8 \pm 0,4$	$1,3 \pm 0,2^*$	$1,8 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,3^*$
Ободова	$11,5 \pm 1,0$	$8,6 \pm 0,7^*$	$9,0 \pm 0,4$	$7,1 \pm 0,4^*$
Пряма	$2,6 \pm 0,3$	$1,9 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,4$	$1,4 \pm 0,3^*$
Загалом	$16,8 \pm 1,0$	$11,8 \pm 0,8^*$	$13,5 \pm 0,7$	$9,8 \pm 0,5^*$
Середня площа пухлин, мм ²				
Сліпа	$9,6 \pm 1,8$	$5,0 \pm 1,0^*$	$6,4 \pm 1,0$	$4,7 \pm 1,0^*$
Ободова	$15,0 \pm 2,0$	$11,6 \pm 0,5$	$9,0 \pm 0,5$	$13,3 \pm 1,9$
Пряма	$22,0 \pm 2,1$	$16,1 \pm 2,0$	$18,6 \pm 2,1$	$20,3 \pm 3,9$
Загалом	$14,7 \pm 1,2$	$11,4 \pm 0,5^*$	$10,3 \pm 0,5^*$	$13,7 \pm 1,4$
Загальна площа пухлин на одного щура, мм ²				
Сліпа	$30,3 \pm 8,2$	$6,3 \pm 1,2^*$	$11,1 \pm 2,0$	$6,1 \pm 1,7^*$
Ободова	$126,1 \pm 10,6$	$100,9 \pm 10,3$	$79,7 \pm 1,8^*$	$92,8 \pm 12,7$
Пряма	$51,9 \pm 5,1$	$29,2 \pm 4,7^*$	$45,8 \pm 5,5$	$29,7 \pm 5,8^*$
Загалом	$208,3 \pm 16,4$	$136,4 \pm 12,9^*$	$136,6 \pm 6,1^*$	$128,6 \pm 8,8^*$

* $p < 0,05$ відносно контролю.

У сліпій кишці введення МІ-1 сприяло зменшенню площі пухлин на 48%, кількості пухлин на 52% та загальної площі ураження на 79% (див. табл. 1). При дії 5-Ф спостерігалася лише тенденція до зменшення даних показників. При сумісній дії МІ-1 з 5-Ф площа пухлин зменшувалася на 51%, їх кількість — на 55%, а загальна площа ураження — на 80%.

В ободовій кишці при введенні МІ-1 зменшувалася кількість пухлин на 26%, а також відмічалася тенденція до зменшення площі пухлин і загальної площі ураження на одного щура (див. табл. 1). При дії 5-Ф спостерігалася тенденція до зменшення площі і кількості пухлин, а загальна площа ураження зменшувалася на 37%. При сумісній дії МІ-1 з 5-Ф площа пухлин не відрізнялася від контрольних значень, кількість пухлин зменшувалася на 38%, а загальна площа ураження мала тенденцію до зменшення.

У прямій кишці при дії МІ-1 спостерігалася тенденція до зменшення площі і кількості пухлин (27%), а загальна площа ураження зменшувалася достовірно на 37% (див. табл. 1). При дії 5-Ф виявилася тенденція до зменшення площі і кількості пухлин та загальної площі ураження. При сумісній дії МІ-1 з 5-Ф площа пухлин не відрізнялася від контрольних значень, кількість пухлин зменшувалася на 47%, а загальна площа ураження — на 43%.

Загалом у товстій кишці застосування МІ-1 сприяло зменшенню площі пухлин на 22%, кількості пухлин на 30%, загальної площі ураження на 35% (див. табл. 1). При дії 5-Ф площа пухлин зменшувалася на 30%, спостерігалася тенденція до зменшення кількості пухлин, а загальна площа ураження зменшувалася на 34%. При сумісній дії МІ-1 з 5-Ф площа пухлин не відрізнялася від контрольних значень, кількість пухлин зменшувалася на 42%, а загальна площа ураження — на 38%.

Отже, у щурів усіх досліджених груп встановлено зменшення загальної площі пухлин на одного щура, істотної міжгрупової різниці не виявлено. У той же час механізми досягнення такого ефекту різні. Похідне малеїміду МІ-1 сприяло зменшенню середньої кількості, розміру та загальної площі пухлин товстої кишки в порівнянні з контролем. При дії 5-Ф спостерігалася лише тенденція до зменшення площі і кількості пухлин, а загальна площа пухлин зменшувалася достовірно. При комбінованому введенні МІ-1 з 5-Ф відбувалося достовірне зменшення кількості пухлин у всіх відділах товстої кишки, а також зменшувалася загальна площа пухлин, за рахунок зменшення їх площі. У тварин, що отримували МІ-1, переважали пухлини з екзофітним типом росту, і гістологічними дослідженнями вони були класифіковані як аденоми. При дії 5-Ф спостерігалися осередки відмирання клітин у пухлинах.

Таким чином, сполука МІ-1 має антипухлинні властивості, вона є перспективною для подальших досліджень та може стати основою для розробки нових антиканцерогенних препаратів таргетного спрямування.

1. *Edith P. Mitchell Targeted Therapy for Metastatic Colorectal Cancer: Role of Afibercept* // *Clinical Colorectal Cancer*. – 2013. – **12**, No 2. – P. 73–85.
2. *Gryfe R., Swallow C., Bapat B. et al. Molecular biology of colorectal cancer* // *Curr. Probl. Cancer*. – 1997. – **21**, No 5. – P. 233–300.
3. *Couturier D. Recent notions on intestinal cancerogenesis, their implications in genetic risk screening and preventive action of non-steroid anti-inflammatory agents* // *Bull. Acad. Natl. Med.* – 2002. – **186**, No 2. – P. 421–443.
4. *Yablonska S., Filinska O., Ostrovska G. et al. Antiproliferative properties and low hepatotoxicity of new cytostatic maleimide derivate* // *Biochemistry of cell regulation: 33rd FEBS Congr. and 11th IUBMB Conf.* – Athens, Greece, 2008. – P. 348.
5. *Дубініна Г. Г., Головач С. М., Козловський В. О. та ін. Антипроліферативна дія нових похідних 1-(4-R-бензил)-3-R1-4-(R2-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону* // *Журн. орган. та фармацевт. хімії*. – 2007. – **5**, № 1. – С. 39–49.

6. *Perse M., Cerar A.* The dimethylhydrazine induced colorectal tumours in rat – experimental colorectal carcinogenesis // *Radiol. Oncol.* – 2005. – **39**, No 1. – P. 61–70.
7. *Pozharisski K. M.* Tumours of the intestines // *Pathology of Tumours in Laboratory Animals.* – Lion: IARC, 1990. – Vol. 1. – P. 159–197.

ІНЦ “Інститут біології” Київського національного
університету ім. Тараса Шевченка

Надійшло до редакції 04.07.2013

Е. Н. Бабу́та, О. В. Линча́к, В. К. Рыба́льченко

**Сравнение эффективности нового таргетного соединения
производного малеимида и цитостатика 5-фторурацила
при хемоиндуцированном раке толстой кишки у крыс**

Производное малеимида 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-фениламино)-1H-пиррол-2,5-дион (MI-1) является достаточно эффективным соединением по сравнению с 5-фторурацилом при хемоиндуцированном канцерогенезе толстой кишки крыс. MI-1 является перспективным соединением для дальнейших исследований и может стать основой для разработки новых антиканцерогенных препаратов таргетного направления.

O. M. Babyta, O. V. Lynchak, V. K. Rybalchenko

**Comparison of the effectivenesses of a new targeted compound
maleimide derivative and cytostatic 5-fluorouracil in chemo-induced
colon cancer in rats**

The maleimide derivative 1-(4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrol-2,5-dione (MI-1) is quite efficient in comparison with 5-fluorouracil in rat chemo-induced colon carcinogenesis. MI-1 is a promising compound for the further research and can become a basis for developing new targeted anticancer drugs.