

УДК 577.336:[547.789:543.426+615.277.3]

## ХАРАКТЕРИСТИКА НОВИХ ПОХІДНИХ 4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ: СПЕКТРИ ЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ ТА ОЦІНКА ПОТЕНЦІЙНОЇ ПРОТИПУХЛИННОЇ АКТИВНОСТІ

Л.І. Кобилінська<sup>1</sup>, Т.С. Малий<sup>3</sup>, С.В. Апуневич<sup>3</sup>, І.Г. Маньковська<sup>3</sup>,  
А.С. Волошиновський<sup>3</sup>, О.Ю. Ключівська<sup>4</sup>, Р.С. Стойка<sup>4</sup>, Р.Б. Лесик<sup>2</sup>,  
Б.С. Зіменковський<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра біологічної хімії, <sup>2</sup>кафедра фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії,  
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69,  
Львів, 79010, Україна  
e-mail: lesya8@gmail.com

<sup>3</sup>Кафедра експериментальної фізики, Львівський національний університет імені Івана Франка,  
вул. Кирила і Мефодія, 8а, Львів, 79005, Україна

<sup>4</sup>Відділ регуляції проліферації клітин та апоптозу, Інститут біології клітини НАН України,  
вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 79005, Україна

Надійшла до редакції 31 жовтня 2016 року

Прийнята 25 листопада 2016 року

Метою роботи було вимірювання спектрів пропускання та дослідження спектрів люмінесценції і збудження люмінесценції трьох нових протипухлинних похідних 4-тіазолідинонів (ID 3288, ID 3882, ID 3833) для характеристики їх здатності виявляти фотоіндуковану цитотоксичність щодо пухлинних клітин лінії L1210 лейкозу миші. Встановлено, що спектри збудження люмінесценції і спектри люмінесценції порошкових зразків ID 3288, ID 3882 та ID 3833 суттєво відрізняються від таких спектрів, визначених у їхніх водних розчинах. Спектр люмінесценції порошкового зразка сполуки ID 3288 має нижчу інтенсивність від спектрів сполук ID 3882 і ID 3833. Спектр люмінесценції розчину сполуки ID 3882 має найнижчу інтенсивність, а спектр люмінесценції розчину сполуки ID 3833 виявляє найвищу інтенсивність. В статті обговорені перспективи використання одержаних результатів щодо спектрів збудженої люмінесценції сполук ID 3833, ID 3882 та ID 3288 у фотодинамічній протипухлинній хіміотерапії.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** 4-тіазолідинони, спектри люмінесценції, збудження люмінесценції, цитотоксична дія.

## ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 4-ТИАЗОЛИДИНОНОВ: СПЕКТРЫ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ И ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ

Л.И. Кобылинская<sup>1</sup>, Т.С. Малий<sup>3</sup>, С.В. Апуневич<sup>3</sup>, И. Маньковская<sup>3</sup>,  
А.С. Волошиновский<sup>3</sup>, А.Ю. Ключивская<sup>4</sup>, Р.С. Стойка<sup>4</sup>, Р.Б. Лесик<sup>2</sup>,  
Б.С. Зименковский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра биологической химии, <sup>2</sup>Кафедра фармацевтической, органической и биоорганической химии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, ул. Пекарская, 69, Львов, 79010, Украина

<sup>3</sup>Кафедра экспериментальной физики, Львовский национальный университет имени Ивана Франко, ул. Кирилла и Мефодия, 8а Львов, 79005, Украина

<sup>4</sup>Отдел регуляции пролиферации клеток и апоптоза, Институт биологии клетки НАН Украины, ул. Драгоманова, 14/16, Львов, 79005, Украина

Целью работы было измерение спектров пропускания и исследование спектров люминесценции и возбуждения люминесценции трех новых противоопухолевых производных 4-тиазолидинонов (ID 3288, ID 3882, ID 3833) для характеристики их способности проявлять фотоиндуцированную цитотоксичность на опухолевые клетки линии L1210 лейкоза мыши. Установлено, что спектры возбуждения люминесценции и спектры люминесценции порошковых образцов ID 3288, ID 3882 и ID 3833 существенно отличаются от таких спектров, определяемых в водных растворах этих образцов. Спектр люминесценции порошкового образца соединения ID 3288 имеет более низкую интенсивность по сравнению со спектрами соединений ID 3882 и ID 3833. Спектр люминесценции

раствора соединения ID 3882 имеет самую низкую интенсивность, а спектр люминесценции раствора соединения ID 3833 характеризуется наивысшей интенсивностью. В статье обсуждены перспективы использования результатов, полученных при измерении спектров возбужденной люминесценции соединений ID 3833, ID 3882 и ID 3288, в фотодинамической противоопухолевой химиотерапии.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** 4-тиазолидиноны, спектры люминесценции, возбуждения люминесценции, цитотоксическое действие.

#### CHARACTERIZATION OF THE NOVEL 4-THIAZOLIDINONE DERIVATIVES: LUMINESCENCE SPECTRA AND POTENTIAL ANTITUMOR ACTIVITY

L.I. Kobylinska<sup>1</sup>, T.S. Malyi<sup>3</sup>, S.V. Apunevych<sup>3</sup>, I.G. Mankovska<sup>3</sup>,  
A.S. Voloshynovsky<sup>3</sup>, O.M. Klyuchivska<sup>4</sup>, R.S. Stoika<sup>4</sup>, R.B. Lesyk<sup>2</sup>,  
B.S. Zimenkovsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, <sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Chemistry, Danylo Halitsky Lviv National Medical University, Pekarska str., 69, Lviv, 79010, Ukraine

<sup>3</sup>Department of Experimental Physics, Ivan Franko Lviv National University, Kyrylo and Methodiy str., 8a, Lviv, 79005, Ukraine

<sup>4</sup>Department of Regulation of Cell Proliferation and Apoptosis, Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine, Drahomanov str., 14/16, Lviv, 79005, Ukraine

This study was aimed at measurement of the transmission, luminescence spectra, and luminescence excitation spectra of three novel anticancer 4-thiazolidinone derivatives (ID 3288, ID 3882, ID 3833) in order to characterize the photoinduced cytotoxicity of these compounds against murine leukemia L1210 cell line. The luminescence and luminescence excitation spectra of the ID 3288, ID 3882 and ID 3833 powders differed significantly from those measured in aqueous solution. Furthermore, the luminescence of the ID 3288 powder had lower intensity as compared to that of the ID 3882 and ID 3833 powders. The luminescence of the ID 3882 aqueous solution showed the lowest intensity, while the ID 3833 demonstrated the highest intensity. The potential of application of the obtained results in the photodynamic anticancer chemotherapy has been discussed.

**KEY WORDS:** 4-thiazolidinone, spectrum of luminescence, luminescence excitation, cytotoxic effect.

Фотодинамічна терапія пухлин – це метод лікування онкологічних хворих, що ґрунтується на вибіркового нагромадженні фотосенсибілізатора у пухлині з наступним опроміненням її джерелом світла з довжиною хвилі, відповідної спектру поглинання цього фотосенсибілізатора [1, 2]. За присутності кисню відбувається фотохімічна реакція з генерацією активних форм кисню, які пошкоджують пухлинні клітини, викликаючи їх загибель [1-3]. Окрім прямого впливу вільнорадикальних форм кисню на пухлинні клітини під час фотодинамічної терапії, важливу роль тут відіграють такі процеси, як: деструкція ендотелію кровоносних судин в зоні опромінення, внаслідок якої має місце тромбоз судин і порушення живлення пухлини, а також цитокінова реакція, обумовлена стимуляцією продукції фактора некрозу пухлини, активацією макрофагів, лейкоцитів і лімфоцитів [2, 4, 5]. Фотосенсибілізатори, які нагромаджуються у пухлинних клітинах, не токсичні без світлової експозиції, тому, поступаючи у нормальні тканини, завдяки випромінюванню світла у певній ділянці, не спричиняють токсичного ефекту. Окрім цього, в організмі також існують природні сполуки, здатні до люмінесценції після їх опромінення хвилями певної довжини [4, 7]. Наприклад, лімфоцити чи гранулоцити здатні після активації включати тригерні механізми продукції активних форм кисню за участю хемілюмінесценції [4, 5]. Перевагами фотодинамічної терапії є локальність ураження злоякісних пухлин, відсутність токсичних реакцій в організмі, імуносупресивної дії, місцевих і системних ускладнень, а також можливість проводити лікування в амбулаторних умовах [1, 2, 8]. Фотодинамічну терапію часто поєднують з хіміотерапією, коли реалізація цитотоксичного впливу протипухлинних сполук відбувається за участю АФК, під впливом збудження люмінесценції [2, 3, 6-8]. Тому актуальною є розробка хіміопрепаратів нового покоління, які не лише вбивають пухлинні клітини, не

пошкоджуючи при цьому здорові клітини тканин і органів, але й володіють додатково певними спектральними характеристиками.

З метою скринінгу нових протипухлинних препаратів у рамках міжнародної програми Development Therapeutic Program при Національному Інституті Раку США як потенційні протипухлинні чинники нами були запропоновані нові синтетичні гетероциклічні похідні 4-тіазолідинону [9]. За вказаною програмою досліджено їх цитотоксичну дію на людські пухлинні клітини 60-ти різних ліній [10]. Показано, що поєднання тіазолідинового, піразолінового і 2-оксоіндолінового фрагментів у більш «жорстку» трициклічну систему 3-[2-(3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-іл)-4-оксо-4H-тіазол-5-іліден]-1,3-дигідроіндол-2-он дозволяє досягнути цитостатичного ефекту в багатьох із цих ліній пухлинних клітин [11]. За результатами попередніх досліджень нами встановлено, що найбільш перспективними для подальшого використання можуть бути піразолін-тіазолідинон-індолінові кон'югати, серед них найактивнішими є сполуки, позначені як ID 3288, ID 3833 і ID 3882 [12]. Структурні формули цих потенційних протипухлинних сполук наведені на рис. 1. Разом з тим, структурно-функціональні взаємозв'язки для цих субстанцій охарактеризовані недостатньо. Відповіді на питання про такі взаємозв'язки є важливими для подальшого вдосконалення структури цих речовин з метою посилення їх потенційної протипухлинної активності.

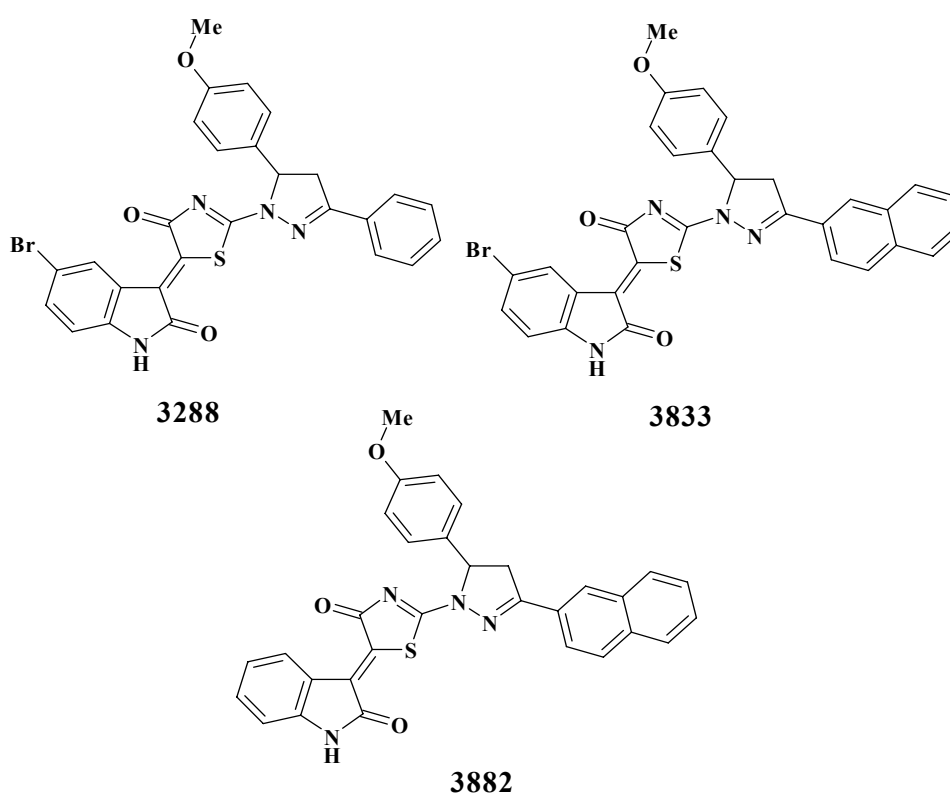


Рис. 1. Структура нових синтетичних похідних 4-тіазолідинонів – сполук ID3882, ID3288 і ID3833.

Раніше нами встановлено, що нові похідні 4-тіазолідинонів – сполуки ID 3288, ID 3882, ID 3833 – володіють різною за силою токсичною дією на пухлинні клітини тварин і людини [13]. Ми намагалися виявити можливість візуально відстежувати ці синтетичні протипухлинні сполуки за допомогою мікроскопічних методів після їх додавання до культури клітин, як це відбувається у випадку з доксорубіцином [14]. Метою даної роботи було дослідити спектри люмінесценції збудження та

люмінесценції 3-ох перспективних похідних 4-тіазолідинонів для характеристики здатності досліджуваних сполук виявляти фотоіндуковану цитотоксичність щодо пухлинних клітин. Це дозволить збуджувати їхню люмінесценцію в пухлинних клітинах за допомогою опромінення лазером з певною довжиною хвилі, щоб підвищити їхню цитотоксичну активність. Як експериментальну модель у роботі використовували клітини лінії L1210 лейкозу миші.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

**Синтез похідних 4-тіазолідинону.** Похідні 4-тіазолідинону синтезували на кафедрі фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Львівського Національного медичного університету імені Данила Галицького [9]. Хімічні назви досліджуваних похідних: ID 3288 – 5-бромо-3-{2-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4,5-дигідро-1,3-тіазол-5-іліден}-2,3-дигідро-1*H*-індол-2-он, ID 3833 – 5-бромо-3-{2-[5-(4-метоксифеніл)-3-нафтален-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4,5-дигідро-1,3-тіазол-5-іліден}-2,3-дигідро-1*H*-індол-2-он, ID 3882 – 3-{2-[5-(4-метоксифеніл)-3-нафтален-2-іл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4,5-дигідро-1,3-тіазол-5-іліден}-2,3-дигідро-1*H*-індол-2-он (рис. 1). Хімічну структуру синтезованих похідних 4-тіазолідинону підтверджували за допомогою методів спектроскопії та елементарного аналізу ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  і LCMS). Синтез піразолін-тіазолідинон-ізатинових похідних проводили в одній реакційній системі відповідно до описаного протоколу [11], де вихідною речовиною слугував – 3,5-діарил-1-тіокарбамоїл-2-піразолін, який отримували у реакції:

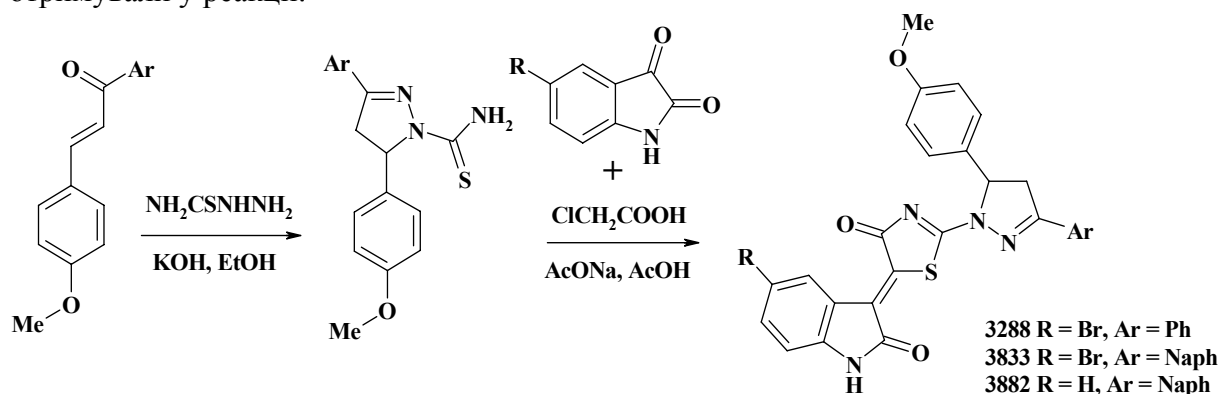


Рис.2. Схема синтезу похідних 4-тіазолідинонів - сполук ID3288, ID3833 і ID3882.

**Вимірювання спектрів пропускання** здійснювали на автоматизованій спектральній установці КСВУ-12. У спектральному діапазоні 200 – 800 нм застосовували дифракційні ґратки 1200 штр./мм з оберненою лінійною дисперсією в першому порядку 2,4 нм/мм. Як джерело випромінювання використовували дейтерієву лампу ДДС-30 і лампу розжарення ОП-33-0,3.

**Дослідження спектрів люмінесценції і збудження люмінесценції водневою лампою.** Джерелом збудження слугувала воднева лампа із неперервним спектром випромінювання в області 200-400 нм. Окремі довжини хвиль збуджуючого світла виділялися за допомогою монохроматора МДР-12. Світло зі зразка потрапляло на монохроматор МДР-12. Реєстрацію світла здійснювали зі допомогою фотопомножувача ФЭУ-100. Схема лабораторної установки для вимірювання спектрів люмінесценції та спектрів збудження люмінесценції представлена на рис. 3.

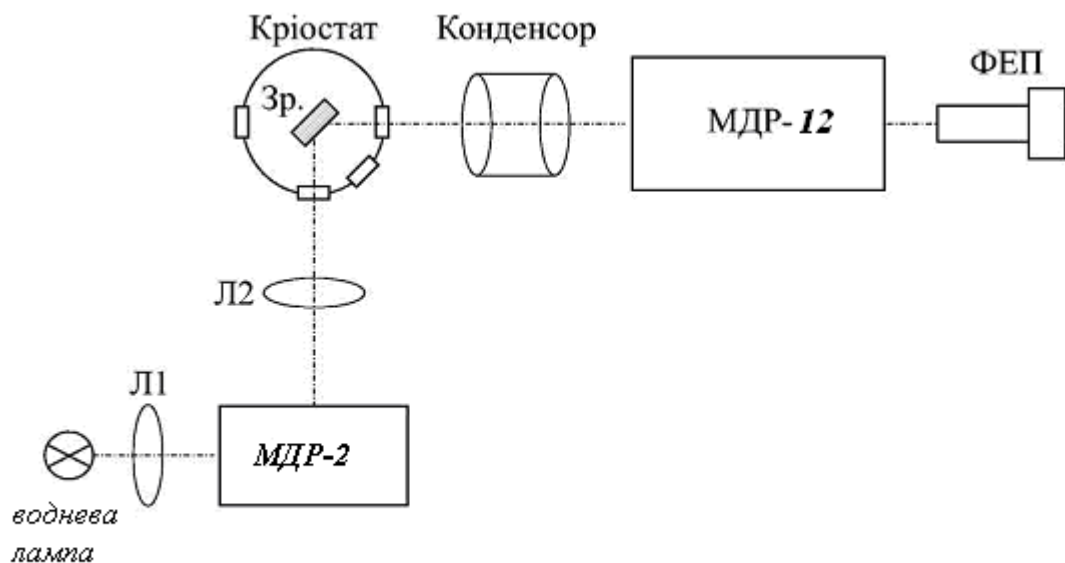


Рис.3. Схема експериментальної установки для дослідження спектрів люмінесценції та спектрів збудження люмінесценції. Скорочення розшифровані в тексті статті.

Спектри збудження люмінесценції нормувалися за умови постійного числа падаючих на кристал квантів світла по спектру. Для цього використовували коригувальний коефіцієнт, побудований за допомогою вимірювання спектру збудження фотолюмінесценції натрію саліцилату, який має постійний квантовий вихід у широкому діапазоні спектру. Охоплюваний діапазон довжин хвиль люмінесценції становив 200-750 нм.

**Клітини та їх культивування.** У досліджах використовували суспензійні (субстрат-незалежні) клітини лінії L1210 лейкозу миші. Клітини були одержані у рамках науково-технічної співпраці з колекції Інституту ракових досліджень Віденського медичного університету (Відень, Австрія). Клітини культивували у середовищі Ігла, модифікованому Дульбекко (DMEM, Sigma, США) із додаванням 10 % сироватки крові ембріонів великої рогатої худоби (Sigma, США). Клітини вирощували у CO<sub>2</sub>-інкубаторі при температурі 37 °С, 5 % CO<sub>2</sub> і 95 % вологості. Пересів клітин проводили у співвідношенні 1:5 через 2-3 доби інкубації. Для дослідів клітини висівали в 24-лункові пластикові планшети (Greiner Bio-One, Німеччина). Цитотоксичний ефект протипухлинних препаратів на лейкозні клітини вивчали через 72 год, використовуючи тест з барвником МТТ (Sigma, США). Протипухлинні сполуки були додані в різних концентраціях відразу ж після посіву клітин без періоду адаптації. Після дії протипухлинних похідних визначали частку життєздатних клітин за допомогою аналізу з реагентом МТТ відповідно до рекомендацій його виробника (Sigma, США). Принцип визначення полягає у здатності ензимів дегідрогеназ мітохондрій живих клітин відновлювати незабарвлені форми 3-4,5-диметилтіазол-2-іл-2,5-дифенілтетразолію (реагент МТТ) до формазану пурпурного кольору. Фіолетовий продукт реакції (кристали формазану, розчинені у диметилсульфоксиді (ДМСО)), кількісно визначали у багатоканальному Мікрофотометрі BioTek 76 883 (BioTek, США) при 490 нм. Оптична густина формазанового похідного МТТ барвника прямо пропорційна до ступеня життєздатності клітин (за функціональною активністю мітохондрій). Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали загально прийнятими методами

варіаційної статистики із використанням програм ANOVA GraphPad Prism (версія 5.00) із визначенням SD та P. Статистично вірогідною вважали різницю, коли  $p \leq 0,05$

## РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

### Дослідження спектрів люмінесценції збудження та люмінесценції протипухлинних похідних 4-тіазолідинонів (ID 3288, ID 3882, ID 3833)

На першому етапі дослідження було визначено спектри пропускання нових протипухлинних похідних 4-тіазолідинону – сполук ID 3288, ID 3882, ID 3833. Результати експерименту показали, що ці спектри зразків ID 3882 і ID3833 в діапазоні 250–400 нм подібні між собою і характеризуються двома смугами з максимумами в області 295-305 нм і 340 нм. Тоді як для зразка ID 3288 спостерігається одна смуга пропускання з максимумом при 330 нм. За результатами такого аналізу не виявлено особливостей спектральних характеристик цих сполук, які б могли вказувати на ефективність їх біологічної (цитотоксичної) дії щодо пухлинних клітин тварин і людини.

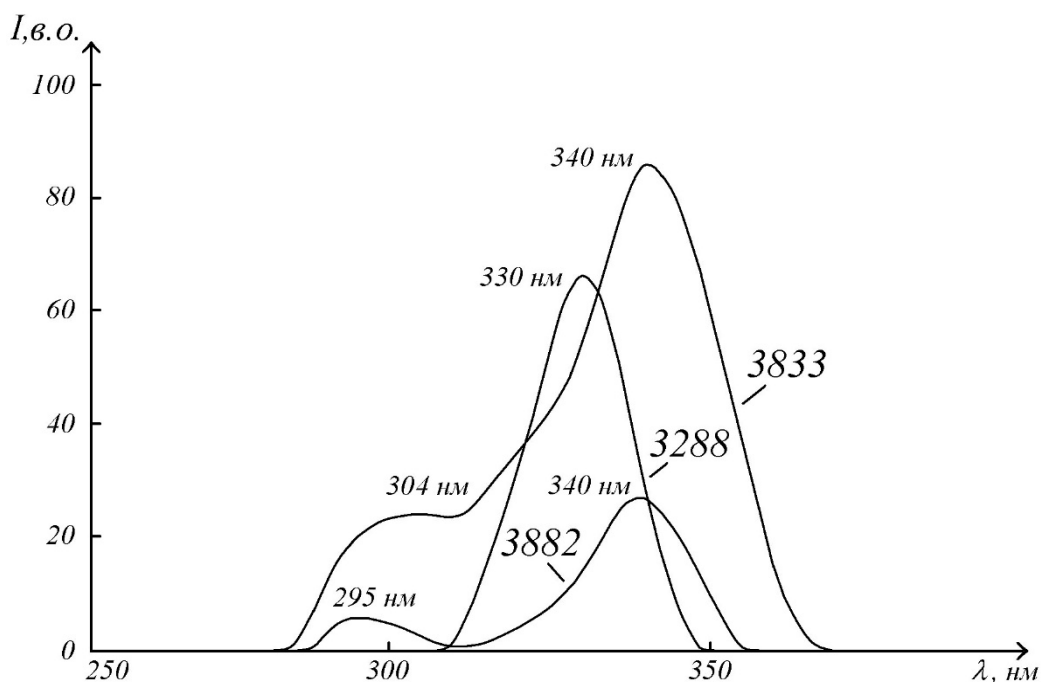


Рис. 4. Спектри пропускання водних розчинів нових синтетичних похідних 4-тіазолідинону (ID 3288, ID 3882 і ID 3833).

Наступним етапом було дослідження спектрів люмінесценції і збудження люмінесценції експериментальних протипухлинних сполук ID 3288, ID 3882 і ID 3833 водневою лампою. На рис. 5-8 наведені спектри люмінесценції і збудження люмінесценції порошкових зразків (рис. 5-6) і розчинів досліджуваних сполук (рис. 7-8), відповідно. Як видно з рис. 5 і 6, збудження люмінесценції порошоків похідних ID 3288, ID 3882 і ID 3833 має місце за 2-х максимумів довжини хвилі – приблизно при 330 нм і 400 нм. Збудження люмінесценції ID 3288 при обох цих довжинах хвилі має меншу інтенсивність, а максимум довжини хвилі збудження при 330 нм зміщений на кілька нм в бік меншої довжини хвилі. Значних відмінностей за цими показниками між спектрами збудження люмінесценції ID 3882 і ID 3833 не виявлено. Що стосується спектрів люмінесценції порошкових зразків сполук ID 3288, ID 3882 та ID 3833, то найбільш відмінним є такий спектр ID 3288, а саме: значно нижча інтенсивність

люмінесценції ID 3288 при обох виявлених максимумах довжини хвилі – 372 нм і 456 нм, тоді як в ID 3882 і ID 3833 ці спектри практично співпадали. Також знайдено зміщення в більший бік максимуму довжини хвилі при 372 нм в спектрі люмінесценції порошкового зразка ID 3288.

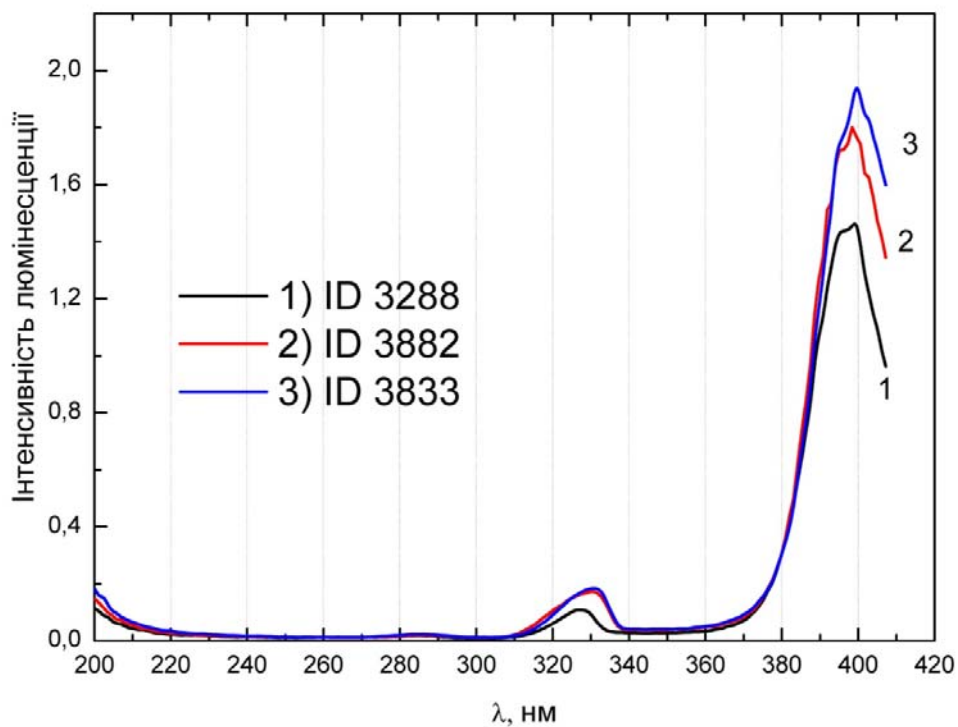


Рис. 5. Спектри збудження люмінесценції порошкових зразків ID 3288 (крива 1), ID 3882 (крива 2) та ID 3833 (крива 3) для довжини випромінювання  $\lambda_{\text{люм}}=455$  нм. В спектрі можна виділити дві широкі смуги з максимумами при 330 та 400 нм.

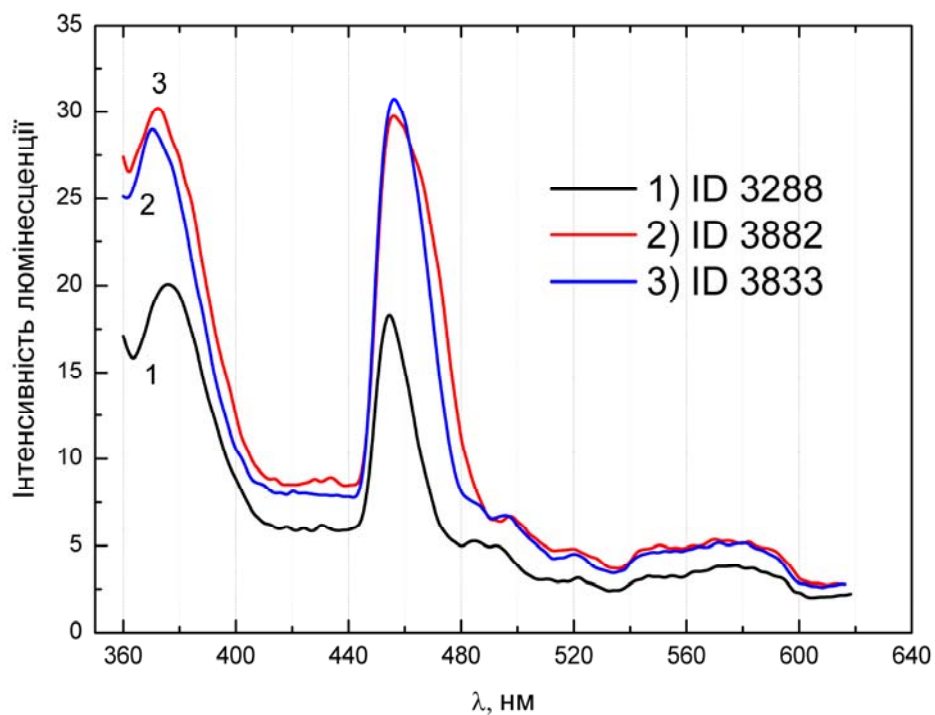


Рис. 6. Спектри люмінесценції порошкових зразків ID 3288 (крива 1), ID 3882 (крива 2) та ID 3833 (крива 3) при збудженні довжиною хвилі  $\lambda_{\text{збуд}}=330$  нм ( $E_{\text{збуд}}=3.75$  eV).

У наступній серії експериментів зі спектральної характеристики сполук ID 3288, ID 3882 та ID 3833 вивчали спектри збудження і люмінесценції водних розчинів цих зразків. Результати такого аналізу наведені на рис. 7 і 8, відповідно.

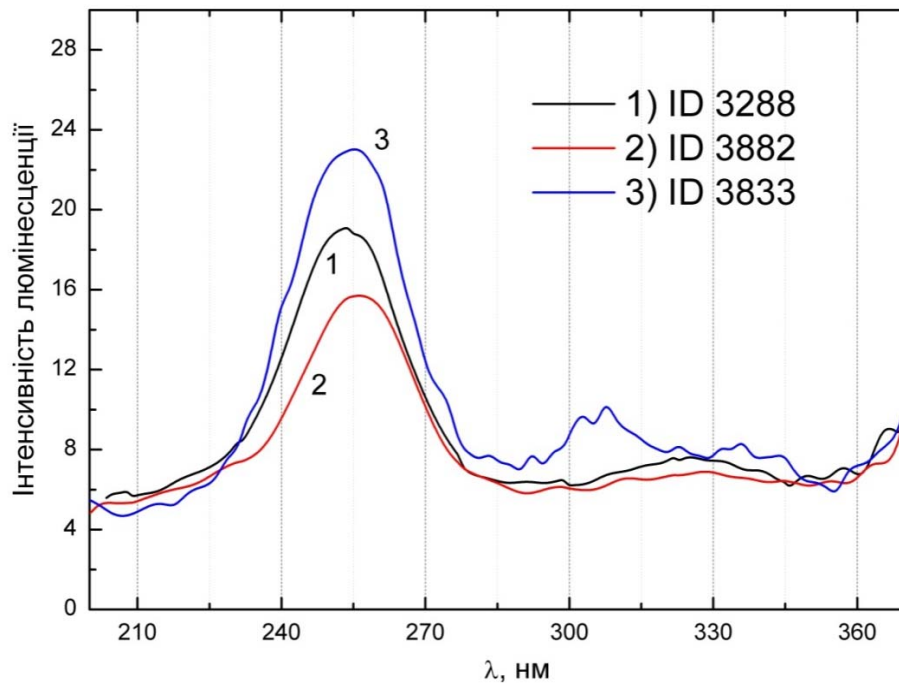


Рис. 7. Спектри збудження люмінесценції розчинів ID 3288, ID 3882 та ID 3833 під час реєстрації довжини випромінювання люмінесценції  $\lambda_{\text{люм}}=390$  нм. В спектрі спостерігали широку смугу з максимумом при 260 нм.

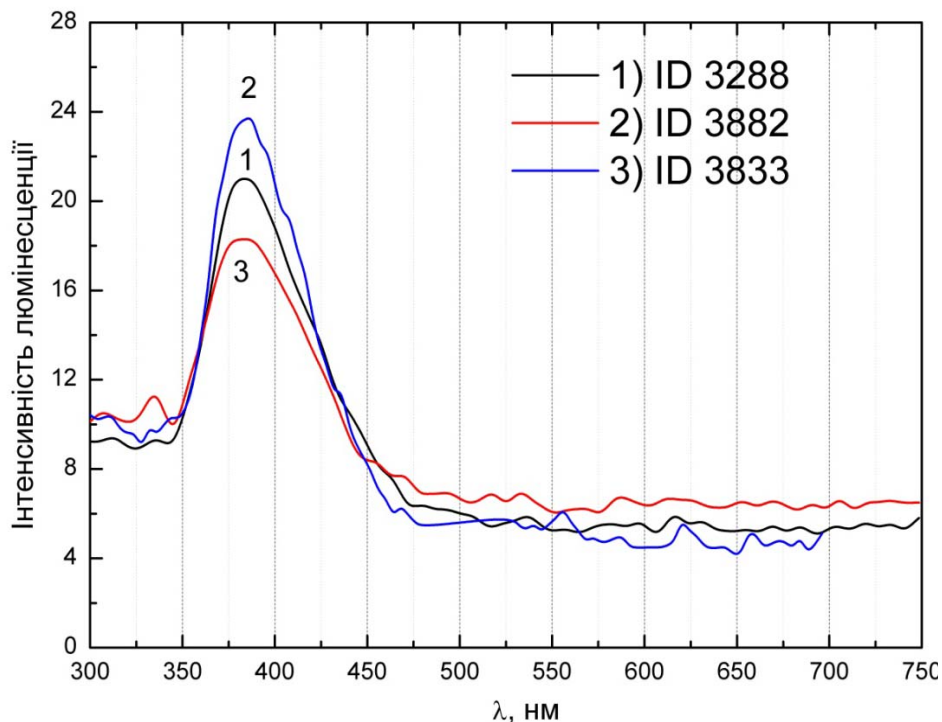


Рис. 8. Спектри люмінесценції розчинів ID 3288, ID 3882 та ID 3833 при збудженні  $\lambda_{\text{збуд}}=260$  нм ( $E_{\text{збуд}}=4,95$  eV). В спектрі можна широку випромінювання з максимумом при 390 нм.



У випадку дослідження люмінесценції розчинів усіх використаних зразків виявлено одну широку смугу довжини хвилі збудження з максимумом приблизно при 260 нм. Що стосується спектру люмінесценції зразків ID 3288, ID 3882 і ID 3833, то після збудження світлом із цією довжиною хвилі для всіх зразків виявлено широку смугу випромінювання з максимумом при 390 нм. Інтенсивність люмінесценції тут була найвищою у випадку використання сполуки ID 3833 і найнижчою – для сполуки ID 3882.

Підсумовуючи результати спектрального аналізу (люмінесценції) сполук ID 3288, ID 3882 та ID 3833, які є перспективними для використання як протипухлинні чинники, можна сформулювати такі висновки: 1) спектри збудження люмінесценції і спектри люмінесценції порошкових зразків ID 3288, ID 3882 та ID 3833 відрізняються від таких спектрів цих сполук у водному розчині; 2) за інтенсивністю спектр люмінесценції порошкового зразка сполуки ID 3288 відрізняється від таких спектрів сполук ID 3882 і ID 3833; 3) спектри люмінесценції розчинів сполук ID 3833 і ID 3288 за інтенсивністю відрізняються від такого спектру сполуки ID 3882. Враховуючи ці дані, можна запропонувати оптимальні режими опромінення досліджуваних сполук після їх поглинання пухлинними клітинами.

#### **Дослідження цитотоксичної дії похідних 4-тіазолідинонів (сполуки ID 3833, ID 3288, ID 3882) щодо пухлинних клітин лінії L1210 лейкозу миші *in vitro***

Біологічну (цитотоксичну) активність сполук ID 3833, ID 3288 і ID 3882 вивчали, досліджуючи життєздатність клітин лінії L1210 лейкозу миші. Для оцінки такого впливу використовували тест із реагентом МТТ. Для цього у середовище інкубації клітин вносили досліджувані сполуки у концентраціях 0,01, 0,1 і 1 мкг/мл. Як позитивний контроль, у таких самих концентраціях використовували доксорубіцин, який вважають «золотим стандартом» у протипухлинній хіміотерапії. Загиблі клітини поглинають формазановий барвник через ушкодження їхньої плазматичної мембрани. На рис. 9 представлені результати застосування МТТ-тесту через 72 год дії сполук ID 3288, ID 3882 та ID 3833 на лейкозні клітини лінії L1210.

Згідно одержаних результатів, цитотоксична активність сполук ID 3833 та ID 3882 була високою лише у концентрації 1 мкг/мл, тоді як сполука ID 3288 за жодної концентрації не впливає на життєздатність клітин лінії L1210 лейкозу миші (рис.9). Ми не спостерігали достовірних змін у життєздатності клітин за дії досліджуваних похідних у концентрації 0,01 мкг/мл. Проте доксорубіцин і сполука ID 3833 вже у концентрації 0,1 мкг/мл достовірно пригнічували життєздатність лейкозних клітин (рис. 9).

Дослідження цитотоксичної дії похідних 4-тіазолідинону – сполук ID 3288, ID 3833 і ID 3882 – на клітини лінії L1210 лейкозу миші було скероване на те, щоб встановити, яка з цих сполук володіє найвищою токсичністю для вказаних клітин. У наступних дослідах ми плануємо підсилити дію протипухлинних похідних 4-тіазолідинону шляхом опромінення клітин, оброблених досліджуваними сполуками, лазером з певною довжиною хвилі збудження її люмінесценції (див. рис. 7 і 8). Як видно з рис. 9, сполука ID 3288 володіла найнижчою токсичною дією на лейкозні клітини, які ростуть у вигляді суспензії. Разом з тим варто відзначити, що ця ж сполука володіла найвищим цитотоксичним потенціалом за дії на злоякісні клітини С6 гліоми щура, що нормально ростуть у стані прикріплення до субстрату-підкладки [13]. Тобто ця сполука не діє на лейкозні клітини, але ефективно діє на клітини гліоми. Нами також встановлено, що після введення сполуки ID 3288 лабораторним щурам у їхній крові зростає рівень певних активних форм кисню [13]. Механізм дії похідних 4-тіазолідинонів може

полягати у запуску в клітині каскаду ензиматичних реакцій за участю низки каспаз й активних форм кисню, що призводить до руйнування ДНК, а також важливих регуляторних білків клітини і, як наслідок, до її апоптозу. Збудження люмінесценції ID 3288 та індукованої цим продукції активних форм кисню може підвищити токсичність цієї сполуки щодо лейкозних клітин тварин і людини. Дослідження з метою підтвердження цього припущення продовжуються.

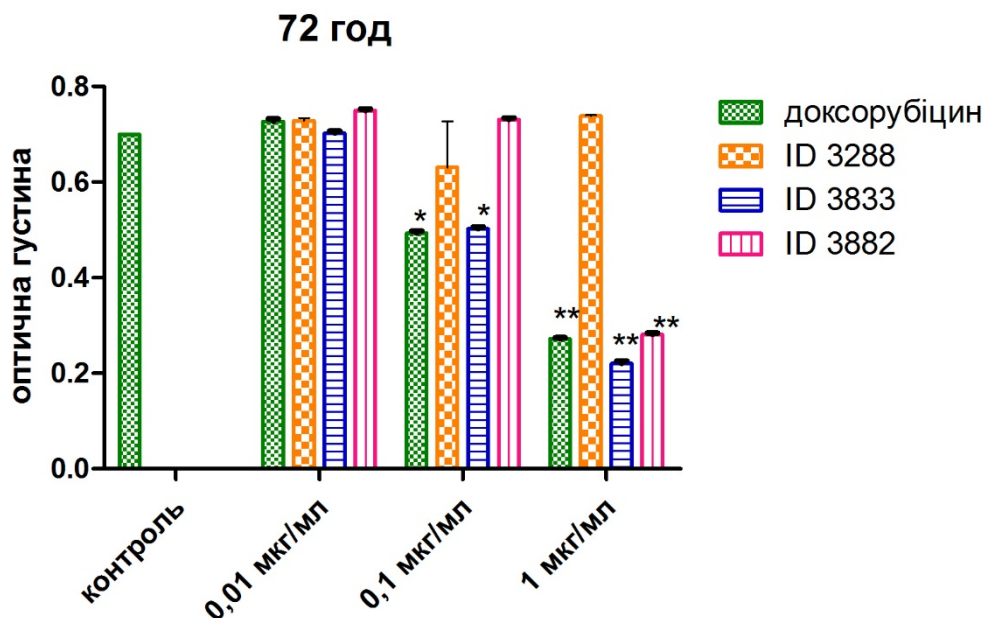


Рис. 9. Вплив досліджуваних похідних 4-тіазолідинону на клітини лінії *L1210* лейкозу миші через 72 год інкубації цих клітин. \* –  $P \leq 0,05$ ; \*\* –  $P \leq 0,01$ .

Інший напрям наших досліджень полягає у використанні «фармакофор-гібридного» підходу, а також аналізу кореляції «структура – дія» та підходів *in silico* для створення нових похідних 4-тіазолідинону та в експериментальному підтвердженні їхнього протипухлинного потенціалу. Вибір для подальшого нашого дослідження гетерил-заміщених похідних 4-тіазолідинону був зумовлений результатами їхнього тестування *in vitro* у Національному Інституті Раку (США). Аналіз взаємозв'язків між структурою і протипухлинною активністю (SAR-аналіз) показав, що введення атома галогену в 5-те положення структури індолінового фрагменту суттєво підсилює протипухлинну активність похідних 4-тіазолідинонів [10,11]. У гетероциклічних сполуках ID 3288 і ID 3833 у це положення було введено атом Брому й, окрім цього, здійснено заміну фенільного радикалу у 3-му положенні піразолінового циклу (ID 3288) на нафтильний фрагмент (ID 3833 і ID 3882). На нашу думку, ці структурні фрагменти можуть мати суттєвий вплив на показники цитотоксичної дії вищеназваних сполук. Ці дані також будуть враховані нами під час використання люмінесцентних властивостей нових похідних 4-тіазолідинону для підсилення їхнього цитотоксичного ефекту під час фотодинамічної хіміотерапії тварин із експериментальними пухлинами.

## ВИСНОВКИ

Спектри збудження люмінесценції і спектри люмінесценції порошкових зразків ID 3288, ID 3882 та ID 3833 суттєво відрізняються від таких спектрів даних сполук у водних розчинах. Люмінесценція порошкового зразка сполуки ID 3288 має нижчу

інтенсивність від люмінесценції сполук ID 3882 і ID 3833. Люмінесценція розчину сполуки ID 3882 має найнижчу інтенсивність, а люмінесценція розчину сполуки ID 3833 виявляє найвищу інтенсивність. Разом з вищою інтенсивністю люмінесценції ID 3833 та ID 3882, порівняно з люмінесценцією ID 3288, спостерігається вища цитотоксична активність сполук ID 3833 та ID 3882 щодо клітин лінії L1210 лейкозу миші. Механізми дії похідних 4-тіазолідинонів для характеристики їхньої здатності виявляти фотоіндуковану цитотоксичність і шляхи її використання для фотодинамічної хіміотерапії пухлин зараз вивчаються.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Голдман М.П. Фотодинамическая терапия / Под ред. М.П. Голдмана. – М.: Рид Элсивер, 2010. – 181 с. / Goldman M.P. Fotodinamicheskaia terapija / Pod red. M.P. Goldmana. – М.: Rid Jelsiver, 2010. – 181 s.
2. Застосування фотодинамічної терапії в онкології (сучасні можливості і перспективи). / Л.І.Сімонова-Пушкар, Гертман В.З., Білогурова Л.В. та ін. // Експ. і клін. медицина. – 2014. – Т. 4, № 65. – С. 85-96. / Zastosuvannja fotodynamichnoi' terapii' v onkologii' (suchasni mozhlyvosti i perspektyvy). / L.I.Simonova-Pushkar, Gertman V.Z., Bilogurova L.V. et al. // Eksp. i klin. medycyna. – 2014. – Т. 4, № 65. – С. 85-96.
3. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция / Ю.А. Владимиров, Е.В. Проскурнина // Успехи биологической химии. – 2009. – Т. 49. – С. 341–388. / Vladimirov Ju.A. Svobodnye radikaly i kletochnaja hemiljuminescencija / Ju.A. Vladimirov, E.V. Proskurnina // Uspehi biologicheskoi himii. – 2009. – Т. 49. – С. 341-388.
4. Frederick A. Villamena Reactive Species Detection in Biology: From Fluorescence to Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy / A. Frederick. – Elsevier, 2016. – 330 p.
5. Reactive oxygen species in cancer biology and anticancer therapy. / Y. Yang, S. Karakhanova, J. Werner, A.V. Bazhin // Curr Med Chem. – 2013. – V. 20, N 30. – P. 3677-3692.
6. Противоопухолевая химиотерапия: Руководство / Под ред. Роланда Т. Скила; [пер.с англ. В.С. Покровского]; под ред. С.В. Орлова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 1032 с. / Protivoopuholevaja himioterapija: Rukovodstvo / Pod red. Rolanda T. Skila; [per.s angl. V.S. Pokrovskogo]; pod red. S.V. Orlova. – М.: GJeOTAR-Media, 2011. – 1032 s.
7. Микитюк О.Ю. Хемілюмінесцентний аналіз у біології та медицині / О.Ю. Микитюк // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2016. – Т. 16, Вип. 1 (53). – С. 299-303. / Mykytjuk O.Ju. Hemiljuminescentnyj analiz u biologii' ta medycyni / O.Ju. Mykytjuk // Aktual'ni problemy suchasnoi' medycyny: Visnyk Ukrai'ns'koi' medychnoi' stomatologichnoi' akademii'. – 2016. – Т. 16, Вуп. 1 (53). – С. 299-303.
8. Владимиров Ю.А. Активированная хемилюминесценция и биолюминесценция как инструмент в медико-биологических исследованиях / Ю.А. Владимиров // Соросовский образовательный журнал - 2001. – Т. 7, № 1. – С. 16-23. / Vladimirov Ju.A. Aktivirovannaja hemiljuminescencija i bioluminescencija kak instrument v mediko-biologicheskikh issledovanijah / Ju.A. Vladimirov // Sorosovskij obrazovatel'nyj zhurnal. – 2001. – Т. 7, N 1. – С. 16-23.
9. Патент на корисну модель №69857. 3-{2-[5-(3,5-діарил)-4,5-дигідропіразол-1-іл]-4-оксо-4Н-тіазол-5-іліден}-1,3-дигідріндол-2-они, що виявляють протипухлинну активність / Д.Я. Гаврилюк, Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик, О.М. Роман; власник ЛНМУ імені Д.Галицького. – № u201114202. – Опубл. 10.05.2012, Бюл. №19. / Patent na korysnu model' №69857. 3-{2-[5-(3,5-diaryl)-4,5-dygidropirazol-1-il]-4-okso-4H-tiazol-5-iliden}-1,3-dygidroindol-2-ony, shho vyjavljajut' protypuhlynnu aktyvnist' / D.Ja. Gavryljuk, B.S. Zimenkovs'kyj, R.B. Lesyk, O.M. Roman; vlasnyk LNMU imeni D.Galyc'kogo. – № u201114202. – Opubl. 10.05.2012, Bjul. №19.
10. Synthesis, anticancer and antiviral activity of new 2-pyrazoline substituted 4-thiazolidinones / D. Havrylyuk, B. Zimenkovsky, O. Vasylenko, R. Lesyk // J. Heterocyclic Chem. – 2013. – V.50, Iss. S1. – P. E55-E62.
11. Synthesis of New 4-Thiazolidinone-, Pyrazoline-, and Isatin-Based Conjugates with Promising Antitumor Activity. / D. Havrylyuk, B. Zimenkovsky, O. Vasylenko et al. // J. Med. Chem. – 2012. – V. 55 (20). – P. 8630-8641.
12. Дослідження біохімічних показників кардіотоксичної дії нових протипухлинних похідних 4-тіазолідинонів і доксорубіцину у комплексах із поліетиленглікольвмісним полімерним носієм у сироватці крові щурів / Л.І. Кобилінська, Д.Я. Гаврилюк, А.О. Рябцева та ін. // Укр. біохім. журн. – Т. 86, №6. – 2014. – С. 84-95. / Doslidzhennja biohimichnyh pokaznykiv kardiotoksychnoi' dii' novyh protypuhlynyh pohidnyh 4-tiazolidynoniv i doksوروبіцину u kompleksah iz polietylenglikol'vmsnym polimernym nosijem u syrovatci krovii shhuriv / L.I. Kobylyns'ka, D.Ja. Gavryljuk, A.O. Rjabceva ta in. // Ukr. biohim. zhurn. – Т. 86, №6. – 2014. – С. 84-95.

13. Putative anticancer potential of novel 4-thiazolidinone derivatives: cytotoxicity towards rat C6 glioma in vitro and correlation of general toxicity with balance of free radical oxidation in rats / L. Kobylinska, N. Boiko, R. Panchuk et al. // *Croatian Med. J.* – V. 57, N 2. – 2016. – P.150-163.
14. Вплив випромінювання діодного лазера у мікроімпульсному та безперервному режимі на проліферативну активність і життєздатність клітин сполучної тканини / Л.М. Рудавська, О.Ю. Ключівська, О.І. Годована та ін. // *Експ. та клін. фізіологія і біохімія.* – 2014. – № 1. – С. 18-27. / *Vplyv vyprominjuvannja diodnogo lazera u mikroimpul'snomu ta bezperervnomu rezhymi na proliferatyvnu aktyvnist' i zhyttjezdatnist' klityn spoluchnoi' tkanyny* / L.M. Rudavs'ka, O.Ju. Kljuchivs'ka, O.I. Godovana ta in. // *Eksp. ta klin. fiziologija i biohimija.* – 2014. – № 1. – S. 18-27.