

МЕМБРАНОТРОПНІ І КЛІТИННІ ЕФЕКТИ ПОХІДНИХ МАЛЕІМІДУ ЯК ПОТЕНЦІЙНИХ ПРОТИПУХЛИННИХ СПОЛУК

А. Бичко, О. Артеменко, І. Белінська, О. Гурняк, В. Рибальченко

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології»

вул. акад. Глушкова, 2, корп. 12, Київ 03022, Україна

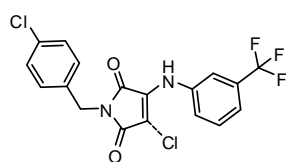
e-mail: byelinska@univ.kiev.ua

В роботі надані порівняння впливу похідних малеїміду МІ на структурно-функціональний стан бімолекулярних мембран і еритроцитів. МІ-1 взаємодіє з мембранними ліпідами, нормалізує кількість ретикулоцитів в крові і відновлює вміст та концентрацію гемоглобіну в еритроцитах, має антиоксидантні властивості і не чинить токсичного впливу на еритропоез щурів. Протипухлинна активність МІ-1 у поєднанні з його антиоксидантними і мембранотропними властивостями та низькою цитотоксичністю є підставою для доклінічних досліджень даної сполуки як нового антиракового препарату.

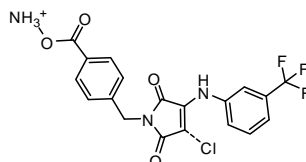
Ключові слова: похідні малеїміду, мембранотропність, перекисне окиснення ліпідів, ретикулоцити, гемоглобін.

Більшість метаболічних шляхів в клітині живого організму регулюється сигнальними каскадами. Так, процеси проліферації, диференціації, росту та обміну речовин контролюються протеїнкіназами каскадами. Порушення в їх функціонуванні внаслідок мутації по одній із ланок ланцюга передачі сигналу може призвести до збільшення експресії протеїнкінази (ПК) і запуску процесів злоякісної трансформації клітини. Тому ефективним засобом профілактики широкого кола онкологічних і аутоімунних захворювань на даному етапі розвитку медико-біологічних досліджень є пошук цільових високоспецифічних інгібіторів активності «мутантних» ПК [8]. Успішність в розробці і впровадженні подібних сполук в медичну практику потребує дотримання двох критичних умов: високої ефективності та таргетності потенційного впливу протипухлинного препарату на механізми ініціації онкогенезу і низький рівень цитотоксичності до нетрансформованих клітин. Складність одночасного дотримання даних умов є очевидною. Однак, показано, що інгібітори ПК характеризуються більшою ефективністю в комплексній терапії широкого кола злоякісних новоутворень і меншою токсичністю в порівнянні із традиційними препаратами [16, 17]. Тому, пошук в даному напрямку є одним з пріоритетних для медико-біологічних досліджень. Науково-виробничим хіміко-біологічним центром Київського

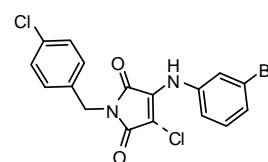
національного університета імені Тараса Шевченка синтезована *in silico* низка інгібіторів ПК – похідних 3,4-дихлор-1*H*-пірол-2,5-діону (малеїміду) [14]. Конкурентне інгібування активності ПК виникає за рахунок блокування її АТФ-з'язуючого сайту. Пре-скринінг по 53 лініям ракових клітин людини показав, що 30 сполук даної групи в концентраціях 10^{-5} – 10^{-4} М здатні ефективно пригнічувати проліферативну активність ракових клітин, в той час як нормальні клітини залишаються відносно резистентними [1, 3]. Також було показано, що найбільш перспективними для подальшої розробки потенційних протиракових препаратів є похідні малеїміду групи МІ (робоча назва) загальною формулою 1-(4- R_1 -бензил)-3-хлор-4-(R_2 -феніламіно)-1*H*-пірол-2,5-діон. Однак, в дослідженнях *in vitro* на культурах ракових клітин НЕК-293 [6] було показано, що антипроліферативна активність представників групи МІ в значній мірі залежить від природи радикальних замісників. Так, при використанні МІ-1 постерігалось 90% пригнічення росту ракових клітин, МІ-3 – 80%, МІ-2 – ефект був практично відсутнім (формули сполук наводяться нижче).



МІ-1



МІ-2



МІ-3

Розгляд похідних малеїміду як потенційних протипухлинних сполук одночасно із визначенням їх клітинних ефектів потребує дослідження їх опосередкованого впливу на елементи протеїнкіназних каскадів. Оскільки, зміни структурно-функціонального стану ліпідного матриксу є важливою зв'язуючою ланкою у функціонуванні клітинних мембран. Тому метою даної роботи є порівняння впливу похідних малеїміду на структурно-функціональний стан біомолекулярних ліпідних мембран і еритроцитів.

Матеріали та методи

З метою дослідження механізмів взаємодії молекул МІ із ліпідним матриксом клітинної мембрани та їх концентраційних ефектів використано метод інфрачервоної (ІЧ) спектроскопії модифікованих сухих плівок фосфатидилхоліну (ФХ). Зразки ліпідів були відібрані із системи двох розчинів, що не змішуються (водний розчин МІ 10^{-8} , 10^{-3} М та 0,5% ФХ в *n*-декані) через 20 хв після їх контакту. Відібраний зразок наносили на підкладку із CaF_2 , після чого його висушували теплим повітрям (55°C) між двома підкладками. Товщина сухих плівок в експерименті становила $10,2 \pm 0,3$ мкм. Спектри сухих плівок реєструвались за допомогою ИКС-29 в діапазоні 4200 – 1200 cm^{-1} при температурі 25°C . Ідентифікація смуг поглинання по характеристичних частотах проводилась у відповідності до довідкових матеріалів [7]. Одночасно був використаний метод нестационарних циклічних

вольт-амперних характеристик (ЦВАХ) [5] бімолекулярних ліпідних мембран (БЛМ), модифікованих МІ в концентраціях 10^{-9} - 10^{-5} М. БЛМ формували із ФХ та азолектину [12] (24 мг/мл в n-декані) в оточенні розчину електроліта (0,1 М КСІ, t° $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$) згідно стандартної методики [13]. Параметри циклічної зміни потенціалу з цис-боку БЛМ становили: амплітуда ± 100 мВ, частота 0,01 Гц. Реєстрацію ЦВАХ і пов'язаних із нею величин питомої провідності (G , нСм/см²) та електричної ємності (C , мкФ/см²) БЛМ проводили через 10 хв після введення МІ в оточуючий мембрану розчин.

Концентраційні ефекти впливу МІ в діапазоні концентрацій 10^{-8} - 10^{-5} М на процес індукованого перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) досліджували методом флуоресцентної спектроскопії швидкості накопичення первинних продуктів ПОЛ (дієнових кон'югатів жирних кислот (ЖК)) в моноламельярних азолектинових ліпосомах. Ліпосоми отримували шляхом соніфікації (10 хв, інтервал 1 хв) суспензії ФХ (5 мг/мл n-декан : 0,1 М КСІ) за допомогою УЗДН-1 (22 кГц, 0,1 кВт) та подальшої термічної обробки (45°C) протягом 35 хв. ПОЛ в немодифікованих (контроль) та попередньо модифікованих МІ ліпосомах індукували 10 мкМ H_2O_2 / 10 мкМ FeCl_3 при температурі $36 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Зміни концентрації продуктів ПОЛ реєстрували за допомогою спектрофлуориметра СДЛ-2 в максимумі їх флуоресценції $\lambda_{\text{max}}^{\text{exc}} = 456$ нм ($\lambda_{\text{возб}} = 330$ нм) протягом 80 хв.

Дослідження МІ-1 *in vivo* проведені на білих лабораторних щурах-самцях з початковою масою 180-200 г, яких утримували в стандартних умовах віварію, із дотриманням принципів біоетики. МІ-1 розведений у 0,1 мл соняшникової олії в дозах 0,027 або 2,7 мг/кг вводили *per os* щоденно протягом 20 тижнів без/або разом із 1,2-диметилгідразином (ДМГ). Доза МІ-1 0,027 мг/кг відповідає концентрації у крові 10^{-6} моль/л, 2,7 мг/кг – 10^{-4} моль/л. Вибрані дози викликали пригнічення проліферації пухлинних клітин *in vitro* на 50% та 90%. Канцероген 1,2-диметилгідразин дигідрохлорид (Sigma) розведений у 0,1 мл фізіологічного розчину в дозі 20 мг/кг вводили підшкірно один раз на тиждень протягом 20 тижнів. Сумісний вплив МІ-1 і 1,2-ДМГ досліджували у вказаних дозах. Контрольні групи одержували 0,1 мл соняшникової олії та/або 0,1 мл фізіологічного розчину у зазначений спосіб. Кров у щурів під ефірним наркозом набирали з пахової вени в пробірку з антикоагулянтом ЕДТА на 21-му тижні експерименту. Кількість ретикулоцитів, еритроцитів, концентрацію гемоглобіну в крові, середній вміст гемоглобіну в еритроциті – МСН, середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті – МСНС визначали загальноприйнятими методами [4].

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою SPSS 16,0 для Windows. Різницю між значеннями показників в групах оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні, оскільки за результатами тесту Шапіро-Уїлка значення показників крові мають ненормальний розподіл в одній із груп порівняння. Обчислювали медіану, 25 і

75 процентилі, найбільше і найменше значення в групах. Різницю вважали вірогідною при $p < 0,01$ [2].

Результати і їхнє обговорення

В спектрах ІЧ-поглинання плівок ФХ, модифікованих МІ в концентрації 10^{-8} та 10^{-5} М, спостерігається наявність смуг поглинання на 1195 і 1240 cm^{-1} (позаплощинні ножничні коливання по індольному циклу), що свідчить про подолання молекулами МІ межі розподілу «водний розчин/ліпід» і їх дифузію в ліпідний розчин. Порівняльний аналіз спектрів ІЧ-поглинання сухих плівок ФХ модифікованих МІ із контролем по характеристичних частотах коливань атомарних груп ліпиду (рис. 1) виявив, що контакт молекул МІ з молекулами ФХ веде до зменшення інтенсивності валентних коливань груп $-\text{CH}_2-$ і $-\text{CH}=\text{}$ внаслідок структурного напруження вздовж ЖК-ланцюгів ФХ. Також зафіксоване збільшення інтенсивності валентних коливань груп $-\text{COO}-$ (1875 cm^{-1}) та $-\text{NH}_3^+$ (1560 cm^{-1}), що може свідчити про наявність електростатичної взаємодії між ФХ та радикальними замісниками МІ [9].

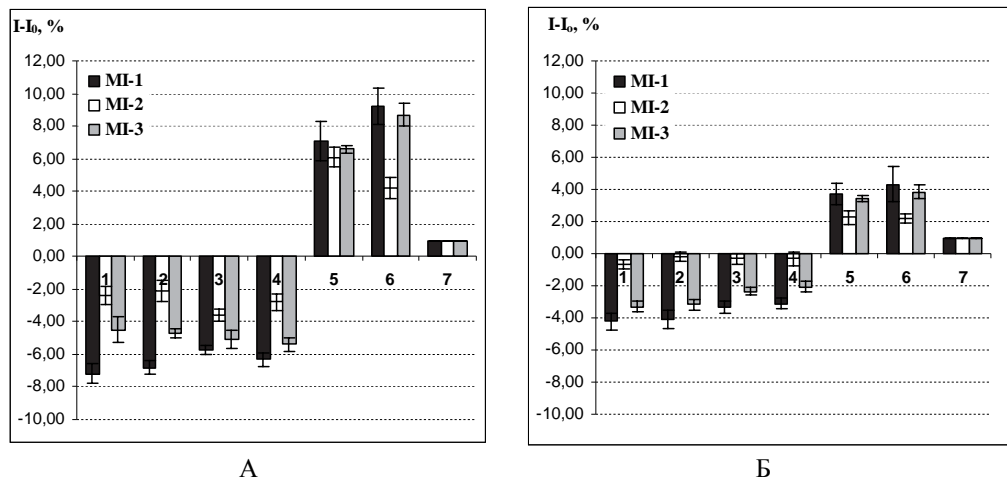
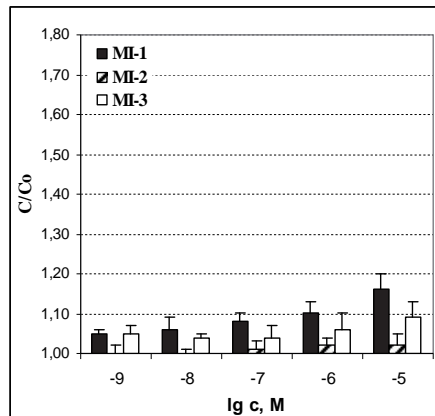
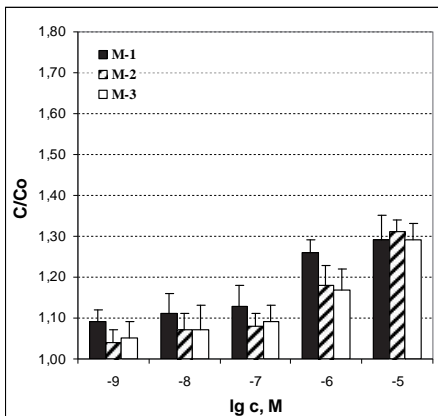
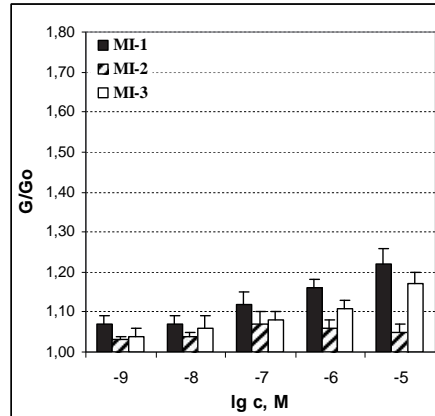
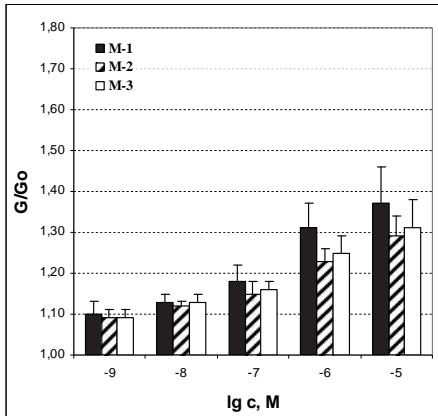


Рис. 1. Порівняльний аналіз інтенсивності ІЧ-поглинання атомарними групами ФХ в сухих плівках ліпиду, модифікованих МІ в концентраціях 10^{-5} М (А) і 10^{-8} М (Б): 1 – валентні симетричні коливання $-\text{CH}=\text{}$ (ν_s 3420 cm^{-1}); 2 – валентні. асиметричні коливання $-\text{CH}=\text{}$ (ν_{as} 3480 cm^{-1}); 3 – валентні симетричні. коливання $-\text{CH}_2-$ (ν_s 3360 cm^{-1}); 4 – валентні асиметричні коливання $-\text{CH}_2-$ (ν_{as} 3270 cm^{-1}); 5 – валентні симетричні. коливання $-\text{COO}-$ (ν_s 1875 cm^{-1}); 6 – валентні. асиметричні коливання $-\text{NH}_3^+$ (ν_{as} 1560 cm^{-1}); 7 – наявність в ІЧ-спектрі позаплощинних ножничних коливань по індольному циклу (1195 і 1240 cm^{-1}), має нечислове значення; I_0 – інтенсивність ІЧ-поглинання перелічених вище атомарних груп в немодифікованих МІ плівках ФХ (контроль).

Величини описаних змін залежать як від концентрації МІ в сухій плівці, так і хімічної природи їх радикальних замісників. Так, модифікація ліпідної фази МІ-1 (R_1 Cl, R_2 CF_3) в концентрації 10^{-5} М призводить до найбільш виражених в ряду МІ змін в спектрі валентних

коливань атомарних груп ФХ, в той час як для MI-2 (R_1 COONH₃, R_2 CF₃) такі зміни виражені значно менше і достовірно не ресструються (для груп -CH₂- и -CH=) при концентрації MI-2 10⁻⁸ М.

Послідовна модифікація азолектинових БЛМ MI в діапазоні концентрацій 10⁻⁹–10⁻⁵ М призводить до залежного від концентрації експоненціального росту величини питомої провідності та електричної ємності (рис. 2, А).



$G_0 = 341,3 \pm 4,2 \text{ нСм/см}^2$
 $C_0 = 0,67 \pm 0,06 \text{ мкФ/см}^2$

А

$G_0 = 287,6 \pm 5,4 \text{ нСм/см}^2$
 $C_0 = 0,59 \pm 0,02 \text{ мкФ/см}^2$

Б

Рис. 2 Концентраційна залежність відносних змін питомої провідності (G/G_0) та питомої електричної ємності (C/C_0) БЛМ, сформованих із азолектина (А) та ФХ (Б), при послідовній модифікації БЛМ MI-1, MI-2 и MI-3 в концентраціях 10⁻⁹-10⁻⁵ М. G_0 и C_0 – питома провідність і електрична ємність немодифікованих БЛМ.

За аналогічних умов впливу MI на ФХ БЛМ показано, що характер змін величин електричних характеристик БЛМ прямо залежить від природи радіальних замісників MI. Так, при модифікації мембран MI-1 и MI-3 (рис. 2, Б) ріст величини їх електричних характеристик зберігав експоненційний характер (хоча і відрізняється меншою інтенсивністю по

відношенню до аналогічних ефектів на азолектинових БЛМ). В той же час модифікація мембран МІ-2 призводила до куполоподібної зміни величини питомої провідності і достовірно не впливала на питому електричну ємність БЛМ.

Загальний аналіз приведених вище результатів досліджень на модельних ліпідних системах дозволяє запропонувати наступний механізм взаємодії похідних малеїміду із ліпідним матриксом клітинної мембрани: молекули МІ, адсорбуючись на поверхні ліпідного бішару, вступають у електростатичні взаємодії із полярними групами голівок ліпідів, інтенсивність яких залежить від природи радикальних замісників МІ (найбільшою є для МІ-1 і найменшою для МІ-2). В дослідженнях методом ЦВАХ показано, що найбільшу інтенсивність мембранотропного впливу на структуру ліпідного бішару МІ проявляють в кластерах катіонних та аніонних ліпідів. В цих кластерах спостерігається часткова інтеркаляція молекул МІ в гідрофобну зону ліпідного бішару, що призводить до дестабілізації структури пакування ліпідів в мембрані і порушення міжланцюгових взаємодій між ними. На загальному рівні це призводить до появи структурних дефектів ліпідного бішару, зменшенню його товщини та збільшенню проникності для заряджених частинок. Слід зазначити, що такі дефекти є недеструктивними і мають характер локальних низькоінтенсивних збурень в структурі ліпідного бішару.

Задля оцінки загальної цитотоксичності МІ на рівні ліпідного матриксу клітинних мембран було проведено дослідження структурно-функціонального зв'язку між їх мембранотропними концентраційними ефектами і процесами перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Встановлено, що попередня модифікація моноламельярних азолектинових ліпосом МІ-2 і МІ-3 в концентрації 10^{-8} - 10^{-5} М на фоні ПОЛ, індукованого Fe^{3+}/H_2O_2 , достовірно не впливає на швидкість накопичення та концентрацію дієвих кон'югатів ЖК по відношенню до немодифікованих ліпосом. Модифікація ліпосом МІ-1 в концентраціях 10^{-8} - 10^{-5} М за аналогічних умов веде до зменшення концентрації первинних продуктів ПОЛ (інтенсивність накопичення є обернено пропорційною концентрації МІ-1). В той час як при модифікації ліпосом МІ-1 в концентрації 10^{-5} М спостерігається збільшення інтенсивності накопичення продуктів ПОЛ (рис. 3).

Приведені вище дані свідчать, що в ряду МІ тільки МІ-1 проявляє антиоксидантні властивості. Достовірно не впливаючи на інтенсивність ПОЛ (виключенням є вплив МІ-1 в концентрації 10^{-5} М), МІ-1 знижує концентрацію первинних продуктів окиснення ліпідів. Протективні властивості МІ-1 максимально проявляються в концентраціях 10^{-8} - 10^{-7} М. Збільшення концентрації МІ-1 (і, відповідно, збільшення інтенсивності мембранотропного впливу на ліпідний бішар) призводить до зниження протективного ефекту за рахунок збільшення доступності ЖК-залишків до окисника.

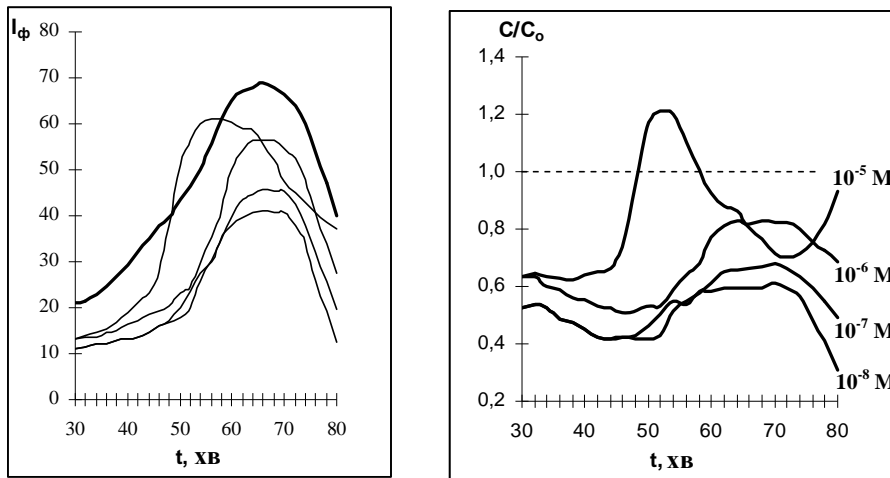


Рис. 3. Кінетика змін інтенсивності флуоресценції ($I_f(t)$) і відносної концентрації ($C_{\text{від}}(t)$) первинних продуктів ПОЛ в азолектинових ліпосомах, модифікованих MI-1 в концентраціях 10^{-8} - 10^{-5} М. К – $I_f(t)$ продуктів ПОЛ в немодифікованих MI-1 ліпосомах, C_0 – концентрація продуктів ПОЛ в немодифікованих MI-1 ліпосомах.

Протективна дія MI-1 на мембрани клітин підтверджується результатами досліджень *in vivo*. Широко використовуваною моделлю для досліджень мембранних ефектів різних речовин є еритроцити ссавців, оскільки вони не мають ядра. Оксидативний стрес характерний для запальних процесів та канцерогенезу [15]. Збільшення перекисного окиснення ліпідів мембран еритроцитів та інших клітин доведене на фоні введення канцерогену ДМГ [10, 11]. Результати наших досліджень свідчать, що наслідком оксидативного стресу при дії ДМГ є збільшення кількості ретикулоцитів («молодих» еритроцитів) (рис. 1, 2 Б) в крові, через стимуляцію еритропоезу для компенсації зруйнованих еритроцитів. Збільшення кількості незрілих клітин супроводжується зменшенням вмісту (МСН) та концентрації (МСНС) гемоглобіну в еритроцитах (рис. 6 В, Г), оскільки в них продовжується синтез гемоглобіну. MI-1 дозозалежно запобігає гемолізу еритроцитів, що підтверджується нормалізацією кількості ретикулоцитів в крові (рис. 4, 5 В, Г) і вмісту та концентрації гемоглобіну в еритроцитах (рис. 6 В, Г). Даний ефект пояснюється зменшенням під дією MI-1 продуктів перекисного окиснення ліпідів при дії ДМГ і стабілізації мембран еритроцитів. MI-1 не чинить токсичного впливу на еритропоез у зазначених концентраціях за умов субхронічного введення (20 тижнів), про що свідчить відсутність різниці у кількості ретикулоцитів (рис. 4), еритроцитів, концентрації гемоглобіну в крові, МСН та МСНС в еритроцитах (рис. 6 А, Б, В, Г) в порівнянні з контрольною групою. Відсутність гематоксичного впливу MI-1 за умов місячного введення показано в роботі [9].

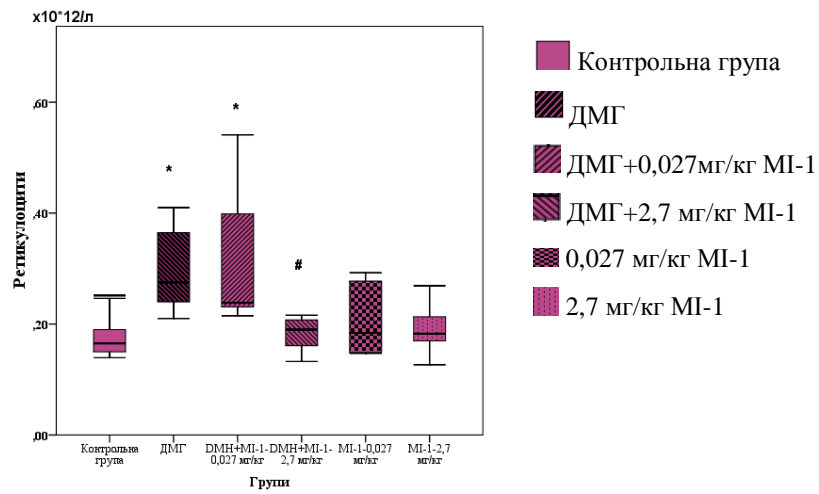


Рис. 4. Кількість ретикулоцитів в крові щурів в нормі, за умов впливу ДМГ та/або МІ-1 в дозах 0,027 і 2,7 мг/кг протягом 20 тижнів: * $P < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою; # $P < 0,01$ в порівнянні з групою ДМГ-індукованого канцерогенезу товстої кишки.

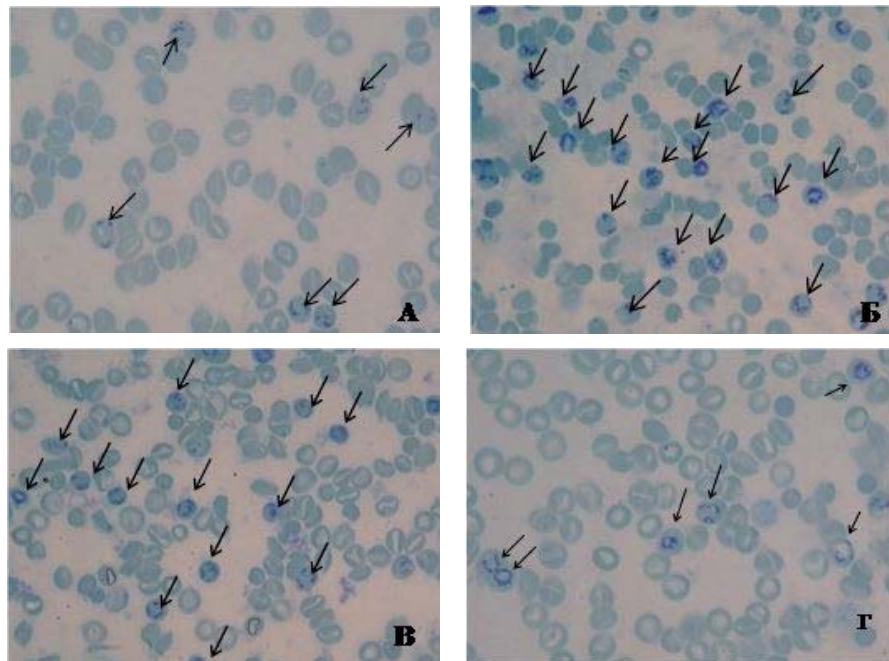
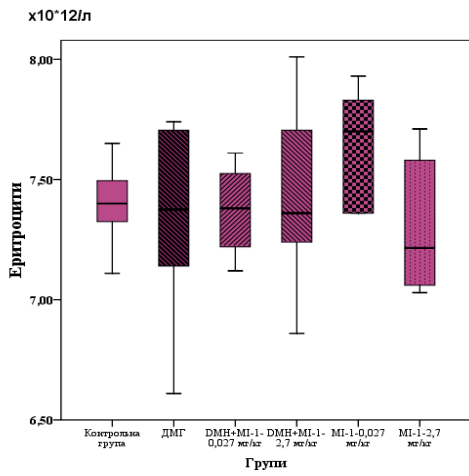
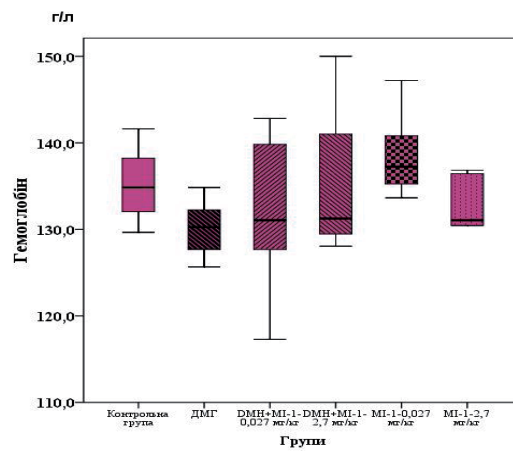


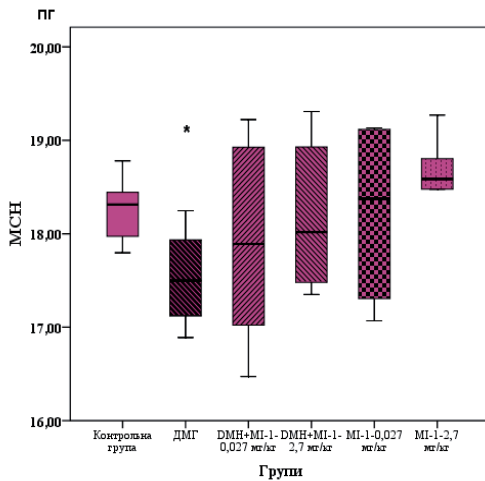
Рис. 5. Мікрофотографії цитологічних препаратів крові (забарвлення діамантовим крезильовим синім) в нормі, за умов впливу ДМГ та МІ-1 в дозах 0,027 і 2,7 мг/кг протягом 20 тижнів, $\times 1000$: А – контрольна група; Б – ДМГ; В – ДМГ + 0,027 мг/кг МІ-1; Г - ДМГ + 2,7 мг/кг МІ-1, стрілками позначені ретикулоцити.



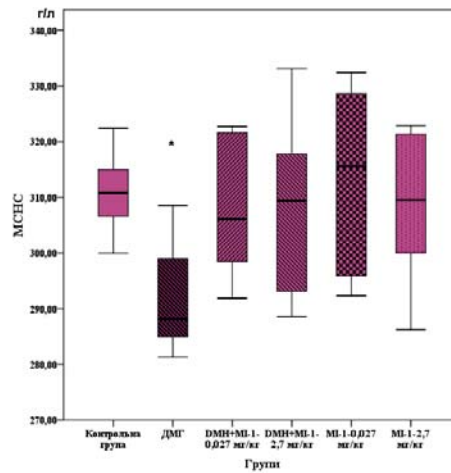
А



Б



В



Г

Рис. 6. Морфофункціональна характеристика еритроцитів крові щурів в нормі, за умов впливу ДМГ та/або МІ-1 в дозах 0,027 і 2,7 мг/кг протягом 20 тижнів, Контрольна група, ДМГ, ДМГ+0,027мг/кг МІ-1, ДМГ+2,7 мг/кг МІ-1, 0,027 мг/кг МІ-1, 2,7 мг/кг МІ-1; * P<0,01 в порівнянні з контрольною групою.

Представлені вище узагальнення щодо молекулярних механізмів впливу похідних maleimide групи МІ на структурно-функціональний стан модельних ліпідних систем дають можливість екстраполювати деякі з них на рівень клітинної мембрани (зокрема ліпідного матриксу). Так, МІ, адсорбуючись на поверхні ліпідного матриксу, здатні частково інкорпоруватись в зону гідрофобних ланцюгів ліпідів, спричиняючи появу локальних структурних дефектів і збільшення проникності ліпідного матриксу. Інтенсивність ефекту прямо залежить від ліпідного складу мембрани, концентрації МІ, хімічної природи їх радикальних замісників і знижується в ряді МІ-1 → МІ-2 → МІ-3. В дослідженнях *in vitro* показано, що МІ-1 в ліпідному матриксі

проявляє антиоксидантну активність, що прямо залежить від концентрації сполуки. Протективна дія MI-1 на плазматичну мембрану клітин підтверджується результатами досліджень *in vivo* на еритроцитах. MI-1 дозозалежно запобігає гемолізу еритроцитів за умов впливу канцерогену 1,2-диметилгідразину, який спричинює ПОЛ цих клітин. В межах оцінки загальної цитотоксичності MI можна стверджувати – досліджені сполуки не спричиняють виражених негативних ефектів на клітинні мембрани і пов'язані із ними процеси, що підтверджується результатами досліджень *in vitro* / *in vivo*. Останнє є важливим для подальшої розробки новітніх протипухлинних препаратів на основі MI.

На прикладі модельних ліпідних систем досліджено молекулярний механізм взаємодії похідних малеїміду групи MI із ліпідним матриксом клітинних мембран. Молекули MI, адсорбуючись на поверхні ліпідного бішару, електростатично взаємодіють із полярними голівками фосфоліпідів і частково інтеркалюються в зону гідрофобних ЖК-залишків, що призводить до появи недеструктивних структурних дефектів і збільшення проникності ліпідного бішару.

В дослідженому ряді MI антиоксидантну активність проявляє тільки MI-1. Інші сполуки достовірно не впливають на процеси перекисного окиснення ліпідів.

MI-1 нормалізує кількість ретикулоцитів у крові і відновлює вміст і концентрацію гемоглобіну в еритроцитах на фоні дії ДМГ як індуктора перекисного окиснення ліпідів, що підтверджує його антиоксидантні властивості *in vivo*.

MI-1 в дозах 0,027 і 2,7 мг/кг при субхронічному введенні (20 тижнів) *in vivo* не чинить токсичного впливу на еритроцити щурів.

Протипухлинна активність MI-1 у поєднанні з його антиоксидантними властивостями і низькою цитотоксичністю є підставою для доклінічних досліджень даної сполуки як нового антиракового препарату.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. 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 // Журнал орган. та фармацевт. хімії. 2007. Т. 5. № 1. Р. 39–49.
2. Гржибовский А. М. Анализ трех и более независимых групп количественных данных // Экология человека. 2008. № 3. С. 50–58.
3. Линчак О. В. Вплив похідного малеїміду на стан печінки та кишечника щурів у нормі та за умов хімічно-індукованого канцерогенезу товстої кишки: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.11. К., 2010. 20 с.
4. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник. Медицинские

- лабораторные технологии / под ред. А.И. Карпищенко. С-Пб.: Интермедика, 2002. 408 с.
5. *Омельченко А. М., Бовыкин Б. А., Сытник Т. В.* Измерение емкости бислойных липидных мембран методом нестационарных циклических вольт-амперных характеристик // Молекуляр. генетика и биофиз. 1990. Вып. 15. С. 17–20.
 6. *Островська Г. В., Ніжерадзе К. А., Дубініна Г. Г., Рибальченко В. К.* Цитостатична дія похідних малеїміду на клітини лінії НЕК 293// II з'їзд Укр. тов-ва клітинної біології. К., 2007. С. 126.
 7. *Шрайнер Р., Фьюзон Р., Кёртин Д.* Идентификация органических соединений. М.: Наука, 1983. 704 с.
 8. *Blume-Jensen P., Hunter T.* Oncogenic kinase signaling // Nature. 2001. Vol. 411. P. 355–365.
 9. *Byelinska I. V., Rybalchenko V. K., Ostrovska G. V., Dyagil I. S.* Hematological effects of protein kinases inhibitor maleimide derivative (1-(4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione) // J. Pre-Clinical and Clinical Research. 2010. Vol. 4. N 1. P. 32–35.
 10. *Hamiza O. O., Rehman M. U., Tahir M. et al.* Amelioration of 1,2 dimethylhydrazine (DMH) induced colon oxidative stress, inflammation and tumor promotion response by tannic acid in wistar rats // Asian Pacific J. Cancer Prev. 2012. Vol. 13. N 9. P. 4393–4402.
 11. *Harzallah H. J., Grayaa R., Kharoubi W. et al.* Thymoquinone, the nigella sativa bioactive compound, prevents circulatory oxidative stress caused by 1,2-dimethylhydrazine in erythrocyte during colon postinitiation carcinogenesis // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2012. doi:10.1155/2012/854065. 6 p.
 12. *Letters R.* The application of twodimensionalpaper chromatographic technique to analysis of phospholipids // Biochem. J. 1964. Vol. 93. N 2. P. 313–316.
 13. *Mueller P., Rudin D. O., Tien H. T., Wescott W. C.* Methods for the formation of single bimolecylar lipid membranes in aqueous solution // Nature. 1962. Vol. 194. P. 976.
 14. Pat. 22204 (UA). Compound of 1,4-disubstituted 5-amino-1,2-dihydropyrrole-3-one having anticancer activity: G.G. Dubinina, Yu. M. Volovenko – 21.02.2006. Appl. U200601855. 25.04.2007.
 15. *Perse M.* Oxidative Stress in the Pathogenesis of Colorectal Cancer: Cause or Consequence? // BioMed Research Int. 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/725710> – 9.
 16. *Shoshan M. C., Linder S.* Promiscuous and specific anti-cancer drugs: combating biological complexity with complex therapy // Cancer Therapy. 2004. Vol. 2. P. 297–304.
 17. *Thaimattam R., Banerjee R., Miglani R., Iqbal J.* Protein kinase inhibitors: structural insights into selectivity // Curr Pharm Des. 2007. Vol. 13. N 27. P. 2751–2765.

Стаття: надійшла до редакції 03.06.14

доопрацьована 21.09.14

прийнята до друку 22.09.14

**MEMBRANOTROPIC AND CELLULAR EFFECTS OF MALEIMIDE DERIVATIVES AS
POTENTIAL ANTITUMOR COMPOUNDS****A. Bychko, A. Artemenko, I. Byelinska, O. Gurnyak, V. Rybalchenko**

*Taras Shevchenko National University of Kyiv
Educational and Scientific Centre "Institute of Biology"
2, Academician Glushkov Ave., Kyiv 03022, Ukraine
e-mail: byelinska@univ.kiev.ua*

The effects of different maleimide derivatives MI on structural and functional state of bimolecular membranes and erythrocytes were compared. Interaction of MI-1 with membrane lipids and its antioxidant properties were observed. Normalization of blood reticulocyte count and restorage the mean corpuscular (erythrocytes) hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration caused by MI-1 were shown. No evidence of MI-1 erythropoietic toxicity was obtained. Antitumor activity of MI-1 together with its antioxidant and membranotropic properties and low cytotoxicity could be the reason for its preclinical studies as a new anticancer drug.

Keywords: maleimide derivatives, membranotropic properties, membrane lipid peroxidation, reticulocytes, hemoglobin.

**МЕМБРАНОТРОПНЫЕ И КЛЕТочНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРОИЗВОДНЫХ
МАЛЕИМИДА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНО ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ****А. Бычко, А. Артеменко, И. Белинская, О. Гурняк, В. Рыбальченко**

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
НУЦ «Институт биологии»
просп. Академика Глушкова, 2, корп. 12, Киев 03022, Украина
e-mail: byelinska@univ.kiev.ua*

В работе представлены сравнения влияния производных малеимида MI на структурно-функциональное состояние бимолекулярных мембран и эритроцитов. MI-1 взаимодействует с мембранными липидами, нормализует количество ретикулоцитов в крови и восстанавливает содержание и концентрацию гемоглобина в эритроцитах, проявляет антиоксидантные свойства и не имеет токсического воздействия на эритропоэз крыс. Противоопухолевая активность MI-1 совместно с его антиоксидантными и мембранотропными свойствами и низкой цитотоксичностью является основанием для доклинических исследований данного соединения как нового антиракового препарата.

Ключевые слова: производное малеимида, мембранотропность, перекисное окисление липидов, ретикулоциты, гемоглобин.