

УДК 577.3

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ АУРУМАКРИЛА И ЦИТОСТАТИКОВ РАЗЛИЧНОГО МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ

© 2020 г. Л.А. Островская*, Д.Б. Корман*, Н.В. Блюхтерова*, М.М. Фомина*, В.А. Рыкова*, К.А. Абзаева**

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

**Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения РАН, 664033, Иркутск, ул. Фаворского, 1
E-mail: larros@list.ru

Поступила в редакцию 09.01.2020 г.

После доработки 09.01.2020 г.

Принята к публикации 21.01.2020 г.

Проведено сравнительное экспериментальное изучение противоопухолевой активности нового для онкологии препарата аурумакрила и ряда известных цитостатиков различного механизма действия – цисплатина, циклофосфана, 5-фторурацила и доксорубицина – на моделях солидных опухолей мышей (карцинома легких Льюис и аденокарцинома Акатол). Установлена преимущественная по сравнению с другими цитостатиками (за исключением циклофосфана) активность аурумакрила, ингибирующего развитие карциномы легких Льюис и опухоли Акатол на 70–74% по сравнению с контролем соответственно.

Ключевые слова: экспериментальная противоопухолевая химиотерапия, солидные опухоли мышей, полиакрилат золота (аурумакрил), цисплатин, циклофосфан, 5-фторурацил, доксорубицин.

DOI: 10.31857/S0006302920020192

Одним из весьма перспективных направлений исследований в области биомедицинской химии, экспериментальной и клинической онкологии признано изучение металлоорганических соединений в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов. Интерес к металлоорганическим соединениям, особенно к структурам, содержащим благородные металлы, в значительной мере обусловлен открытием высокой противоопухолевой активности в ряду комплексных соединений платины, широко применяющихся в современной химиотерапии опухолей [1, 2].

Исследования последних лет выявили значительную противоопухолевую активность металлоорганических соединений, содержащих другой металл платиновой группы – золото. Показано, что золотосодержащие соединения обладают высокой цитотоксической активностью в отношении ряда стабильных клеточных линий опухолей человека *in vitro*, а также значимой противоопухолевой активностью в отношении опухолей животных *in vivo* [3–5]. Особый интерес золотосодержащие вещества вызывают в связи с тем, что мишени, на которые направлено их действие и

механизмы его реализации, отличают эти соединения от известных, клинически апробированных лекарственных средств. Характерные химические свойства этих соединений, обусловленные наличием иона золота, определяют их особый фармакологический профиль и механизм действия [6, 7].

Среди значительного многообразия изученных в последние годы металлоценов определенный интерес представляют металлопроизводные полиакриловой кислоты, относящиеся к новой для онкологии группе соединений, ранее в этом направлении не изучавшихся.

Наиболее эффективным среди препаратов этого ряда оказался полиакрилат золота (аурумакрил), проявивший значительную противоопухолевую активность в отношении перевиваемых опухолей животных *in vivo* и стабильных клеточных линий опухолей человека *in vitro* [8–11].

Как известно, одним из необходимых этапов исследования нового соединения является сравнительное изучение противоопухолевой эффективности этого препарата и цитостатиков иного механизма действия.

В данной статье обобщены результаты сравнительного экспериментального исследования ау-

румакрила и широко применяемых в клинической онкологии конвенциональных препаратов — цисплатина, циклофосфана, 5-фторурацила и доксорубина — на моделях солидных опухолей мышей (карцинома легких Льюис и аденокарцинома Акатол).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Препараты. Исследуемый препарат — полиакрилат золота, имеющий условное название аурумакрил, представляет собой неполную металлическую соль полиакриловой кислоты, содержащую ионы трехвалентного золота (массовая доля металла 8.03 масс. %). Общая формула аурумакрила $(-\text{CH}_2-\text{CHCOOH}-)_n(-\text{CH}_2\text{CHCOO}(\text{AuCl}_3\text{H})-)_m$, где $n = 1263$; $m = 124$; молекулярная масса — 100–300 кДа. Инфракрасные спектры препарата содержат полосы поглощения карбоксильной и карбоксилатной групп при 1720 и 1570 см^{-1} соответственно. Субстанция аурумакрила — стекловидные пластинки желтого цвета, хорошо растворимые в воде. Препарат вводили животным пятикратно на первые-пятые сутки после перевивки опухоли в суточной дозе 10 мг/кг внутривентриально в виде водного раствора, приготовленного на апиrogenной дистиллированной воде для инъекций, в объеме 0.2 мл.

Препаратами сравнения служили широко применяемые в клинической онкологии конвенциональные цитостатики — цисплатин (Тева, Израиль), циклофосфан (Baxter, Германия), 5-фторурацил (Тева, Израиль), доксорубин (Pfizer, США), которые вводили внутривентриально в оптимальных терапевтических дозовых режимах, указанных при описании полученных результатов.

Лабораторные животные. Эксперименты проведены на 300 инбредных мышах, самцах: BDF_1 — гибридах первого поколения $f_1(\text{C}_{57}\text{Bl}/6 \times \text{DBA}_2)$ и мышах линии Balb/c, массой 18–20 г, разведения питомника «Филиал «Столбовая» ФГБУН НЦ-БМТ ФМБА России». Каждая группа животных, получавших препарат, состояла из шести мышей при восьми животных в контроле.

Модели опухолей животных. В качестве опухолевых тест-систем служили солидные опухоли — карцинома легких Льюис (мышы BDF_1), аденокарцинома Акатол (мышы Balb/c). Перевивку опухолей осуществляли в соответствии со стандартными методиками под кожу правого бока мышы измельченными фрагментами опухолевой ткани, содержащимися в физиологическом растворе хлористого натрия. Размер инокулама составлял 0.3 мл [12].

Оценка противоопухолевого эффекта. Ростингибирующий эффект препаратов оценивался на основе изучения кинетики роста опухолей у лече-

ных и контрольных животных. Для изучения кинетики роста опухолей проводили измерение двух взаимно перпендикулярных размеров опухолевого узла на протяжении всего периода развития опухолей. Объем опухоли вычисляли в соответствии с формулой для эллипсоида как $V = ab^2/2$, где a — длина, b — ширина и высота опухолевого узла. Масса опухоли соответствует ее объему, поскольку плотность опухолевой ткани принято считать равной 1 г/см^3 . Коэффициент торможения роста опухоли (ТРО%) определяли из соотношения $\text{ТРО} = (P_C - P_T)/P_C$, где P_C и P_T — средняя масса опухоли мышы в группах контрольных (С) и леченых (Т) животных соответственно [12, 13].

Статистический анализ результатов. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета компьютерных программ Statistica 6.0 и Statistica 8.0. Результаты представлены как среднее из трех независимых экспериментов. Различия считали достоверными при $p < 0.05$ [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучение противоопухолевой активности аурумакрила в сравнении с эффектом цитостатиков различного механизма действия — алкилирующими агентами (цисплатином, циклофосфаном), антиметаболитом (5-фторурацилом), противоопухолевым антибиотиком (доксорубицином) — проведено на моделях солидных опухолей мышы.

Результаты исследования влияния препаратов на развитие карциномы легких Льюис и аденокарциномы Акатол представлены на рис. 1 и 2 соответственно.

Сравнительная оценка противоопухолевого эффекта препаратов различных классов на модели карциномы Льюис свидетельствует о преимущественной активности аурумакрила по сравнению с большинством изученных цитостатиков за исключением циклофосфана. Так, аурумакрил ингибирует развитие опухоли на 70% по сравнению с контролем, в то время как эффективность цисплатина составляет около 30%, а 5-фторурацила и доксорубина — 55 и 47% соответственно. Однако аурумакрил уступает в эффективности циклофосфану, вызывающему торможение развития карциномы Льюис на 94% по сравнению с контролем при двукратном введении по 100 мг/кг в сутки (рис. 1, табл. 1).

На модели аденокарциномы Акатол аурумакрил также несколько уступает в активности циклофосфану, превосходя эффект остальных изученных цитостатиков. Циклофосфан, будучи наиболее эффективным препаратом, ингибирует

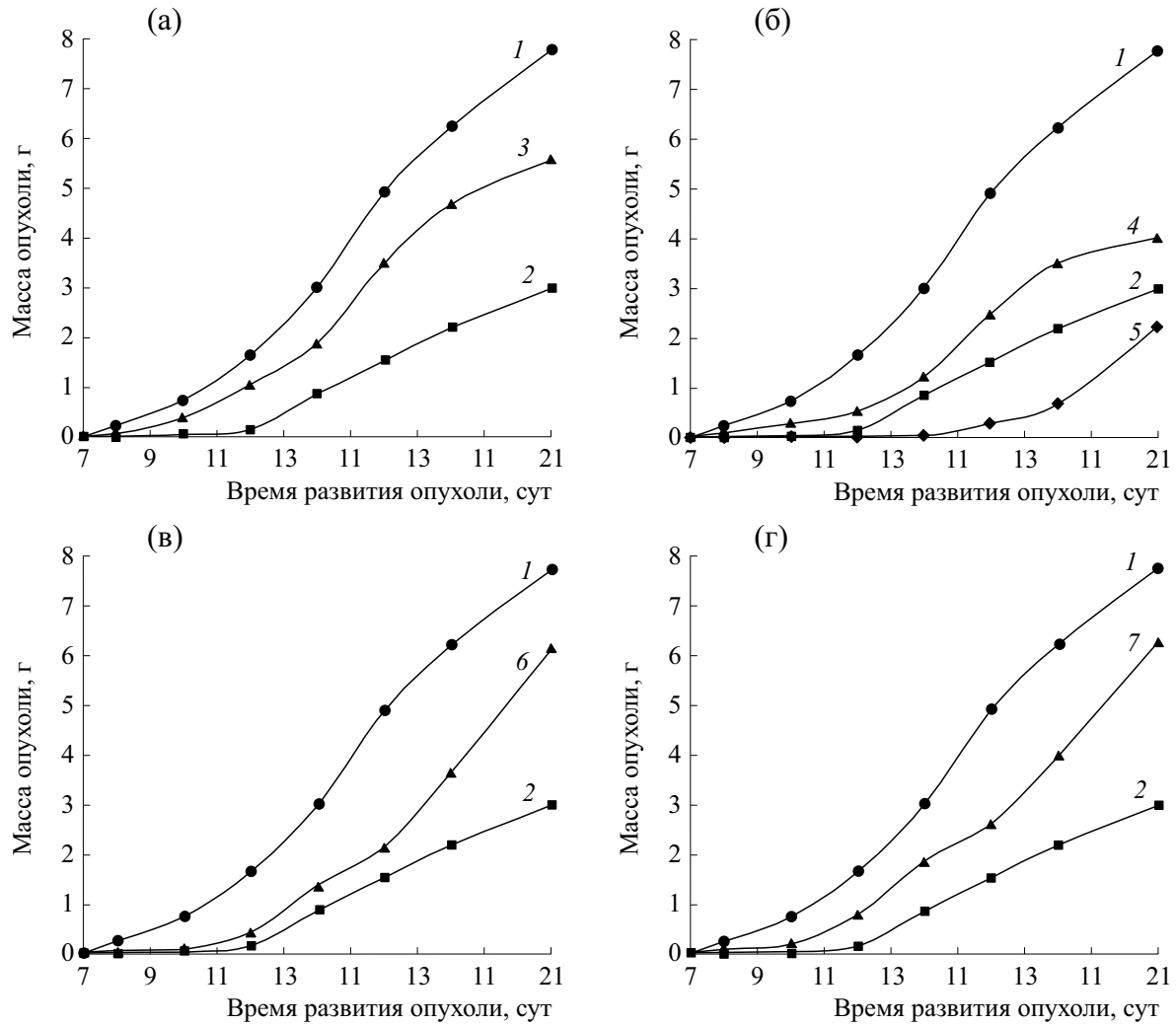


Рис. 1. Противоопухолевая активность аурумакирила и цитостатиков других групп на модели карциномы легких Льюис. Панель (а): 1 – контроль; 2 – аурумакирил, 10 мг/кг, пятикратно; 3 – цисплатин, 1 мг/кг, пятикратно; панель (б): 1 – контроль; 2 – аурумакирил, 10 мг/кг, пятикратно; 4 – циклофосфан, 25 мг/кг, пятикратно; 5 – циклофосфан, 100 мг/кг, двукратно; панель (в): 1 – контроль; 2 – аурумакирил, 10 мг/кг, пятикратно; 6 – 5-фторурацил, 25 мг/кг, пятикратно; панель (г): 1 – контроль; 2 – аурумакирил, 10 мг/кг, пятикратно; 7 – доксорубицин, 2 мг/кг, пятикратно.

развитие данной опухоли на 90%, аурумакирил – на 74%, а цисплатин, 5-фторурацил и доксорубицин – на 57, 50 и 56% по сравнению с контролем соответственно (рис. 2, табл. 2).

Следует отметить, что регистрируемые эффекты сохраняются на протяжении достаточно длительного времени и наблюдаются спустя 11–16 суток после окончания введения препаратов (табл. 3).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о несомненной противоопухолевой активности аурумакирила, представляющего собой новое для онкологии вещество, вызывающее торможение роста карциномы легких Льюис и аденокарциномы Акатол на 70–74% на протяжении 11-ти и 16-ти суток после окончания применения соответственно. Показано, что аурумакирил

превосходит по эффективности такие известные широко применяющиеся цитостатики различного механизма действия, как цисплатин, 5-фторурацил и доксорубицин, несколько уступая в активности только циклофосфану.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования дополняют полученные нами ранее данные о значительной эффективности аурумакирила на моделях солидных опухолей мышей (карцинома легких Льюис, аденокарцинома Са-755 и аденокарцинома Акатол) *in vivo*, а также в отношении ряда стабильных клеточных линий опухолей человека различного генеза (меланома Mel Mo, рак молочной железы MCF-7, рак легкого A549) *in vitro* [14, 15].

Таблица 1. Противоопухолевая активность аурумакрила и цитостатиков других групп на модели карциномы легких Льюис

Препарат	Разовая доза (мг/кг), режим введения	Время оценки эффекта (сутки после перевивки)	Средняя масса опухоли, г		Коэффициент торможения роста опухоли (ТРО%)
			леченые животные	контрольные животные	
Аурумакрил	10; 1–5 сут	16	1.5 ± 0.1	4.9 ± 0.3	70
		21	3.0 ± 0.1	7.8 ± 0.5	62*
Цисплатин	1; 1–5 сут	16	3.5 ± 0.1	4.9 ± 0.3	29
		21	5.6 ± 0.3	7.8 ± 0.5	28
Циклофосфан	25; 1–5 сут	16	2.5 ± 0.2	4.9 ± 0.3	49
		21	0.3 ± 0.1	4.9 ± 0.3	94
	100; 1 и 5 сут	16	4.0 ± 0.3	7.8 ± 0.5	38
		21	2.2 ± 0.2	7.8 ± 0.5	72*
5-Фторурацил	25; 1–5 сут	16	2.2 ± 0.2	4.9 ± 0.3	55
		21	6.2 ± 0.6	7.8 ± 0.5	21
Доксорубин	2; 1–5 сут	16	2.6 ± 0.2	4.9 ± 0.3	47
		21	6.3 ± 0.5	7.8 ± 0.5	19

Примечание. * – Различия между указанными группами отсутствуют. Во всех остальных группах различия в показателях средней массы опухолей у мышей, получавших аурумакрил и препараты сравнения, достоверны ($p < 0,05$).

Показано, что аурумакрил обладает активностью, сопоставимой с эффективностью ряда широко применяющихся цитостатиков различного механизма действия, таких как цисплатин, циклофосфан, 5-фторурацил и доксорубин.

Для позиционирования потенциального лекарственного средства в современной противоопухолевой химиотерапии необходимым требованием является наличие представлений о возможных молекулярных мишенях и механизмах противоопухолевого действия препарата, которые для аурумакрила остаются пока невыясненными.

Согласно существующим представлениям, биомишенями для золотосодержащих препаратов могут служить белки, участвующие в регуляции клеточной пролиферации опухолевых клеток, в развитии процессов апоптоза и ангиогенеза [5, 7].

Показано, в частности, на ряде моделей стабильных клеточных линий опухолей человека высокоспецифичное ингибирование под влиянием препаратов золота такого фермента семейства пиридиннуклеотидоксиредуктаз, как митохондриальная тиоредоксинредуктаза, имеющая в своем активном центре селен, который высокочувствителен к действию тяжелых металлов. Результатом такого взаимодействия является повреждение митохондриальной мембраны, выход в цитозоль цитохрома *c* и индукция апоптоза [16, 17].

Обнаружено также модулирование препаратами золота активности протесом и уменьшение содержания антиапоптотических белков, что приводит к стимуляции процессов апоптоза клеток. Высока вероятность влияния золота на белки, входящие в сигнальный каскад трансдукции митогенных сигналов, что может вести к подавлению клеточной пролиферации и гибели клеток [6, 7, 18].

Необходимо отметить, что аурумакрил является первым и пока единственным полимерным соединением среди изученных золотосодержащих веществ, очевидно способным в определенных условиях формировать наноразмерные частицы золота в полимерной матрице, что, возможно, вносит свой вклад в особенности метаболизма этого препарата в физиологических условиях [19].

Наряду с этим, исходя из известных представлений о некоторой преимущественной предрасположенности опухолевых клеток к взаимодействию с полианионами, можно рассчитывать на возможность избирательного взаимодействия полиакрилата золота, как выраженного полианиона, с клетками опухоли [20].

Можно также предположить, что, взаимодействуя в качестве полианиона с положительно заряженными белками, в частности с гистонами, аурумакрил способен вызывать повреждение хроматина с последующим нарушением функций ДНК [18].

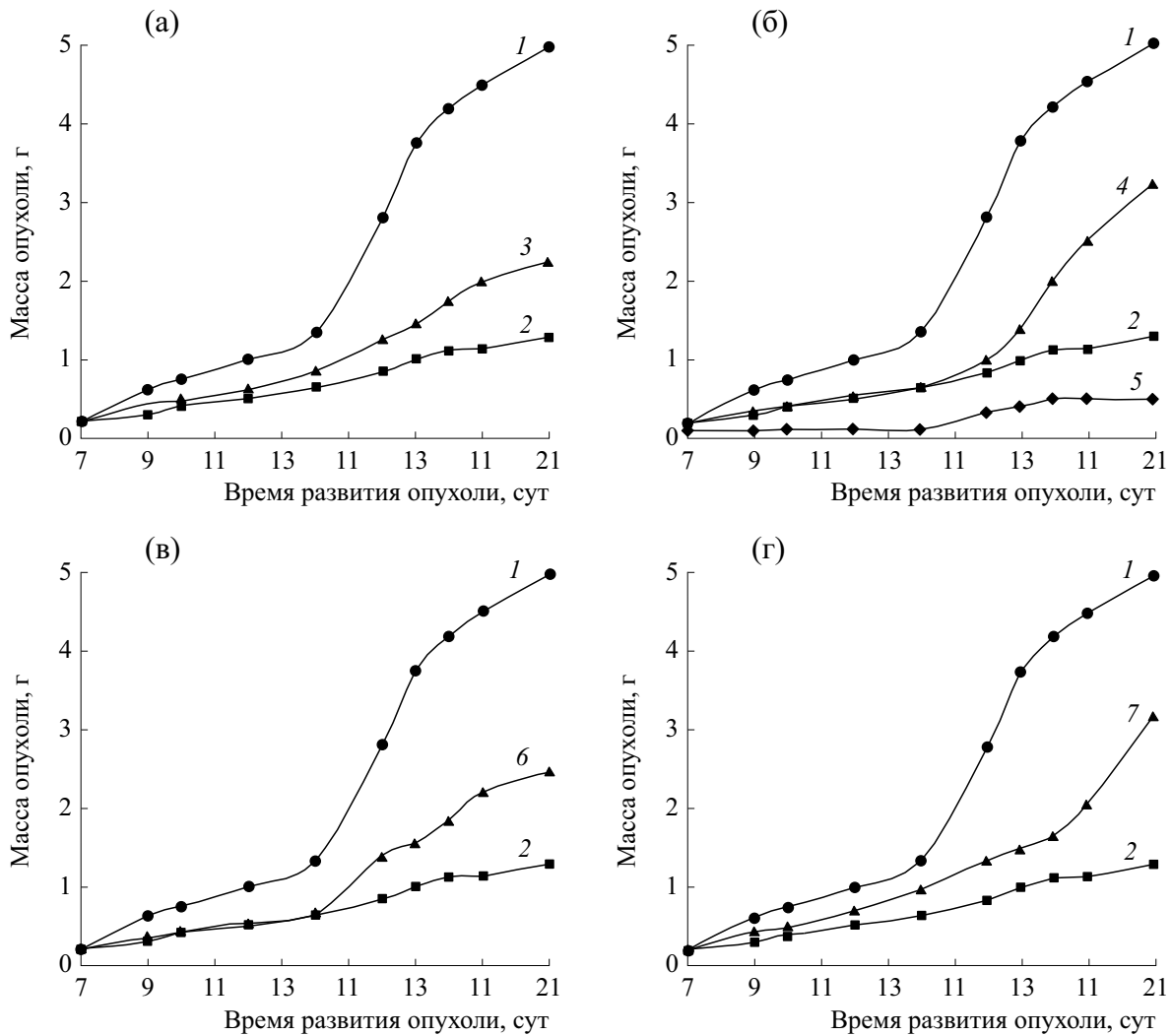


Рис. 2. Противоопухолевая активность аурумакрила и цитостатиков других групп на модели аденокарциномы Акатол. Панель (а): 1 – контроль; 2 – аурумакрил, 10 мг/кг, пятикратно; 3 – цисплатин, 1 мг/кг, пятикратно; панель (б): 1 – контроль; 2 – аурумакрил, 10 мг/кг, пятикратно; 4 – циклофосфан, 25 мг/кг, пятикратно; 5 – циклофосфан, 100 мг/кг, двукратно; панель (в): 1 – контроль; 2 – аурумакрил, 10 мг/кг, пятикратно; 6 – 5-фторурацил, 25 мг/кг, пятикратно; панель (г): 1 – контроль; 2 – аурумакрил, 10 мг/кг, пятикратно; 7 – доксорубин, 2 мг/кг, пятикратно.

Вышеизложенные соображения позволяют отнести золотосодержащие соединения к потенциальным противоопухолевым агентам с мультитаргетным механизмом действия, подлежащим специальному целенаправленному исследованию.

Изучение детального механизма и мишеней противоопухолевого действия аурумакрила является одной из основных задач дальнейших исследований этого перспективного препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено сравнительное экспериментальное изучение противоопухолевой активности нового для онкологии препарата аурумакрил и ряда из-

вестных цитостатиков различного механизма действия – цисплатина, циклофосфана, 5-фторурацила и доксорубина – на моделях солидных опухолей мышей.

Показано, что аурумакрил, представляющий собой новое для онкологии вещество, вызывает торможение роста карциномы легких Льюис и аденокарциномы Акатол на 70–74% на протяжении 11-ти и 16-ти суток после окончания применения соответственно.

Установлено, что аурумакрил превосходит по эффективности такие известные широко применяющиеся цитостатики различного механизма действия, как цисплатин, 5-фторурацил и доксорубин, несколько уступая в активности лишь циклофосфану.

Таблица 2. Противоопухолевая активность аурумакрила и цитостатиков других групп на модели аденокарциномы Акатолс

Препарат	Разовая доза (мг/кг), режим введения	Время оценки эффекта (сутки после перевивки)	Средняя масса опухоли, г		Коэффициент торможения роста опухоли (ТРО%)
			леченые животные	контрольные животные	
Аурумакрил	10; 1–5 сут	16	0.8 ± 0.1	2.8 ± 0.5	71*
		21	1.3 ± 0.1	5.0 ± 0.6	74
Цисплатин	1; 1–5 сут	16	1.2 ± 0.1	2.8 ± 0.5	57*
		21	2.2 ± 0.2	5.0 ± 0.6	56
Циклофосфан	25; 1–5 сут	16	1.0 ± 0.3	2.8 ± 0.5	64*
	100; 1 и 5 сут		0.3 ± 0.1	2.8 ± 0.5	89
	25; 1–5 сут	21	3.2 ± 0.3	5.0 ± 0.6	36
	100; 1 и 5 сут		0.5 ± 0.1	5.0 ± 0.6	90
5-Фторурацил	25; 1–5 сут	16	1.4	2.8 ± 0.5	50
		21	2.5	5.0 ± 0.6	50
Доксорубицин	2; 1–5 сут	16	1.3	2.8 ± 0.5	53
		21	3.2	5.0 ± 0.6	36

Примечание. * – Различия между указанными группами отсутствуют. Во всех остальных группах различия в показателях средней массы опухолей у мышей, получавших аурумакрил и препараты сравнения, достоверны ($p < 0.05$).

Таблица 3. Сравнительная оценка противоопухолевой эффективности аурумакрила и препаратов различных классов на моделях солидных опухолей мышей

Препарат	Разовая доза, мг/кг/сутки	Карцинома легких Льюис		Аденокарцинома Акатол	
		ТРО% 11-е сутки*	ТРО% 16-е сутки*	ТРО% 11-е сутки*	ТРО% 16-е сутки*
Аурумакрил 1–5 сут	10	70	62	71	74
Цисплатин 1–5 сут	1	29	28	57	56
Циклофосфан 1–5 сут	100	94	72	89	90
5-Фторурацил 1–5 сут	25	55	21	50	50
Доксорубицин 1–5 сут	2	47	19	53	36

Примечание. * – Время после окончания введения препарата.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных при выполнении работы были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Д. Б. Корман, *Основы противоопухолевой химиотерапии* (Практическая медицина, М., 2006).
2. A. Markowska, B. Kospzak, K. Jaszczynska-Nowinka, et al., *Comtemp. Oncol. (Pozn.)*. **19**, 271 (2015).
3. M. Frezza, S. Hindo, D. Chen, et al., *Curr. Pharm. Des.* **16**, 1813 (2010).
4. C. Nardon and D. Fregona, *Curr. Top. Med. Chem.* **16**, 360 (2016).
5. S. Nobili, E. Mini, I. Landini, et al., *Med. Res. Rev.* **30**, 580 (2010).
6. Д. Б. Корман, Л. А. Островская и В. А. Кузьмин, *Вопр. онкологии* **64** (6), 697 (2018).
7. Д. Б. Корман, Л. А. Островская и В. А. Кузьмин, *Биофизика* **64** (3), 552 (2019).
8. L. A. Ostrovskaya, M. G. Voronkov, D. B. Korman, et al., *J. Cancer Ther.* **1** (2), 59 (2010).
9. L. A. Ostrovskaya, D. B. Korman, and N. V. Bluhterova, *Biointerface Res. Appl. Chem.* **4** (4), 816 (2014).
10. Л. А. Островская, М. Г. Воронков, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **59** (4), 785 (2014).
11. Л. А. Островская, Д. Б. Корман, А. К. Грехова и др., *Изв. РАН. Сер. хим.*, № 12, 2333 (2017).
12. Е. М. Трещалина, О. С. Жукова, Г. К. Герасимова и др., в сб. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, под ред. А. Н. Миронова и др. («Гриф и К», М., 2012), ч. 1, сс. 642–657.
13. Л. А. Островская, С. Д. Варфоломеев, М. Г. Воронков и др., *Изв. РАН. Сер. хим.*, № 5, 1211 (2014).
14. Л. А. Островская, Д. Б. Корман, Н. В. Блюхтерова и др., *Хим. физика* **38** (12), 64 (2019).
15. Д. Б. Корман, Е. И. Некрасова, Л. А. Островская и др., *Биофизика* **64** (6), 1138 (2019).
16. D. Saggiaro, M. P. Rigobello, L. Paloschi, et al., *Chem. Biol.* **14**, 128 (2007).
17. L. Ronconi, D. Aldinucci, Q. P. Don, and D. Fregona, *Anticancer Agents Med. Chem.* **10**, 283 (2010).
18. A. Casini, L. Messori, *Curr. Top. Med. Chem.* **11**, 2647 (2011).
19. Б. И. Западинский, А. В. Котова, И. А. Матвеева и др., *Хим. физика* **29** (10), 87 (2010).
20. Н. А. Платэ и А. Е. Васильев, *Физиологически активные полимеры* («Химия», М., 1986).

Comparative Experimental Study of Antitumor Activity between Aurumacryl and Cytostatics with Different Mechanisms of Action

L.A. Ostrovskaya*, D.B. Korman*, N.V. Bluhterova*, M.M. Fomina*,
V.A. Rikova*, and K.A. Abzaeva**

*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119991 Russia

**Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
ul. Favorskogo 1, Irkutsk, 664033 Russia

The aim of our research was to compare the antitumor activity of aurumacryl, a new cancer drug, and a range of well-known cytostatics with different mechanisms of action such as cisplatin, cyclophosphan, 5-fluorouracil and doxorubicin on experimental murine solid tumor models (Lewis lung carcinoma and Acatol adenocarcinoma). The obtained results showed that the activity of aurumacryl was higher than that of the studied cytostatics (except for cyclophosphan). The tumor growth inhibitory effect of aurumacryl against Lewis lung carcinoma and Acatol adenocarcinoma was equal to 70% and 74%, respectively, as compared to control.

Keywords: experimental antitumor chemotherapy, murine solid tumors, aurum polyacrylate (aurumacryl), cisplatin, cyclophosphan, 5-fluorouracil, doxorubicin