



УДК 577.35+577.352+576.577+577.121.7

ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА ДИХАННЯ МІТОХОНДРІЙ У ПЕЧІНЦІ ЩУРА ЗА ДІЇ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛІВ *IN VITRO*

Я. Р. Шалай¹, С. М. Мандзинець¹, Н. С. Фінюк^{1,2}, В. П. Гренюх¹, А. М. Бабський¹

¹ Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

² Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, Львів 79005, Україна
e-mail: yarunash@gmail.com

Shalai Ya. R., Mandzynets S.M., Finiuk N.S., Hreniukh V.P., Babsky A.M. Processes of lipoperoxidation and respiration of mitochondria in rat liver under the action of thiazoles derivatives *in vitro*. **Studia Biologica**, 2018: 12(2); 35–44 • <https://doi.org/10.30970/sbi.1202.551>

Побічні ефекти є однією із основних проблем хіміотерапевтичного лікування, оскільки протипухлинні препарати негативно впливають на здорові клітини, зокрема, гепатоцити. Печінка є основним детоксикуючим органом у людини і тварин та відіграє важливу роль у виведенні з організму лікарських препаратів. Тому зміни у процесах вільнорадикального окиснення та дихальній функції мітохондрій у клітинах печінки за дії новосинтезованих протипухлинних речовин можуть вказувати на негативні побічні ефекти. Раніше встановлено, що похідні тіазолу виявляють антинеопластичну активність щодо ракових клітин. Досліджували вплив *in vitro* двох новосинтезованих похідних тіазолів (N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксаміду та 8-метил-2-Ме-7-[трифлюорометил-фенілметил]піразоло[4,3-е][1,3]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-ону) в концентраціях 1, 10 і 50 мкМ на процеси пероксидного окиснення ліпідів у мембранах гепатоцитів, а також на процеси дихання й окисного фосфорилювання у мітохондріях печінки щура. За дії цих речовин не виявлено змін продуктів первинного пероксидного окиснення ліпідів, а вміст вторинних продуктів достовірно знижується. Такі результати доводять, що досліджувані речовини взаємодіють з активними формами кисню (АФК), нейтралізуючи їх. Інтенсивність процесів дихання й окисного фосфорилювання у мітохондріях печінки практично не змінювалися за впливу досліджуваних похідних тіазолів. Єдині винятки, коли спостерігали зміни енергетичних процесів, стосувалися високої концентрації (50 мкМ) речовин із неселективним впливом. Оскільки досліджувані похідні тіазолів, як було з'ясовано раніше, виявляють високу цитотоксичність стосовно ракових клітин, то ці речовини можуть бути потенційними протипухлинними препаратами.

Ключові слова: печінка, ліпопероксидні процеси, дихання мітохондрій, тіазоли

ВСТУП

Хіміотерапію широко використовують для лікування раку, зокрема, пухлин лімфогонного походження [14]. Однією з основних проблем хіміотерапевтичного лікування є побічні ефекти, коли протипухлинні препарати негативно впливають на здорові клітини, зокрема, гепатоцити [8]. Відомо, що печінка є основним детоксуючим органом у людини і тварин, забезпечуючи виведення з організму лікарських препаратів [15].

Зміни у процесах вільнорадикального окиснення у клітинах печінки за дії новосинтезованих протипухлинних речовин можуть свідчити про негативні побічні ефекти, які часто виникають за прийому таких препаратів [11]. Побічні ефекти хіміотерапевтичних препаратів можуть бути пов'язані також із пошкодженням функціонування мітохондрій, які відіграють важливу роль у процесах енергозабезпечення, апоптозу, клітинної сигналізації та ін. Полярнографічний метод дає змогу швидко оцінити зміни процесів дихання та синтезу АТФ за різних метаболічних станів [6, 7].

Останнім часом похідні тіазолів широко досліджують як потенційні протипухлинні препарати [18]. У наших попередніх дослідженнях встановлено, що похідні тіазолу мають антинеопластичну активність щодо клітин лінії U251 гліобластоми і лінії WM793 меланоми людини [4].

У роботі оцінювали можливу побічну дію новосинтезованих похідних тіазолів на функціональні параметри гепатоцитів, зокрема, вільнорадикальне окиснення, дихання й окисне фосфорилування у мітохондріях.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліди виконані на білих щурах-самцях лінії Wistar масою 200–250 г. Тварин утримували у стаціонарних умовах віварію за постійної температури на основному раціоні. Усі маніпуляції з тваринами проводили згідно з національними “Загальними етичними принципами проведення експериментів на тваринах”, ухваленими Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001), що узгоджуються з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовують для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, Франція, 1985). Протокол біоетичної експертизи біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка: № 09032018 від 27. 03. 2018 р.

Тварин наркотизували хлороформом, після чого декапітували, робили розтин очеревини і швидко вирізали печінку, яку зважували та перфузували для видалення крові. Гомогенат печінки готували у співвідношенні 1 г тканини до 8 мл середовища гомогенізації. Гомогенат центрифугували 3 хв за 150 g та 4 хв за 300 g без зупинки центрифуги для осадження ядерної фракції. Мітохондрії та мембранну фракцію печінки щурів виділяли методом диференційного центрифугування із модифікаціями [8]. Мітохондріальну фракцію отримували центрифугуванням супернатанту впродовж 15 хв за 4500 g. Супернатант після цього центрифугування містив мембрани міросом, уламки плазматичної мембрани й інші мембранні структури, які є легшими за мітохондрії [6]. Усі етапи виділення проводили за температури 0–2 °С.

Досліджували ефекти похідних тіазолів (робочі назви 1 і 2) на різних експериментальних групах тварин. Повна хімічна назва **речовини 1** – N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід, повна хімічна назва **речовини 2** 8-метил-2-Ме-7-[трифлюорометил-фенілметил]піразоло[4,3-е][1,3]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-он [5]. Базовий 10 мМ розчин досліджуваних похідних у ди-

метилсульфоксиді до концентрації 10, 100 та 500 мкМ дистильованою водою. Речовини додавали до дослідного зразка (діючі (кінцеві) концентрації – 1, 10 і 50 мкМ) та інкубували протягом 10 хв. У мембранній фракції гепатоцитів визначали інтенсивність процесів ліпопероксидації за вмістом первинних (гідропероксиди ліпідів) і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, які утворюються в реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-позитивні продукти).

Вміст гідропероксидів визначали фотометричним методом за довжини хвилі поглинання 480 нм [13]. Вміст гідропероксидів ліпідів виражали в умовних одиницях на 1 мг білка.

ТБК-позитивні продукти визначали за методом Р. Тимирбулатова й Е. Селезньова [16], за активації пероксидації ліпідів іонами заліза. Екстинкцію вимірювали за довжини хвилі 532 нм.

Осад мітохондрій ресуспензували середовищем гомогенізації у співвідношенні 1 г тканини до 0,1 мл середовища. Отриману суспензію мітохондрій упродовж полярографічного дослідження зберігали у пробірці, розташованій у льодяній воді, і використовували для подальших досліджень. Концентрацію мітохондріального білка вимірювали за О. Лоурі та ін. [10]. Усі етапи виділення проводили за температури 0–4 °С.

Швидкість поглинання кисню реєстрували полярографічним методом за температури 25 °С. Для цього в полярографічну комірку об'ємом 1,4 мл послідовно додавали середовище інкубації, субстрат окиснення і 140 мкл суспензії мітохондрій печінки. Дослідні речовини 1 і 2 додавали у комірку перед додаванням мітохондрій із розрахунку отримання кінцевих концентрацій речовин 1, 10 і 50 мкМ. Як екзогенні субстрати окиснення використовували α -кетоглутарат і сукцинат у концентраціях, близьких до K_m – 1 і 0,35 мМ відповідно. Дихання стимулювали додаванням 320 нмоль АДФ (кінцева концентрація – 200 мкмоль/л).

Полярограми аналізували за допомогою авторської програми MitoDancer (<https://github.com/grenuh/MitoDancer>) [9]. Визначали швидкості дихання у метаболічних станах 2 (дихання перед додаванням АДФ), 3 (дихання за фосфорилування АДФ) і 4 (дихання після фосфорилування АДФ) [1]. Розраховували дихальний контроль за Б. Чансом (відношення швидкості дихання у стані 3 до швидкості дихання у стані 4), ефективність (АДФ/О), час (T_f) і швидкість (V_f) окисного фосфорилування.

Математично-статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням пакету програм Microsoft Excel. Вірогідність різниці між статистичними групами визначали за Стьюдентом [2]. За статистично достовірні приймали зміни з $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

N. Finiuk et al. [5] встановили, що знешкоджувачі АФК, наприклад, аскорбінова кислота, D-манітол чи N-ацетилцистеїн, знижують протипухлинну активність похідних тіазолів, що вказує на їхню взаємодію з АФК. Відомо, що у більшості клітин у нормі головним генератором АФК є мітохондрії [12]. Тому було важливо дослідити, чи змінюватиметься за дії цих похідних перебіг процесів пероксидного окиснення ліпідів у мембранах гепатоцитів і оцінити функціональний стан мітохондрій за дії досліджуваних речовин.

Вплив похідних тіазолів на вміст первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення у печінці щура. На рис. 1 представлено вміст гідропероксидів за дії досліджуваних речовин: А – речовина 1, Б – речовина 2. Вплив обох препаратів вивчали на різних експериментальних групах тварин. Контрольні проби,

однак, достовірно між собою не відрізнялися: $0,030 \pm 0,002$ і $0,034 \pm 0,003$ умовних одиниць на мг білка. Як видно, за дії речовини 1 в усіх трьох концентраціях (1, 10 і 50 мкМ) рівень гідропероксидів у мембранній фракції гепатоцитів не змінювався (рис. 1, А). Речовина 2 також не впливала на рівень гідропероксидів у гепатоцитах (рис. 1, Б). Ці дані підтверджують, що досліджувані речовини *in vitro* не змінюють процесів первинного окиснення ліпідів, вміст гідропероксидів у мембранній фракції гепатоцитів і, ймовірно, не впливають на активність ферментів антиоксидантної системи захисту в печінці.

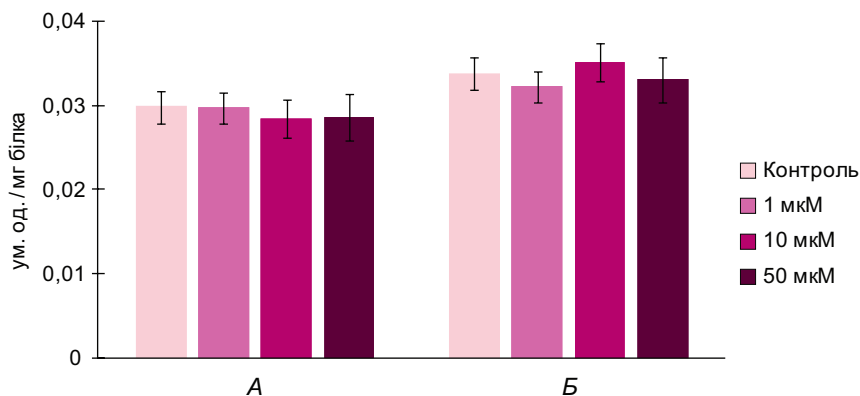


Рис. 1. Вміст гідропероксидів у мембранній фракції гепатоцитів за додавання речовин 1 (А) і 2 (Б) у концентраціях 1, 10 і 50 мкМ. $M \pm m$; $n = 5$

Fig. 1. The content of hydroperoxides in the membrane fraction of hepatocytes after the addition of substances 1 (A) and 2 (B) at concentrations of 1, 10 and 50 μ M. $M \pm m$; $n = 5$

Гідропероксиди – первинні продукти пероксидного окиснення ліпідів, які швидко вступають у подальші реакції окиснення та відновлення і є джерелом утворення вторинних продуктів [12]. Тому інтенсивність пероксидних процесів у клітині також оцінюють за вмістом вторинних продуктів ліпопероксидації, так званих ТБК-позитивних продуктів [12]. Як відомо, деякі похідні тіазолів мають антиоксидантні властивості [17]. На це вказує зниження вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів, зокрема, ТБК-позитивних продуктів, який оцінювали за рівнем малонового діальдегіду.

Кількість ТБК-позитивних продуктів у мембранній фракції гепатоцитів за дії речовин 1 (А) і 2 (Б) представлено на рис. 2. Встановлено, що контрольний вміст цих продуктів в обох досліджуваних групах був у межах $0,46 \pm 0,03$ і $0,49 \pm 0,04$ мкмоль/мг білка та достовірно не відрізнявся. Як видно, найнижча із досліджуваних концентрацій (1 мкМ) не спричиняла достовірних змін за дії обох речовин. Однак речовина 1 у концентраціях 10 і 50 мкМ достовірно знижувала вміст ТБК-позитивних продуктів на 14 і 30 %, відповідно (рис. 2, А). Подібний ефект спостерігали і за додавання речовини 2 у тих же концентраціях, коли вміст ТБК-позитивних продуктів достовірно знижувався за дії цієї речовини на 20 і 22 %, відповідно (рис. 2, Б).

Отже, похідні тіазолу за умов *in vitro* не змінюють рівня первинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у мембранній фракції гепатоцитів. Зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів може вказувати на ймовірну взаємодію досліджуваних речовин з АФК.

Це опосередковано засвідчує, що досліджувані похідні тіазолів не лише не активують, але і сповільнюють утворення продуктів пероксидного окиснення.

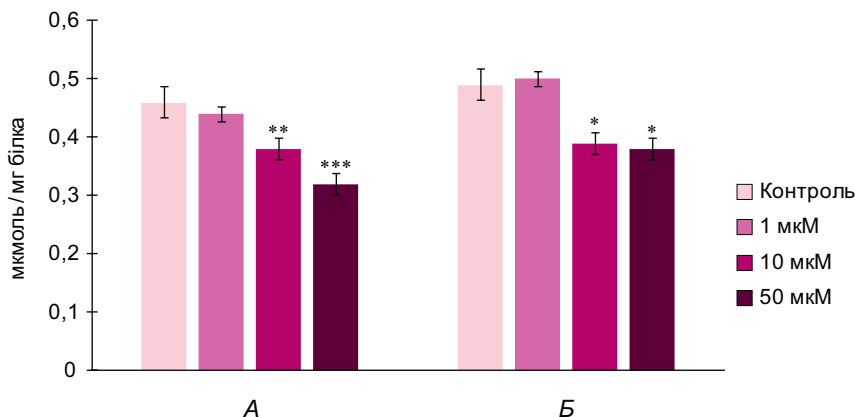


Рис. 2. Вміст ТБК-позитивних продуктів у мембранній фракції гепатоцитів за додавання речовин 1 (А) і 2 (Б) у концентраціях 1, 10 і 50 мкМ. М±m; n = 5. * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001 (vs контроль)

Fig. 2. The content of TBA-positive products in the membrane fraction of hepatocytes after the addition of substances 1 (A) and 2 (B) at concentrations of 1, 10 and 50 μM. M±m; n = 5. * – P < 0.05; ** – P < 0.01; *** – P < 0.001 (vs control)

Вплив похідних тіазолів на дихання ізольованих мітохондрій печінки щура. На рис. 3 представлено діаграми швидкостей дихання мітохондрій печінки у метаболічних станах 2, 3 і 4 за окиснення сукцинату й α-кетоглутарату і додавання у полярографічну комірку досліджуваної речовини 1 у концентраціях 1, 10 та 50 мкМ. Як видно, на жодну з досліджуваних швидкостей дихання за окиснення обох субстратів речовина 1 не впливала.

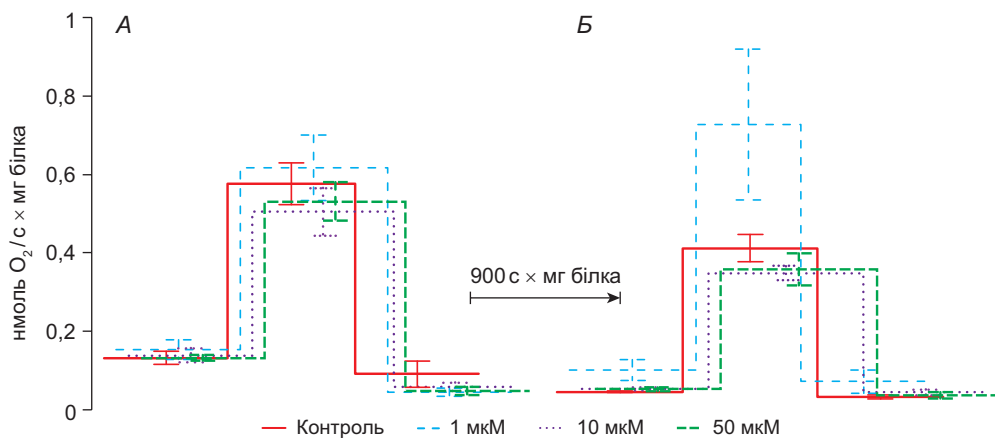


Рис. 3. Вплив речовини 1 у концентраціях 1, 10 і 50 мкМ на швидкості дихання мітохондрій печінки у різних метаболічних станах за окиснення сукцинату (А) та α-кетоглутарату (Б), n = 5

Fig. 3. Influence of substance 1 at concentrations of 1, 10 and 50 μM on the rate of respiration of the liver mitochondria in different metabolic states for the oxidation of succinate (A) and α-ketoglutarate (B), n = 5

Достовірність зростання середнього арифметичного значення швидкості дихання у 3-му метаболічному стані за дії речовини у концентрації 1 мкМ за окиснення

α -кетоглутарату (з 0,42 до 0,74 $\mu\text{моль O}_2 / \text{с} \times \text{мг білка}$) (рис. 3, Б) не було підтверджено статистично через велику варіабельність ($\sigma = 0,44$) первинних даних.

За додавання речовини 2 у комірку й окиснення екзогенного сукцинату з мітохондріями за тих самих концентрацій (1, 10 та 50 $\mu\text{мМ}$) достовірних змін швидкостей дихання в усіх метаболічних станах не спостерігали (рис. 4, А). За окиснення α -кетоглутарату ця речовина також не впливала на швидкість дихання у 3-му метаболічному стані. Тільки у 2-му та 4-му метаболічних станах за окиснення цього НАД-залежного субстрату найвища концентрація речовини 2 (50 $\mu\text{мМ}$) зумовлювала зростання швидкості дихання на 20 і 14,3 %, порівняно з контролем (рис. 4, Б). Варто зазначити, що за результатами попередніх досліджень похідних тiazолів їхня концентрація 50 $\mu\text{мМ}$ вже спричиняла неспецифічну цитотоксичність щодо клітин гліобластоми U251, меланоми WM793 та псевдонормальних ембріональних клітин нирки HEK293T [3].

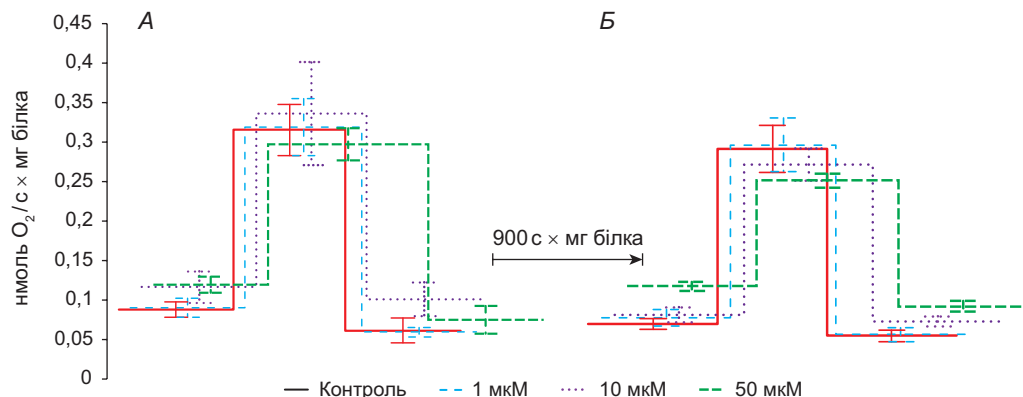


Рис. 4. Вплив речовини 2 у концентраціях 1, 10 і 50 $\mu\text{мМ}$ на швидкості дихання мітохондрій печінки у різних метаболічних станах за окиснення сукцинату (А) та α -кетоглутарату (Б), $n = 5$. * – $P < 0,05$ (vs контроль)

Fig. 4. Influence of substance 2 at concentrations of 1, 10 and 50 μM on the rate of respiration of the liver hmitochondria in different metabolic states for the oxidation of succinate (A) and α -ketoglutarate (B), $n = 5$. * – $P < 0.05$ (vs control)

Дихальний контроль за Чансом (V_3/V_4) характеризує спряженість процесів дихання й окисного фосфорилування, а також опосередковано – інтактність мітохондріальних мембран. Зниження чи підвищення дихального контролю свідчать, відповідно, про зменшення або зростання спряженості процесів дихання й окисного фосфорилування. Дані дихального контролю за окиснення α -кетоглутарату і сукцинату та впливу речовин 1 (А) і 2 (Б) представлені на рис. 5. Ні речовина 1, ні речовина 2 статистично достовірно не змінювали спряженість процесів дихання й окисного фосфорилування.

Важливим показником для оцінювання ефективності окисного фосфорилування у мітохондріях є співвідношення кількості АДФ, використаного для синтезу АТФ, до кількості спожитого кисню. Цей показник (АДФ/О) залежить від кількості залучених у процес окисного фосфорилування пунктів спряження в дихальному ланцюгу мітохондрій і кількості енергії, яка витрачається на транспорт АДФ і P_i , крізь мембрану. Зокрема, за окиснення НАД-залежних субстратів величина АДФ/О теоретично дорівнює 2,5, а сукцинату – 1,5. У наших експериментах абсолютні величини цих показників були занижені, що може бути причиною зрослих енерго-

затрат саме на транспортні процеси АТФ, АДФ і Φ_n у мітохондріях. Зазвичай АДФ/О є доволі стабільним показником. У наших дослідах тільки найвища концентрація речовини 2 (50 мкМ) знижувала АДФ/О за окиснення і α -кетоглутарату (з $1,08 \pm 0,02$ до $0,96 \pm 0,04$ мкмоль АДФ/мкмоль O_2), і сукцинату (з $0,77 \pm 0,06$ до $0,56 \pm 0,06$ мкмоль АДФ/мкмоль O_2) (рис. 5, А). Водночас речовина 1 не спричиняла змін ефективності фосфорилування в мітохондріях печінки (рис. 5, Б).

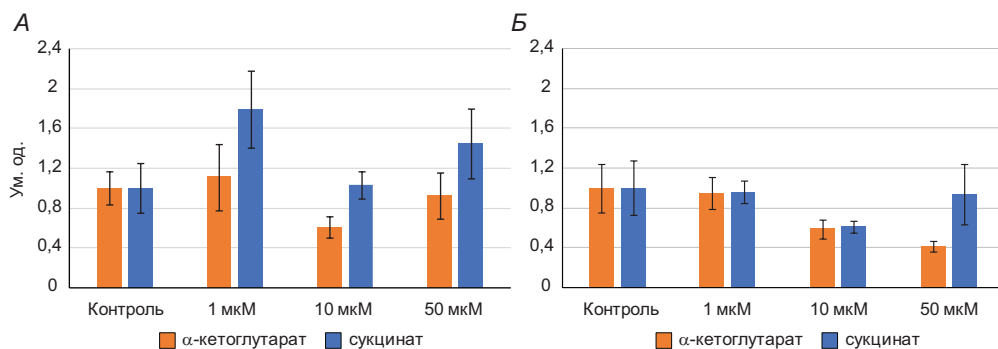


Рис. 5. Вплив речовини 1 (А) та речовини 2 (Б) у концентраціях 1, 10 і 50 мкМ на дихальний контроль мітохондрій печінки за окиснення α -кетоглутарату і сукцинату, $n = 5$. Дані нормалізовано щодо контрольних показників

Fig. 5. Effect of substances 1 (A) and 2 (B) at concentrations of 1, 10 and 50 μ M on respiratory control of liver mitochondria for the oxidation of α -ketoglutarate and succinate, $n = 5$. Data are normalized relative to control data

Було також обчислено швидкість і час фосфорилування за впливу досліджуваних речовин. Ці показники характеризують відповідно інтенсивність і час утворення АТФ. Швидкість фосфорилування розраховують як добуток АДФ/О та V_3 . Час фосфорилування – це добуток тривалості фосфорилування АДФ (Δt) у секундах на кількість білка в мг. Ці показники є обернено залежними, тобто збільшення швидкості фосфорилування супроводжується зниженням часу фосфорилування, і навпаки. Приклад одночасної презентації даних швидкості й часу фосфорилування представлено на рис. 6, де показано також вплив речовини 2 за окиснення

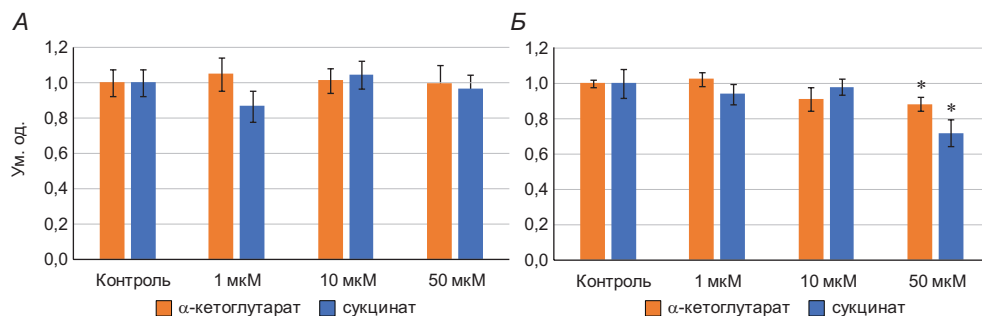


Рис. 6. Вплив речовин 1 (А) та 2 (Б) у концентраціях 1, 10 і 50 мкМ на співвідношення АДФ/О у мітохондріях печінки за окиснення α -кетоглутарату і сукцинату. Показники нормалізовані щодо контрольних значень, прийнятих за одиницю. $n = 5$, * – $P < 0,05$ (vs контроль)

Fig. 6. Effect of substances 1 (A) and 2 (B) at concentrations of 1, 10 and 50 μ M on the ADP/O ratio in liver mitochondria for the oxidation of α -ketoglutarate and succinate. Data are normalized relative to control values. $n = 5$, * – $P < 0.05$ (vs control)

α -кетоглутарату й сукцинату. Як видно, за окиснення α -кетоглутарату речовина 2 за всіх використаних концентрацій не змінювала швидкість і час фосфорилування. За окиснення сукцинату речовина 2 також не змінювала швидкість і час фосфорилування, за винятком дози 50 мкМ, коли знижувалася швидкість і збільшувався час фосфорилування.

Отже, досліджувані похідні тіазолів не впливали на вміст первинних продуктів, але достовірно знижували вміст вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Ці дані опосередковано вказують на те, що досліджувані речовини не мають безпосереднього впливу на рівень прооксидантних процесів у клітинах печінки.

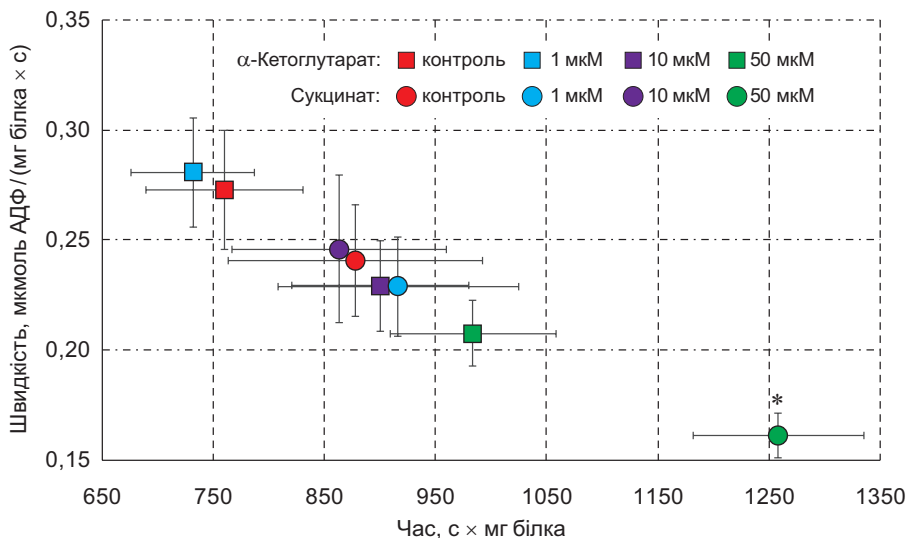


Рис. 7. Швидкість і час фосфорилування мітохондрій печінки за дії речовини 2. Субстрати окиснення: α -кетоглутарат і сукцинат. Концентрації речовини 2: 0 (контроль), 1, 10, 50 мкМ. n = 5, * P < 0,05

Fig. 7. Phosphorylation rate and phosphorylation time of the liver mitochondria under the action of the substance 2. Oxidation substrate: α -ketoglutarate and succinate. Concentration of substance 2: 0 (control), 1, 10, 50 μ M. n = 5, * P < 0.05

Інтенсивність вільнорадикальних процесів залежить від метаболічної активності мітохондрійного дихального ланцюга (зокрема, його IV комплексу – цитохром-оксидази), що є одним із активних продуцентів гідропероксидного радикала. Оскільки речовина 1 не змінювала жодного із досліджуваних показників дихання й окисного фосфорилування, а речовина 2 змінювала окремі показники лише за надвисокої концентрації – 50 мкМ, то можемо вважати, що ці речовини не впливають достовірно на дихання та синтез АТФ у мітохондріях. Згідно з нашими попередніми даними цитотоксичності досліджуваних препаратів [4], дія їхньої високої концентрації (50 мкМ) є неспецифічною (на відміну від 1 і 10 мкМ) та спричиняє незворотні зміни як у ракових, так і в нормальних клітинах.

Похідні тіазолів останнім часом інтенсивно досліджуються як потенційні проти-пухлинні препарати. Зокрема, з'ясовано, що деякі з них виявляють високу цитотоксичність до певних ліній ракових клітин, таких як гліобластома U251 та меланома WM793 [3, 9]. Водночас ці похідні не виявляють цитотоксичного ефекту щодо псевдонормальних ембріональних клітин нирки НЕК293.

ВИСНОВКИ

З'ясовано, що новосинтезовані похідні тіазолів не впливають суттєво на процеси ліпопероксидації, а також мітохондріального дихання та синтезу АТФ у клітинах печінки щурів. Оскільки досліджувані тіазоли, як було з'ясовано раніше, виявляють високу селективну цитотоксичність стосовно ракових клітин, ці речовини можуть бути використані *in vivo* як протипухлинні препарати, які не мають шкідливих побічних ефектів.

ПОДЯКА

Робота виконана частково у рамках держбюджетної теми 0003U156000 МОН України. Автори вдячні співробітникам кафедри органічної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка проф. М.Д. Обушаку, доц. В.С. Матійчуку та доц. Ю.В. Остап'юку за надані речовини і допомогу в роботі.

1. *Chance B., Williams G.* Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. The steady state. **J. Biol. Chem.** 1955; 217: 409–27. [Google Scholar].
2. *Derkach M.P., Humetsky R.Ya., Chaban M.E.* Course of variation statistics: a manual for university students. Kyiv: Vyscha Schkola, 1977. 208 p. (In Ukrainian).
3. *Finiuk N., Boiko N., Klyuchivska O., Kobylinska L., Kril I., Zimenkovsky B., Lesyk R., Stoika R.* 4-Thiazolidinone derivative Les-3833 effectively inhibits viability of human melanoma cells through activating apoptotic mechanisms. **Croat. Med. J.** 2017; 58(2): 129–139. [DOI: <https://doi.org/10.3325/cmj.2017.58.129>; PMID: 28409496; Google Scholar].
4. *Finiuk N.S., Hreniuh V.P., Ostapiuk Yu.V., Matiychuk V.S., Frolov D.A., Obushak M.D., Stoika R.S., Babsky A.M.* Antineoplastic activity of novel thiazole derivatives. **Biopolym. Cell.** 2017; 33(2): 135–146. [DOI: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.00094B>; Google Scholar].
5. *Finiuk N.S., Ostapiuk Yu.V., Hreniukh V.P., Shalai Ya.R., Matiychuk V.S., Obushak M.D., Stoika R.S., Babsky A.M.* Evaluation of antiproliferative activity of pyrazolothiazolopyrimidine derivatives. **Ukr. Biochem. J.** 2018; 90(2): 16–23. [DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj90.02.025>].
6. *Hreniukh V., Bychkova S., Kulachkovsky O., Babsky A.* Effect of bafilomycin and NAADP on membrane-associated ATPases and respiration of isolated mitochondria of the murine Nemeth-Kellner lymphoma. **Cell Biochem. Funct.** 2016; 34(8): 579–587 [DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/cbf.3231>; PMID: 27862060; Google Scholar].
7. *Hreniukh V.P., Lutsik M.D., Stoika R.S., Babsky A.M.* Comparative characteristics of respiration and oxidative phosphorylation in mitochondria of cells of mouse liver and lymphoma NK/Ly. **Studia Biologica.** 2015; 9(2): 39–50 (In Ukrainian). [Google Scholar].
8. *Hreniukh V., Lehka L., Yelisyeyeva O., Panchuk R., Stoika R., Babsky A.* Effect of landomycin A on respiration and oxidative phosphorylation in mitochondria. **Visnyk of the Lviv University. Series Biology.** 2015; 69: 49–56. (In Ukrainian). [Google Scholar].
9. *Kobylinska L.I., Klyuchivska O.Y., Grytsyna I.I., Finiuk N.S., Panchuk R.R., Starykovych M.O., Lehka L.V., Lesyk R.B., Zimenkovsky B.S., Stoika R.S.* Differential pro-apoptotic effects of synthetic 4-thiazolidinone derivative Les-3288, doxorubicin and temozolomide in human glioma U251 cells. **Croat. Med. J.** 2017; 58(2): 150–159. [PMID: 28409498; Google Scholar].
10. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 1951; 193: 265–275. [Google Scholar].
11. *Marchenko M.M., Ketsa O.V.* Generation of superoxide radicals by components of the monoxygenase system of the liver of previously irradiated tumor rats. **Ukr. Biochem. J.** 2012; 84(6): 101–108. (In Ukrainian). [PMID: 23387274; Google Scholar].
12. *Menshchikova E.B., Lankin V.Z., Bondar N.K., Krugovykh N.F., Trufakin V.A.* **Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants.** Moscow: Slovo, 2006. 556 p. (In Russian). [Google Scholar].
13. *Mironchik V.V.* Method for the determination of lipid hydroperoxides in biological tissues. AS N 1084681 USSR, MKI (In Russian). [Google Scholar].

14. Narang A.S., Desai D.S. Anticancer Drug Development. Unique Aspects of Pharmaceutical Development. *Pharmaceutical Perspectives of Cancer Therapeutics*. Springer Science Business Media, 2009; 49–92. [Google Scholar].
15. Pilkevich N.B., Razaidibedin V.M., Boyarchuk O.D. **Anatomy, physiology and biochemistry of the liver**: a manual for students of higher educational institutions. Luhansk: Alma mater, 2007. 55 p (In Ukrainian). [Google Scholar]
16. Timirbulatov R.R., Seleznev E.I. Method of increasing the intensity of free radical oxidation of lipid-containing components of blood and its diagnostic value. *Lab. Delo*, 1981; 4: 209–11 (In Russian). [Google Scholar].
17. Turov K.V., Krupskaya T.V., Barvinchenko V.M. Antiradical Properties of Thiazole Derivatives. Influence on metabolic activity of yeast. *Biotechnologia Acta*, 2012; 5(3): 75–83 (In Ukrainian). [Google Scholar].
18. Zhou C.H., Wang Y. Recent researches in triazole compounds as medicinal drugs. *Curr. Med. Chem*, 2012; 19(2): 239–80. [PMID: 22320301; Google Scholar].

PROCESSES OF LIPOPEROXIDATION AND RESPIRATION OF MITOCHONDRIA IN RAT LIVER UNDER THE ACTION OF THIAZOLES DERIVATIVES *IN VITRO*

Ya. R. Shalai¹, S. M. Mandzynets¹, N. S. Finiuk^{1,2}, V. P. Hreniukh¹, A. M. Babsky¹

¹ Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

² Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine, 14–16, Drahomanov St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: yarunash@gmail.com

One of the main problems of chemotherapy is development of negative side effects, when anti-tumor drugs damage healthy cells, in particular hepatocytes. Liver is the main detoxifying organ in human and animals. This organ plays an important role in the excretion of drugs from the body. Changes in free radical oxidation processes and respiratory function of mitochondria in liver cells following the effects of newly synthesized antitumor agents may indicate adverse side effects that often occur after taking such substances. It was shown that thiazole derivatives possess anti-neoplastic activity against cancer cells *in vitro*. The influence *in vitro* of newly synthesized derivatives of thiazoles (N-(5-benzyl-1,3-thiazol-2-yl)-3,5-dimethyl-1-benzofuran-2-carboxamide and 8-methyl-2-Me-7-[trifluoromethyl-phenylmethyl]-pyrazolo-[4,3-e]-[1,3]-thiazolo-[3,2-a]-pyrimidin-4(2H)-one) in concentration of 1, 10 and 50 μM on lipid peroxidation processes in hepatocyte membranes, respiration and oxidative phosphorylation in rat liver mitochondria was studied. The effects of these substances did not reveal changes in the products of the primary peroxide lipid oxidation, and the content of secondary products was significantly reduced. Such results may indicate that the studied substances might to interact with the active forms of Oxygen, while the antioxidant defense system was not changed. These results may also indirectly indicate that the thiazole derivatives not only do not activate, but also decrease the formation of peroxide oxidation products. The processes of respiration and oxidative phosphorylation in liver mitochondria practically did not change due to the influence of the studied thiazole derivatives. The only exceptions when energy changes were observed at using high doses (50 μM) of substances with nonselective effects. Since the studied thiazole derivatives, as shown earlier, exhibit high cytotoxicity to cancer cells, these substances can be applied as antitumor drugs with minimal negative side effects.

Keywords: liver, lipoperoxidation processes, respiration of mitochondria, thiazoles

Одержано: 19.03.2018