

УДК: 576.5+547+645.2+616-006.6

**МЕХАНІЗМИ ПОСИЛЕННЯ АНТИНЕОПЛАСТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ
РУТЕНІЙ-ВМІСНОГО ПРЕПАРАТУ ШЛЯХОМ ІММОБІЛІЗАЦІЇ
НА ПОЛІМЕРНОМУ НОСІЇ**

**Ю. Сеньків^{1,2}, А. Рябцева³, Н. Бойко¹, Н. Мітіна³,
О. Заїченко³, Р. Стойка¹**

*¹Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14/16, Львів 79005, Україна*

*²Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

*³Національний університет «Львівська Політехніка»
пл. Св. Юра, 2, Львів 79013, Україна
e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua*

Ефективність лікування злоякісних новоутворень за допомогою недавно створеного рутеній (Ru^{2+})-вмісного протипухлинного препарату суттєво знижується через його зв'язування білками сироватки крові в організмі. Розроблено метод захисту цього препарату від зв'язування цими білками шляхом інкапсуляції новим полімером полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ. Окрім того, така інкапсуляція протипухлинного препарату дає змогу суттєво прискорити його поглинання і накопичення клітинами-мішенями, а також у 2–22 рази (залежно від лінії клітин) збільшити ефективність його токсичної дії щодо пухлинних клітин людини.

Ключові слова: клітини пухлин людини, Ru^{2+} -вмісний протипухлинний препарат, інкапсуляція, полімер полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ, ефективність антинеопластичної дії.

Протягом останніх десяти років було розроблено кілька рутеній (Ru^{2+})-вмісних сполук, що мають високу протипухлинну активність. Серед таких рутенієвих комплексів – КР1019 (індазолій транс-(тетрахлорбіс(1Н-індазол(III))) і його аналог КР1339, які були синтезовані під керівництвом Кеплера [3, 8, 9]. Вони належать до найбільш перспективних препаратів у лікуванні раку. У доклінічних випробовуваннях показано, що препарати КР1019 і КР1339 ефективно пригнічують ріст колоректальних сарком людини. Дані речовини проявляли помірну цитотоксичну активність за умов *in vitro* й антинеопластичний ефект у щурів-пухлиноносіїв. Разом з тим, КР1019 не проявляв загальної токсичності у здорових щурів. Лікування даним препаратом не лише сповільнювало ріст, але й забезпечувало часткову ремісію колоректальних сарком.

Встановлено, що ці рутенієві сполуки проникають у клітини, взаємодіючи з трансферином [16, 7, 13], а також індукують апоптоз за участю мітохондрій [15, 14]. Показано, що КР1019 зв'язується білками сироватки крові у безклітинних експериментах, зокрема альбуміном [17] і апотрансферином [16].

Запропоновано два можливих механізми для пояснення пухлиноспецифічної дії рутенієвих сполук, зокрема КР1019:

1. завдяки здатності рутенію імітувати атом заліза, КР1019 може зв'язуватися рецепторами трансферину і проникати у клітини шляхом трансферин-залежного

ендоцитозу; оскільки пухлинні клітини потребують більше заліза порівняно з нормальними клітинами, КР1019 більшою мірою накопичується у пухлинних клітинах;

2. КР1019 може активуватися зі зменшенням його кількості у середовищі пухлинних тканин, що призводить до пухлинної селективності його цитотоксичної дії [17, 5].

Відомо, що зв'язування КР1019 протеїнами плазми крові гальмує Pgp-опосередковане видалення цього препарату з клітин-мішеней. Разом із тим, цитотоксичний ефект КР1019 суттєво не змінюється за умов надекспресії білків MDR1, BCRP, LRP [12]. На даний час КР1019 успішно пройшов першу фазу клінічного випробування [10].

Виходячи зі сказаного, доцільним є пошук шляхів захисту КР1019 та інших (Ru²⁺)-вмісних препаратів від зв'язування білками сироватки крові, що дало би змогу суттєво знизити діючу концентрацію цих препаратів і, тим самим, зменшити загальнотоксичний ефект в організмі. Разом з тим, інкапсуляція цих препаратів у молекули спеціальних носіїв для покращення їхньої доставки у клітини-мішені могла б сприяти підвищенню ефективності антинеопластичної дії завдяки запобіганню впливу транспортних мембранних систем, які забезпечують множинну резистентність злоякісних клітин до лікарських препаратів.

Матеріали та методи

Коротка характеристика полімера полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ

Синтез полімера, використаного в роботі для інкапсуляції препарату КР1019, здійснено під керівництвом к.х.н. О. С. Заїченка на кафедрі органічної хімії національного університету «Львівська Політехніка». Його будова представлена на рис. 1, А. Співвідношення кількості препарату і носія в комплексі становило 1:30 і було визначено шляхом УФ-спектроскопії систем доставки КР1019 (рис. 1). Концентрація КР1019 у системі становила $3,3 \cdot 10^{-4}$ г/мл, а концентрація полімерного носія тут становила $9,9 \cdot 10^{-3}$ г/мл.

Розмір частинок утвореного комплексу синтезованого полімеру з КР1019 становить 8 нм. Дзета ζ -потенціал цього комплексу дорівнює -1,2 мВ, а ζ -потенціал КР1019 у ДМСО – +5,99 мВ.

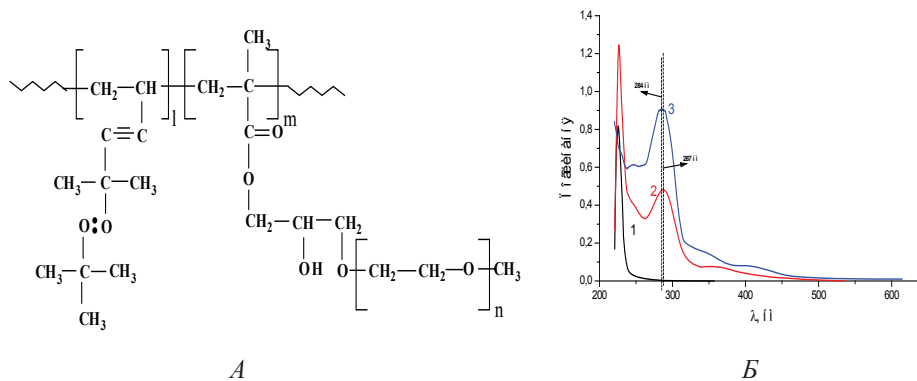


Рис. 1. (А) Полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ, (Б) УФ-спектри розчинів полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ (1), кон'югату КР1019 та полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ (2) у воді та КР-1019 у диметилсульфоксиді (ДМСО) (3).

Культивування клітин

Клітини лінії НСТ116 (сублінії р53^{-/-} і р53^{+/+}) колоректальної карциноми людини було отримано від доктора Берта Фогельштайна (Університет Джона Хоркінса, Балтімор, США). Клітини вирощували у стандартному культуральному середовищі DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, «Sigma-Aldrich») із додаванням 10% ембріональної сироватки

крові ВРХ («Sigma-Aldrich»), 2 мМ глутаміну і 25 мкг/мл гентаміцину в термостаті із 100%-ною вологістю, 5% CO₂ і 95% повітря за +37°C. Культуральне середовище оновлювали кожні 2–3 дні. Перед пасажуванням клітини промивали фосфатно-сольовим буфером, ФСБ (137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 4,3 мМ Na₂HPO₄, 1,4 мМ KH₂PO₄, рН 7,4). Клітини усували з дна чашок за допомогою розчину трипсин/ЕДТА (трипсин/етилендіамінтетраацетат): 137 мМ NaCl, 5,4 мМ KCl, 0,03 мМ Na₂HPO₄, 0,4 мМ KH₂PO₄, 4,5 мМ NaHCO₃, 0,53 мМ ЕДТА, 0,25% трипсин, рН 7,4. Пересів клітин здійснювали у співвідношенні 1:3 кожні 3–4 дні. Клітини були вільними від забруднення бактеріями роду *Mycoplasma*, що встановлено за допомогою наборів «Mycoplasma Detection Kit MycoAlert» фірми «Cambrex Bio Science» (Великобританія) і «PCR Mycoplasma Kit» фірми «Applichem» (Німеччина). Походження клітинних ліній було підтверджене за допомогою аналізу мікросателітної ДНК, як описано [1].

Визначення функціональної активності клітин тестом із МТТ

Для оцінки впливу різноманітних чинників на проліферацію клітини висівали у 96-лункові планшети (50 000 клітин на лунку) та інкубували у повноцінному культуральному середовищі впродовж 12 год, щоб дати можливість клітинам прикріпитися до поверхні лунок. Опісля клітини промивали ФСБ, змінювали середовище на дослідне й інкубували впродовж 1, 3, 6 і 72 год. За 5 год перед завершенням інкубації до середовища додавали МТТ (3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-диметилбромід тетразолію, Sigma-Aldrich, США) у кінцевій концентрації 500 мкг/мл. Після завершення інкубації середовище усували, а в лунки додавали диметилсульфоксид для розчинення фіолетових кристалів формазану, що утворилися внаслідок відновлення реагента МТТ редуктазами, наявними у живих клітинах. Концентрацію формазану в лунках визначали мікрофотометром (Microplate Reader, BioTek, США) за оптичним поглинанням при довжині хвилі 490 нм. Кількість живих клітин (у відсотках) визначали за співвідношенням оптичних густин, виміряних у лунках, у яких клітини інкубували із дослідним і контрольним середовищами.

Вестерн-блот аналіз клітинних білків

Клітини висівали у 6-лункові пластикові планшети (2*10⁵ клітин/лунку) і залишали на ніч у CO₂-інкубаторі, для прикріплення клітин до дна лунок планшети. Потім до клітин додавали вільний доксорубіцин, доксорубіцин, іммобілізований на носії, і чистий носій у вказаних концентраціях. Інкубація з досліджуваними препаратами тривала 24 год. Вестерн-блот аналіз білків клітин проводили за описаною методикою (гель-електрофорез білків і перенос їх на PDVF мембрану) [2]. Для цього антитіла досліджуваних білків розводили 2% бичачим сироватковим альбуміном (БСА) у фосфатно-сольовому буфері (ФСБ, рН 7,4) із 0,05% Tween-20 у співвідношенні, вказаному у табл. 1. Після інкубації мембрану промивали тричі по 10 хв у ФСБ із 0,05% Tween-20. Після цього мембрану інкубували з міченими пероксидазою антитілами до кролячого імуноглобуліну (Amersham Pharmacia Biotech, США). Вторинні антитіла розводили блокувальним розчином у співвідношенні 1:5000. Інкубацію мембрану проводили протягом 1 год при 4°C із погойдуванням платформи. Після інкубації мембрану промивали (тричі по 5 хв) ФСБ із 0,05% Tween-20. Рівномірність нанесення білкових проб було підтверджено результатами інкубації мембрану з антитілами до β-актину (вміст цього білка «домашнього господарства» вважається подібним у всіх типах клітин).

Ділянки зв'язування антитіл, мічених пероксидазою хрому, із досліджуваними клітинними білками виявляли за допомогою хемілюмінесценції. Рентгенівську плівку поміщали у стандартний фенідон-гідрохіноновий проявник, після чого її обробляли кислим фіксажем. Зони імунореактивності виявлялися як темні смуги на рентгенівській

плівці. Нормалізацію кількості нанесеного для електрофорезу білка проводили після визначення вмісту β -актину в тих же зразках.

Таблиця 1

Первинні антитіла, використані у роботі

Білковий антиген	Розведення антитіл	Фірма-виробник антитіл
P53	1:1000	Cell Signalling
β -актин (AC-15)	1:5000	«Sigma-Aldrich»
P38	1:1000	Cell Signalling
Фосфорильований білок P38	1:1000	Cell Signalling
Фосфорильований білок JNK	1:1000	Cell Signalling

Визначення накопичення KP1019 за кількістю рутенію, поглинутого клітинами-мішенями

Клітини висівали у 24-лункові планшети ($1 \cdot 10^5$ клітин/лунку) і залишали через ніч у CO_2 -інкубаторі. Після цього до клітин додавали вільний або кон'югований із носієм KP1019. Тривалість інкубації становила 3 год. Клітини промивали тричі та лізували. Лізати переносили у 50 мл пластикову пробірку типу Фелкон і додавали послідовно 2 мл 20% HNO_3 , 1 мл H_2O і 200 мкл H_2O_2 . Вміст у клітинах рутенію визначали ICP-MS (ELAN DRC-II, PerkinElmer Sciex, Woodbridge, ON, Канада). Використаний як реакційний газ кисень (чистота 4,5, Linde Gas, Відень, Австрія) [4]. Експериментальні дані представлені як кількість нанограм (нг) рутенію в 10^5 клітин.

Статистичний аналіз експериментальних даних

Досліди повторювали тричі з трьома паралельними постановками для кожного варіанта експериментальних і контрольних умов. Дані представлені у вигляді $M \pm m$, де M – середнє значення, а m – середня похибка, розрахована за результатами трьох вимірювань в одному із трьох однотипових експериментів. Порівняння двох мінливих величин здійснювали на підставі показника статистичної достовірності відмінностей « p », який обраховували за критерієм Стюдента, останній визначали за допомогою « t »-тесту для двох вибірок даних із різними дисперсіями « σ^2 ». Відмінність між двома величинами вважали достовірною, коли величина « p » була меншою за 0,05.

Результати і їхнє обговорення

Рутеній-вмісний препарат KP1019 продемонстрував високу протипухлинну активність у клінічних дослідженнях [8, 15], проте ця активність суттєво знижується через його зв'язування білками сироватки крові [16, 7, 13]. Для подолання цієї проблеми ми іммобілізували KP1019 на полімерному носії ВЕП-ГМА-ПЕГ (далі Пн-ПЕГ-KP1019).

Протипухлинну активність Пн-ПЕГ-KP1019 досліджували з використанням 11-ти ліній пухлинних клітин людини і порівнювали з дією вільного KP1019 через 72 год після початку інкубації клітин із препаратами. Результати проведеного дослідження представлені у табл. 2. Встановлено, що іммобілізація KP1019 на носії ВЕП-ГМА-ПЕГ сприяє зростанню активності цього протипухлинного препарату у 2–22 рази залежно від клітинної лінії, яку використовували в експерименті. Клітини лінії НСТ116 та її сублінії НСТ116 р53-/- виявилися найбільш чутливими до дії KP1019 у комплексі з носієм.

Іммобілізація KP1019 на полімерному носії сприяла суттєвому зростанню ефективності дії цього препарату на клітини раку товстої кишки (НСТ116, НСТ116 р53-/- (рис. 2), Lovo, Lovo / Dox (табл. 2)) і клітини епідермальні карциноми (КВ-3-1, КВС-1).

Як видно з табл. 2, резистентні (з надекспресією Р-глікопротеїну) лінії легеневої карциноми SW1573/2R120 і SW1573/2R160 є у 10 разів чутливішими до дії комплексу KP1019 з носієм, аніж до дії вільного KP1019.

Таблиця 2

Оцінка цитотоксичного ефекту (IC_{50}) КР1019, іммобілізованого на носії полі(ВЕР-ГМА)-графт-ПЕГ (Пн-ПЕГ-КР1019), порівняно з дією вільного КР1019 у клітинах різних пухлинних ліній людини

Клітинна лінія	Пн-ПЕГ-КР1019		КР1019		Кратність зростання інгібування	Характеристика Лінії
	IC_{50} , нМ	$\pm m$, нМ	IC_{50} , нМ	$\pm m$, нМ		
HCT116	18.9	0.9	73.9	1.0	3.9	-
HCT116 p53-/-	13.7	0.6	63.2	0.3	4.6	Делеція гена p53
KB-3-1	55.0	0.2	121.5	5.9	2.2	-
KBC-1	61.1	1.3	140.3	0.5	2.3	Надекспресія Р-глікопротеїну
SW1573	28.9	0.2	45.7	0.7	1.6	-
SW1573/2R120	43.1	0.7	813.8	3.5	18.9	MRP1
SW1573/2R160	34.0	0.2	770.5	2.7	22.7	Надекспресія Р-глікопротеїну; MRP1
MCF-7	13.3	0.2	105.0	0.8	7.9	-
MCF-7/ADR	13.2	0.5	172.2	0.6	13.0	Надекспресія Р-глікопротеїну
LoVo	10.5	0.3	51.2	0.4	4.9	-
LoVo/Dox	11.9	1.0	62.1	1.2	5.2	Надекспресія Р-глікопротеїну

Залежність показника цитотоксичності Пн-ПЕГ-КР1019 від тривалості його дії має подібний до КР1019 характер. Вже на 1 год дії на клітини HCT116 КР1019 і Пн-ПЕГ-КР1019 було зафіксовано значну цитотоксичну активність: IC_{50} для КР1019 - 135 мкМ і для Пн-ПЕГ-КР1019 41 мкМ. Через 3 год інкубації з цими препаратами досягається близько 80% їхньої цитотоксичної активності (IC_{50} для КР1019 і Пн-ПЕГ-КР1019 становили 91,0 і 27,3 мкМ, відповідно). IC_{50} для дії цих чинників протягом 72 год становили 73,25 і 18,3 мкМ, відповідно (рис. 3).

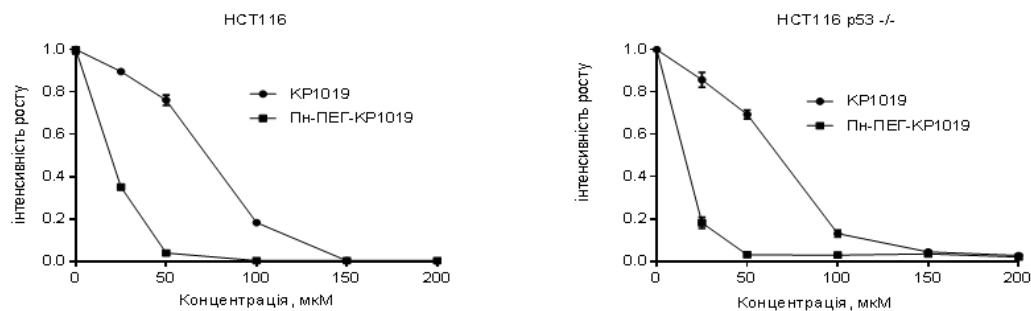


Рис. 2. Цитотоксична дія КР1019, іммобілізованого на полімерному носії ВЕР-ГМА-ПЕГ, і вільного КР1019 на клітини раку товстої кишки HCT116 і її сублінії HCT116 p53-/- із делетованим по обох алелях геном p53.

Отже, іммобілізація протипухлинного препарату КР1019 на носії ВЕР-ГМА-ПЕГ забезпечує більш ранню токсичну дію цього препарату на злоякісні клітини людини.

Щоб з'ясувати можливі механізми вищої антинеопластичної дії Пн-ПЕГ-КР1019 порівняно з такою дією КР1019, визначали: 1) рівень поглинання Ru^{2+} клітинами-мішенями; 2) рівень зв'язування КР1019 білками сироватки крові. Внутрішньоклітинний вміст рутенію визначали за допомогою методу ICP-MS (Inductively coupled plasma mass spectrometry) (рис. 4) як кількість нанограмів рутенію, поглинутого 10^5 клітин протягом 3 год.

Показано, що клітини лінії НСТ116, інкубовані з Пн-ПЕГ-КР1019, поглинали приблизно у 5 разів більше рутенію, ніж клітини, інкубовані з вільним КР1019 у такій самій концентрації цього препарату.

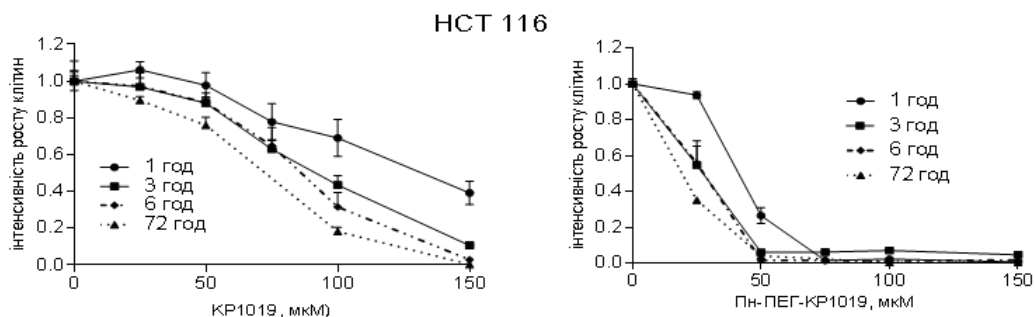


Рис. 3. Характеристика цитотоксичної активності вільного КР1019 і Пн-ПЕГ-КР1019 щодо клітин лінії НСТ116 за дії на них цими препаратами протягом 1, 3, 6 і 72 год (показник відносно початкової кількості клітин). За 1 взято показник росту клітин у контролі.

Відомо, що протипухлинний препарат КР1019 інтенсивно зв'язується білками сироватки крові, а це негативно впливає на його антинеопластичний потенціал [9]. Тому ми перевірили, чи може використаний нами полімерний носій захищати КР1019 від такого зв'язування, а отже, й підвищувати таким шляхом ефективність цитотоксичної дії КР1019.

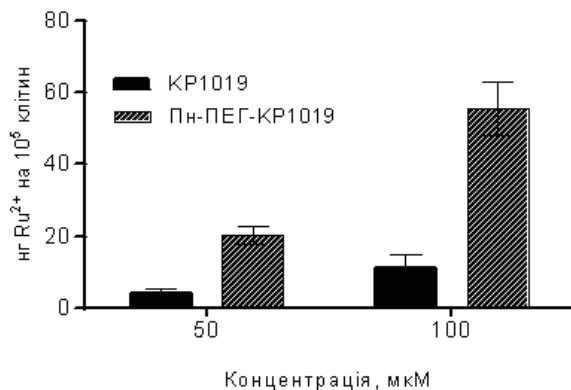


Рис. 4. Накопичення рутенію (Ru^{2+}) клітинами НСТ116 при дії на них вільного КР1019 порівняно з дією Пн-ПЕГ-КР1019.

Для цього ми проінкубували вільну й іммобілізовану форму КР1019 із бичачим сироватковим альбуміном (БСА). Як видно з рис. 5, вільний КР1019 змінює свій колір за присутності БСА, тоді як розчин іммобілізованого КР1019 залишається прозорим.

Цей феномен також може бути одним із механізмів вищої антинеопластичної активності КР1019, іммобілізованого на носії, порівняно з активністю вільної форми цього протипухлинного препарату.

Для підтвердження цього висновку ми провели додаткове дослідження рівня цитотоксичної дії КР1019 у вільному й іммобілізованому стані за різної концентрації сироватки крові у культуральному середовищі. Як видно з результатів, наведених на рис. 6, зростання концентрації сироватки крові у культуральному середовищі за дії КР1019 і Пн-ПЕГ-КР1019 на клітини лінії НСТ116 супроводжується зростанням показника IC_{50} , що свідчить про зниження ефективності цитотоксичної дії цих препаратів.

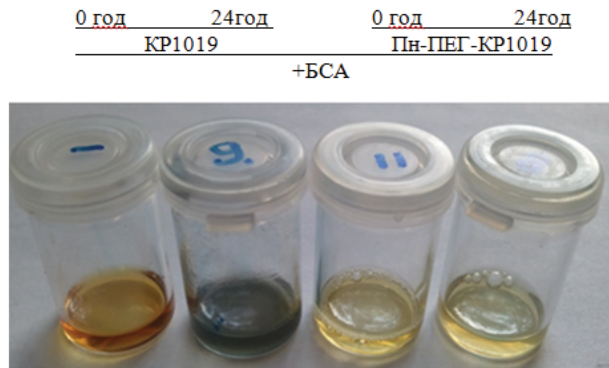


Рис. 5. Зв'язування KP1019 у вільному й іммобілізованому з полімерним носієм стані з бичачим сироватковим альбуміном (БСА).

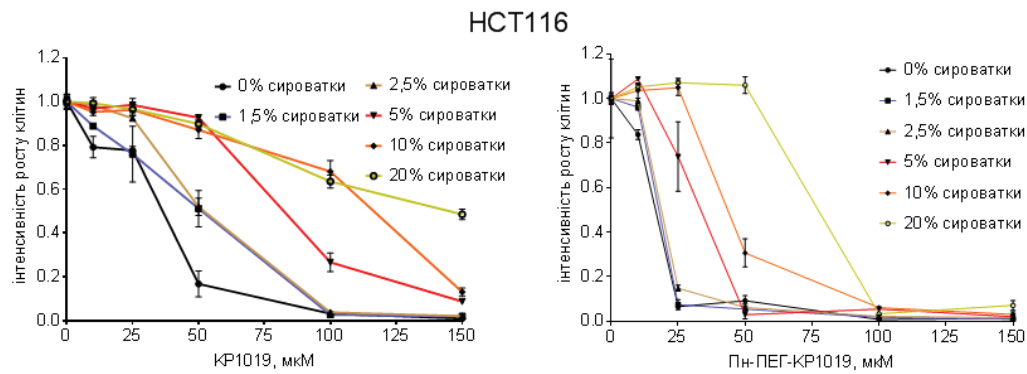


Рис. 6. Залежність цитотоксичної дії вільного KP1019 і комплексу Пн-ПЕГ-KP1019 від концентрації сироватки крові у культуральному середовищі (1,0 - показник росту клітин у контролі).

Необхідно підкреслити, що це зростання показника IC_{50} є значно менш вираженим за дії іммобілізованого KP1019, ніж за дії вільної форми цього препарату (рис. 6, 7).

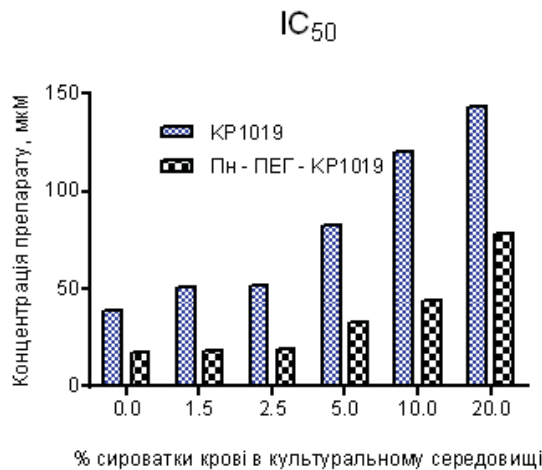


Рис. 7. Показник IC_{50} (клітини лінії НСТ116) за дії KP1019 і Пн-ПЕГ-KP1019 і присутності в інкубаційному середовищі різної кількості сироватки крові.

Відомо, що КР1019, як і інші металовмісні препарати, наприклад, цисплатин, викликає оксидативний стрес і пошкодження ДНК у клітинах-мішенях [2, 11]. На рис. 8 видно, що Пн-ПЕГ-КР1019 індукує частіші подвійні розриви ДНК, аніж КР1019, застосований у вільній формі. Також під дією Пн-ПЕГ-КР1019 помітно стимулюється експресія різних маркерів стрес-реакцій (P53, фосфорилування білків P38 і JNK) (рис. 8).

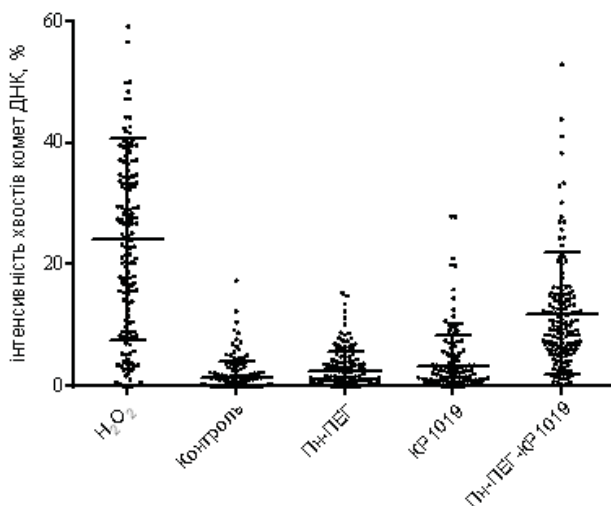


Рис. 8. Комети ДНК, спричинені дією вільного КР1019, носія Пн-ПЕГ і комплексу Пн-ПЕГ-КР1019 у клітинах лінії НСТ116.

Імобілізація рутеній-вмісного протипухлинного препарату КР1019 на полімерному носії:

1. суттєво пришвидшує поглинання цього препарату клітинами-мішенями;
2. захищає даний препарат від його зв'язування білками сироватки крові;
3. суттєво підсилює цитотоксичну дію КР1019 на пухлинні клітини людини, в т.ч. клітини, резистентні до дії відомих протипухлинних препаратів (наприклад, доксорубіцину);
4. сприяє більш вираженому пошкодженню ядерної ДНК клітин-мішеней.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

5. Anderson D. G., Levenberg S., Langer R. Nanoliter-scale synthesis of arrayed biomaterials and application to human embryonic stem cells // *Nat. Biotechnol.* 2004. Vol. 22. P. 863–866.
6. Bartek J., Lukas C., Lucas J. Cheking on DNA damage in S-fase // *Nat Rev. Mol. Cell Biol.* 2004. Vol. 5. N 10. P. 792–804.
7. Berger M. R., Garzon F. T., Keppler B. K. et al. Efficacy of new ruthenium complexes against chemically induced autochthonous colorectal carcinoma in rats // *Anticancer Res.* 1987. Vol. 9. N 3. P. 761–765.
8. Bharali D. J., Khalil M., Gurbuz M. et al. Nanoparticles and cancer therapy: A concise review with emphasis on dendrimers // *Int J. Nanomedicine.* 2009. Vol. 4. P. 1–7.
9. Clark M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals // *Ordination Chem. Rew.* 2002. Vol. 236. N 1–2. P. 209–233.
10. Fraska D., Ciampa J., Emerson J. et al. Effects of hipoxia and transferring on toxicity and DANN binding of ruthenium antitumor agents in Hela cells // *Med. Based Drugs.* 1996. Vol. 3. N 4. P. 197–209.

11. Fraska D. R., Gechrig L. E., Clarke M. J. Cellular effects of transferring coordinated two // J. Inorg Biochem. 2001. Vol. 83. N 2–3. P. 139–149.
12. Hanahan D., Weinberg R. A. The hallmarks of cancer // Cell. 2000. Vol. 100. N 1. P. 57–70.
13. Hardman J. G., Limbert L. E. The pharmacological basis of therapeutics. 10ed. G. Gilman. 2001.
14. Hartinger C. G., Ciampa J., Emerson J. et al. KP1019, a new redox-active anticancer agent – preclinical development and results of preclinical fase I in tumor patients // Chem. Biodrivers. 2008. Vol. 5. N 10. P. 2140–2155.
15. Heffeter P., Jakupec M. A., Korner W. et al. Anticancer activity of the lanthanum compound [tris(1,10-phenanthroline)lanthanum(III)] trithiocyanate (KP772; FFC24) // Biochem. Pharmacol. 2006. Vol. 71. N 4. P. 426–440.
16. Heffeter P., Pongratz M., Steiner E. et al. Intrinsic and acquired forms of resistance against the anticancer ruthenium compound KP1019 [indasolium trans-[tetrachlorobis(1h-indasole) ruthenate III](FFC14A) // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2005. Vol. 312. N 1. P. 281–289.
17. Jakupec M. A., Reisner E., Keppler B. K. et al. Redox-active antineoplastic ruthenium complex with indasole: corilation of in vitro potency and reduction potention // J. Med. Chem. 2005. Vol. 48. N 8. P. 2831–2837.
18. Kapitza S., Pongratz M., Marian B. et al. Heterocycled complexes of ruthenium (III) induce apoptosis in colorectal carcinoma cells // J. Cancer Res. Clin Oncol. 2005. Vol. 131. N 2. P. 101–110.
19. Kapitza S., Jakupec M. A., Uhl M. et al. The heterocycled ruthenium (III) complex KP1019 (FFC14A) causes DNA damage and oxidative stress in colorectal tumor cells // Cancer Lett. 2005. Vol. 226. N 2. P. 115–121.
20. Kratz F., Hartmann M., Keppler B. et al. The binding properties of two antitumor Ruthenium (III) complexes to apotransferring // G. Biol. Chem. 1994. Vol. 269. N 4. P. 2581–2588.
21. Messori L., Vilchez F. G., Keppler B. et al. Binding of antitumor ruthenium (III) complexes to plasma proteins // Med. Based Drugs. 2000. Vol. 7. N 6. P. 335–342.

Стаття: надійшла до редакції 14.01.13

доопрацьована 18.02.13

прийнята до друку 28.02.13

MECHANISMS OF ENHANCEMENT OF ANTINEOPLASTIC ACTIVITY OF RU²⁺-CONTAINING DRUG BY IMMOBILIZATION ON POLYMER CARRIER

Yu. Senkiv^{1,2}, A. Ryabtseva³, N. Boiko¹, N. Mitina³,
O. Zaichenko³, R. Stoika¹

¹Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine
14/16, Drahomanov St., Lviv 79005, Ukraine

²Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

³National University “Lviv Polytechnic”
2, St. George Sq., Lviv 79013, Ukraine

e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua

The effectiveness of treatment of malignant tumors by the recently created (Ru²⁺)-containing anticancer drug is significantly reduced by its serum proteins binding in the hu-

man body. We have discovered a method of drug protecting from the binding with albumin and transferrin by encapsulating this drug in new polymer poly(VEP-GMA)-graft-PEG. Besides, this encapsulation of anticancer drug encourage more effective its accumulation and increase from 2 to 22 times its efficiency of actions (depending on the cell line) in malignant human cells.

Keywords: cancer cells, (Ru²⁺)-containing anticancer drug, encapsulation, polymer poly(VEP-GMA)-graft-PEG, efficiency of antineoplastic action.

МЕХАНИЗМЫ УСИЛЕНИЯ АНТИНЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РУТЕНИЙ-СОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА ИММОБИЛИЗАЦИЕЙ НА ПОЛИМЕРНОМ НОСИТЕЛЕ

Сеньків Ю.^{1,2}, Рябцева А.³, Бойко Н.¹, Митина Н.³,
Заиченко О.³, Стойка Р.¹

¹Институт биологии клетки НАН Украины
ул. Драгоманова, 14/16, Львов 79005, Украина

²Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

³Национальный университет «Львовская Политехника»
пл. Св. Юра, 2, Львов 79013, Украина
e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua

Эффективность лечения злокачественных новообразований с помощью недавно созданного рутений (Ru²⁺)-содержащего противоопухолевого препарата существенно снижается с помощью его связывания белками плазмы крови в организме онкобольных. Разработан метод защиты этого препарата от связывания альбумином и трансферрином путем инкапсуляции новым полимером поли(ПЭП-ГМА)-графт-ПЭГ. Кроме того, такая инкапсуляция противоопухолевого препарата позволяет существенно ускорить его поглощения и накопления клетками-мишенями, а также в 2–22 раза (в зависимости от линии клеток) увеличить эффективность его антинеопластического действия на опухолевые клетки человека.

Ключевые слова: клетки опухолей, (Ru²⁺)-содержащий противоопухолевый препарат, инкапсуляция, полимер поли(ПЭП-ГМА)-графт-ПЭГ, эффективность антинеопластического действия.