

## ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ПОЛИАКРИЛАТОВ БЛАГОРОДНЫХ МЕТАЛЛОВ

© 2021 г. Л.А. Островская\*, Д.Б. Корман\*, Е.И. Некрасова\*, Н.В. Блюхтерова\*,  
М.М. Фомина\*, В.А. Рыкова\*, Ю.А. Хоченкова\*\*, К.А. Абзаева\*\*\*

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

\*\*Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина МЗ РФ,  
115478, Москва, Каширское шоссе, 24

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

Поступила в редакцию 22.06.2021 г.

После доработки 22.06.2021 г.

Принята к публикации 29.06.2021 г.

Проведено сравнительное изучение противоопухолевой и цитотоксической активности двух полимерных соединений на основе полиакриловой кислоты, содержащих золото (аурумакрил) и серебро (аргакрил). Препараты эффективно ингибируют развитие солидных опухолей мышей (карцинома легких Льюис, аденокарцинома Акатол, аденокарцинома Са-755) и обладают выраженным цитотоксическим эффектом в отношении клеток опухоли человека (культура клеток МСF-7). Коэффициент торможения роста опухолей мышей колеблется в пределах от 55 до 90% по сравнению с контролем. Показатель цитотоксического эффекта  $ИК_{50}$  составляет 25 мкг/мл и 100 мкг/мл для аргакрила и аурумакрила соответственно. Чувствительность к препаратам клеток опухолей животных *in vivo* и клеток опухоли человека *in vitro* зависит от природы металла в комплексном полимерном соединении.

**Ключевые слова:** полиакрилат золота (аурумакрил), полиакрилат серебра (аргакрил), противоопухолевая активность, цитотоксический эффект, солидные опухоли мышей, культура клеток опухоли человека.

DOI: 10.31857/S0006302921050161

Изучение в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов металлоорганических соединений и, в частности, структур, содержащих благородные металлы, признано одним из весьма перспективных направлений исследований в области биомедицинской химии, экспериментальной и клинической онкологии [1–3].

Характерные химические свойства этих соединений, обусловленные наличием иона металла, определяют их особый фармакологический профиль и механизмы действия. Особый интерес металлсодержащие 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 [4, 5].

В последние годы особое внимание уделяется исследованию металлоценов, содержащих золото. Показано, что золотосодержащие комплексы обладают высокой цитотоксической активностью в отношении ряда стабильных клеточных линий опухолей человека *in vitro*, а также значи-

мой противоопухолевой активностью в отношении опухолей животных *in vivo* [6–8].

Ранее нами была обнаружена противоопухолевую активность полимерных соединений на основе полиакриловой кислоты, содержащих благородные металлы (золото и серебро) [9–16].

В продолжение этого направления исследований мы провели сравнительное изучение противоопухолевой и цитотоксической активности двух соединений – полиакрилата золота (аурумакрил) и полиакрилата серебра (аргакрил), результаты которого представлены в данной работе.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Препараты.** Исследовавшиеся полиметаллоакрилаты представляют собой неполные металлические соли полиакриловой кислоты, содержащие ионы благородных металлов (8 масс. %). Аурумакрил – неполная золотая соль полиакриловой кислоты, отвечает общей формуле  $(-CH_2-CHCOOH-)_n$   $(MCH_2CHCOO AuCl_3H-)_m$ ; аргакрил – неполная

серебряная соль полиакриловой кислоты, отвечает общей формуле  $(-\text{CH}_2-\text{CHCOOH}-)_n(-\text{CH}_2\text{CHCOOAg}-)_m$ , где  $n = 12000-35000$ ,  $m = 1650-6650$ . Молекулярная масса полимеров составляет 100–300 кДа. Инфракрасные спектры препаратов содержат полосы поглощения карбоксильной и карбоксилатной групп при 1720 и 1570  $\text{см}^{-1}$  соответственно. Субстанции препаратов представляют собой стекловидные пластинки золотистого (аурумакрил) и серебристого (аргакрил) цвета, хорошо растворимые в воде [11, 12]. В условиях *in vivo* препараты применяли в виде водных растворов внутривентриально многократно, ежедневно, начиная со следующих суток после перевивки опухоли в следующих суточных дозах: аурумакрил – 20 мг/кг, аргакрил – 2 и 6 мг/кг. Оценка цитотоксического эффекта препаратов *in vitro* проведена при их концентрациях в диапазоне от 0.0019 до 2.0 мг/мл.

**Лабораторные животные.** Эксперименты проведены на инбредных линейных мышах BDF<sub>1</sub> – гибридах первого поколения  $f_1(\text{C}_{57}\text{Bl}/6 \times \text{DBA}_2)$ , а также мышах линии Balb/c, массой 18–20 г (разведение питомника «Филиал «Столбовая» НЦБМТ ФМБА России»).

**Модели опухолей животных.** В качестве опухолевых тест-систем служили перевиваемые солидные опухоли мышей – карцинома легких Льюис и аденокарцинома Са-755 (мышь BDF<sub>1</sub>), аденокарцинома Акатол (мышь Balb/c). Перевивку опухолей осуществляли в соответствии со стандартной методикой под кожу правого бока мышей измельченными фрагментами опухолевой ткани, содержащейся в 0.3 мл физиологического раствора хлористого натрия [17].

**Оценка противоопухолевого эффекта *in vivo*.** Показателями ростингибирующего эффекта препаратов служили различия в кинетике роста опухолей и средней продолжительности жизни у леченых (Т) и контрольных (С) животных. Коэффициент торможения роста опухоли (ТРО, %) определялся из соотношения  $\text{ТРО} = (P_C - P_T)/P_C$ , где  $P_C$  и  $P_T$  – средняя масса опухолей мышей в группах контрольных и леченых животных. Изменение средней продолжительности жизни ( $\Delta\tau$ , %) определялось как  $\Delta\tau = (\tau_C - \tau_T)/\tau_C$ , где  $\tau_C$  и  $\tau_T$  – средняя продолжительность жизни мышей

в группах контрольных и леченых животных [12, 17].

**Оценка цитотоксического эффекта *in vitro*.** Для сравнительной оценки цитотоксического эффекта аурумакрила и аргакрила в отношении клеток опухолей человека использована клеточная культура рецептор-положительной карциномы молочной железы линии MCF-7, полученная из банка опухолей НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Цитотоксичность препаратов оценивали путем определения доли выживших по сравнению с контролем клеток с использованием стандартного МТТ-теста, основанного на сравнительном спектрофотометрическом определении оптической плотности раствора формазана в группах клеток, подвергавшихся воздействию препарата, и в контроле, в соответствии с ранее описанной методикой [18].

**Статистический анализ результатов.** Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакетов компьютерных программ Statistica 6.0 и Statistica 8.0. Результаты представлены как среднее из двенадцати индивидуальных измерений для каждого экспериментального животного и из четырех индивидуальных измерений для культивируемых клеток. Оценка достоверности различий между сравниваемыми параметрами проведена помощью *t*-критерия Стьюдента. Различия признаются достоверными при условии, что вычисленные значения *t* превышают значения критерия Стьюдента  $t_{0.1}$  для определенных уровней значимости ( $p \leq 0.01$ ) при заданном числе степеней свободы *f* [17].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

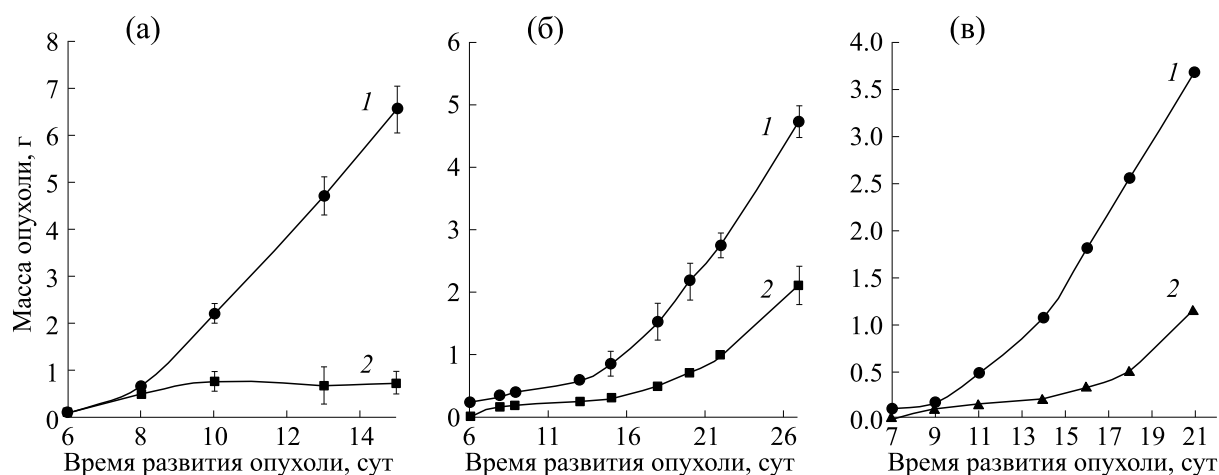
**Противоопухолевая активность препаратов *in vivo*.** Противоопухолевая активность аргакрила и аурумакрила установлена на моделях солидных опухолей мышей – карциноме легких Льюис, аденокарциноме Акатол и аденокарциноме Са-755 – при ежедневном многократном внутривентриальном введении препаратов.

Отметим, что аурумакрил применяли в суточной дозе 20 мг/кг, в то время как аргакрил использовали в большинстве опытов в дозе 2 мг/кг,

**Таблица 1.** Острая токсичность полиакрилатов благородных металлов

Препарат	Максимально-переносимая доза, мг/кг	Срединная летальная доза, мг/кг
Аргакрил	20	30
Аурумакрил	100	150

Примечание. Мыши BDF<sub>1</sub>, введение однократно, внутривентриально.



**Рис. 1.** Противоопухолевая активность аргакрила на моделях карциномы легких Льюис (а), аденокарциномы Акатол (б) и аденокарциномы Са-755 (в): 1 – контроль; 2 – аргакрил, 2 мг/кг/сут, внутривентриально, с первых по пятые сутки после перевивки опухоли (Са-755 – 6 мг/кг/сут, с первых по девятые сутки).

что объясняется значительно более высокой токсичностью препарата, содержащего серебро, по сравнению с препаратом золота. Как видно из представленных в табл. 1 данных, максимально переносимая доза и срединная летальная доза аурумакрила в пять раз превышают соответствующие дозы для аргакрила (табл. 1).

Было показано, что аргакрил эффективно тормозит развитие карциномы легких Льюис (90%) и аденокарциномы Са-755 (70%), проявляя несколько меньшую активность в отношении опухоли Акатол (55%) (рис. 1, табл. 2).

Аурумакрил тормозит развитие всех трех изученных солидных опухолей мышей на 80–90% (рис. 2, табл. 2).

При этом средняя продолжительность жизни животных под влиянием аргакрила увеличивается на 46% (карцинома легких Льюис), а под влиянием аурумакрила – на 31% (аденокарцинома Са-755) по сравнению с контролем (табл. 3).

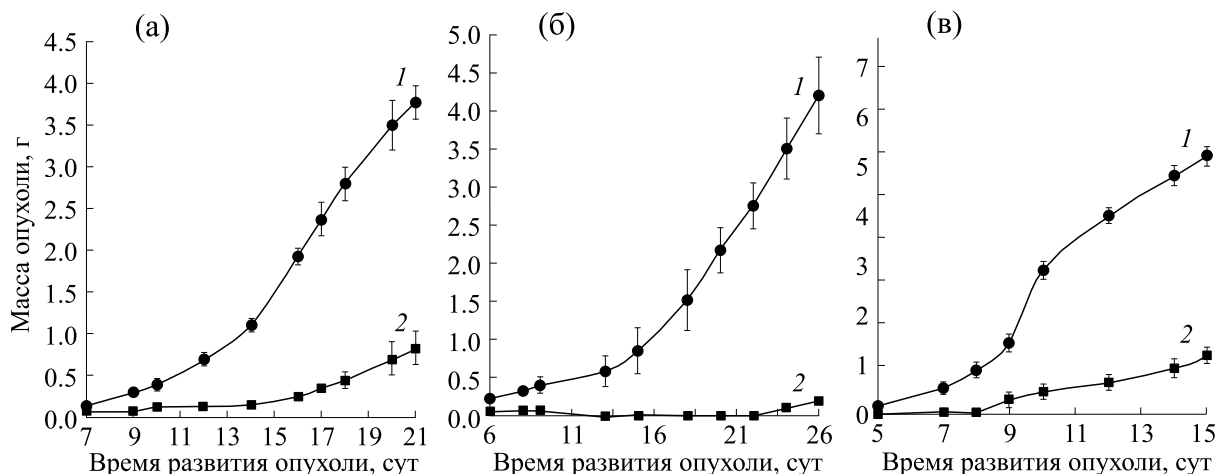
Как видно из представленных данных, оба препарата, содержащих как серебро, так и золото, проявляют существенный противоопухолевый эффект в отношении солидных опухолей мышей.

**Цитотоксический эффект препаратов *in vitro*.** Влияние аргакрила и аурумакрила на выживаемость клеток MCF-7 в зависимости от концентрации препаратов характеризуют данные, представленные на рис. 3 и в табл. 4.

Как видно из представленных данных, оба изученных препарата обладают дозозависимым

**Таблица 2.** Противоопухолевая активность полиакрилатов благородных металлов на моделях солидных опухолей мышей

Штамм опухоли	Доза, мг/кг/сут, и режим введения	Время оценки эффекта, сут	Средняя масса опухоли, г		Коэффициент торможения роста опухоли, %
			леченые животные	контрольные животные	
<b>Аргакрил</b>					
Карцинома Льюис	2 (1 – 5 сут)	15	0.7 ± 0.1	6.5 ± 0.4	90
Акатол	2 (1 – 5 сут)	27	2.1 ± 0.2	4.7 ± 0.6	55
Са-755	6 (1 – 9 сут)	21	3.8 ± 0.3	1.2 ± 0.2	70
<b>Аурумакрил</b>					
Карцинома Льюис	20 (1 – 5 сут)	21	0.8 ± 0.1	3.8 ± 0.5	80
Акатол	20 (1 – 5 сут)	27	0.5 ± 0.1	4.7 ± 0.6	90
Са-755	20 (1 – 5 сут)	15	1.2 ± 0.2	5.2 ± 0.5	77



**Рис. 2.** Противоопухолевая активность аурумакирила на моделях карциномы легких Льюис (а), аденокарциномы Акатол (б), аденокарциномы Са-755 (в): 1 – контроль; 2 – аурумакирил, 20 мг/кг/сут, внутривентриально, с первых пяти суток после перевивки опухоли.

цитотоксическим действием на опухолевые клетки, вызывая их гибель, выраженность которой зависит от концентрации препарата и природы металла, содержащегося в полимере.

Аргакрил и аурумакирил вызывают практически полную гибель опухолевых клеток (94–96%) при воздействии в максимальной концентрации 2 мг/мл (рис. 3, табл. 4).

Однако в целом концентрационные зависимости, характеризующие цитотоксическое действие препаратов, имеют весьма существенные количественные различия, что находит свое отражение в разнице между расчетными значениями концентрации вещества, вызывающей гибель 50% опухолевых клеток ( $ИК_{50}$ ) для аргакрила и аурумакирила. Так, значения  $ИК_{50}$  составляют 0.025 мг/мл (25 мкг/мл) и 0.100 мг/мл (100 мкг/мл) для аргакрила и аурумакирила соответственно (рис. 3, табл. 4).

В соответствии с приведенными значениями показателя  $ИК_{50}$  – общепринятого критерия оценки цитотоксичности веществ – аргакрил об-

ладает в четыре раза более высоким цитотоксическим эффектом в отношении клеток рака молочной железы MCF-7, чем аурумакирил.

Вместе с тем необходимо подчеркнуть, что, несмотря на обнаруженные количественные различия в цитотоксическом эффекте аргакрила и аурумакирила, оба изученных препарата обладают выраженной способностью оказывать летальное действие на клетки опухоли человека.

### ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что полиакрилаты, содержащие как золото, так и серебро, обладают существенной противоопухолевой активностью в отношении солидных опухолей мышей (карцинома легких Льюис, аденокарцинома Акатол, аденокарцинома Са-755) *in vivo* и выраженным цитотоксическим эффектом в отношении клеток опухоли человека (культура клеток MCF-7) *in vitro*.

**Таблица 3.** Влияние препаратов аргакрил и аурумакирил на продолжительность жизни животных с солидными опухолями

Штамм опухоли	Препарат	Доза, мг/кг/сут, и режим введения	Средняя продолжительность жизни животных, сут		Увеличение средней продолжительности жизни мышей, %
			леченые животные	контрольные животные	
Карцинома Льюис	Аргакрил	2 (1 – 5 сут)	34.5 ± 4.6	25.0 ± 2.8	46
Са-755	Аурумакирил	20 (1 – 5 сут)	35.2 ± 6.8	26.8 ± 7.2	31

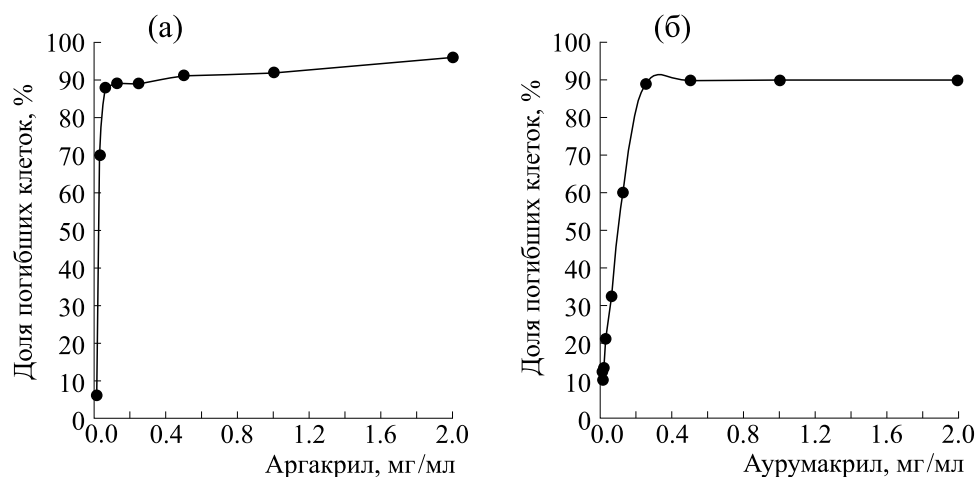


Рис. 3. Изменение доли погибших клеток MCF-7 в зависимости от концентрации аргакрила (а) и аурумакрила (б).

Таблица 4. Выживаемость и гибель клеток опухоли человека под влиянием полиакрилатов серебра и золота (культура клеток MCF-7)

Концентрация препарата, мг/мл	Показатель оптической плотности формазана	Показатель цитотоксического эффекта	
		Выжившие клетки, %	Погибшие клетки, %
Аргакрил ( $ID_{50} = 0.025$ мг/мл)			
0.0039	$1.384 \pm 0.032$	97	3
0.0078	$1.368 \pm 0.041$	96	4
0.0156	$1.347 \pm 0.065$	94	6
0.0312	$0.426 \pm 0.039$	30	70
0.0625	$0.178 \pm 0.015$	12	88
0.1250	$0.159 \pm 0.003$	11	89
0.2500	$0.152 \pm 0.003$	11	89
0.5000	$0.132 \pm 0.002$	9	91
1.0000	$0.108 \pm 0.001$	8	92
2.0000	$0.064 \pm 0.005$	4	96
Контроль	$1.430 \pm 0.015$	100	0
Аурумакрил $ID_{50} = 0.100$ мг/мл			
0.0019	$1.370 \pm 0.084$	87	13
0.0039	$1.369 \pm 0.050$	87	13
0.0078	$1.408 \pm 0.022$	89	11
0.0156	$1.363 \pm 0.038$	86	14
0.0312	$1.226 \pm 0.048$	78	22
0.0625	$1.039 \pm 0.037$	66	34
0.1250	$0.581 \pm 0.055$	37	63
0.2500	$0.113 \pm 0.024$	7	93
0.1250	$0.581 \pm 0.055$	37	63
0.5000	$0.090 \pm 0.002$	6	94
1.0000	$0.088 \pm 0.002$	6	94
2.0000	$0.097 \pm 0.002$	6	94
Контроль	$1.576 \pm 0.073$	100	0

Вместе с тем следует отметить, что природа металла оказывает определенное влияние на биологические эффекты этих препаратов.

Полиакрилат серебра обладает в пять раз более высокой токсичностью по сравнению с полиакрилатом золота.

Аурумакрилу, вызывающему торможение роста всех трех изученных штаммов опухолей на 80–90%, свойственен несколько более широкий спектр действия по сравнению с аргакрилом, который проявляет меньшую активность в отношении одной из опухолей – аденокарциномы Акатол, ингибируя ее развитие не более чем на 55%.

Аргакрил обладает в четыре раза более высоким цитотоксическим эффектом, чем аурумакрил в отношении клеток рака молочной железы MCF-7.

На основании полученных данных можно полагать, что природа содержащегося в полимере металла оказывает влияние на чувствительность опухолевых клеток различного генеза к изучавшимся препаратам.

В этой связи уместно отметить, что ранее нами была установлена дифференциальная чувствительность различных клеточных культур опухолей человека к аурумакрилу [16].

Учитывая обнаруженный значительный цитотоксический эффект аргакрила в отношении клеток культуры MCF-7, представляется целесообразным изучить в дальнейшем действие препарата на расширенной выборке клеточных культур опухолей человека.

Рассматривая механизм действия металлополиакрилатов, отметим, что полимерные комплексы, которые содержат в своем составе ионогенные группы и наночастицы металла, способны к комплементарным конформационным превращениям и кооперативному связыванию, а также к невалентным взаимодействиям с биологическими объектами. Эти свойства определяют возможный широкий спектр фармакологической активности полимерных композитов, содержащих наночастицы благородных металлов, в том числе в качестве потенциальных лекарственных препаратов [19].

Известно, что содержащие благородные металлы полиакрилаты обладают значительной гемостатической активностью, обусловленной высокой специфичностью их взаимодействия с молекулой альбумина крови с образованием интерполимерного комплекса [19].

Эффективность взаимодействия наночастиц с макромолекулой в физиологических условиях определяется не только присутствием в полимере определенных функциональных групп, но и их реакциями с поверхностными атомами наночастиц, зависящими от природы металла в качестве

доноров электронов. Серебро и золото, как известно, имеют разные потенциалы ионизации и энергии сродства к электрону, следовательно, и разные электроотрицательности. При этом наночастицы серебра, в отличие от наночастиц золота, весьма реакционноспособны.

Экспериментальные исследования нанокompозитов на основе золота и серебра в качестве гемостатиков показали, что в условиях *in vivo* природа металлов определяет кинетическую устойчивость комплексов. Так, полимер, который содержит химически инертный атом золота, обладающего низкой аффинностью к кислороду, проявляет большую гемостатическую активность по сравнению с полимером, содержащим более реакционноспособные наночастицы серебра [19].

Ранее нами было проведено весьма детальное экспериментальное исследование полиакрилата золота (аурумакрил) в качестве потенциального противоопухолевого препарата, рассмотрены существующие представления о механизме противоопухолевого действия золотосодержащих комплексных соединений [4, 5, 9–16].

Полученные ранее и в представленной работе данные о противоопухолевом и цитогенетическом эффекте полиакрилатов золота (аурумакрил) и серебра (аргакрил), наряду с вышеизложенными соображениями о роли природы металла в биологической активности полимерных композитов, содержащих наночастицы благородных металлов, свидетельствуют о перспективности дальнейших целенаправленных исследований в указанной области.

## 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. В. Н. Бабин, Ю. А. Белоусов, В. И. Борисов и др., Изв. РАН. Сер. хим. **63** (11), 2405 (2014).
2. Д. Б. Корман, *Мишени и механизмы действия противоопухолевых препаратов* (Практическая медицина, М., 2014).
3. A. Markowska, B. Kospzak, K. Jaszczynska-Nowinka, et al., *Comtemp. Oncol.* (Pozn.) **19**, 271 (2015).
4. Д. Б. Корман, Л. А. Островская и В. А. Кузьмин, *Вопр. онкологии* **64** (6), 697 (2018).

5. Д. Б. Корман, Л. А. Островская и В. А. Кузьмин, *Биофизика* **64** (3), 552 (2019).
6. P. I. Da Silva Maia, V. M. Deflon, and U. Abram, *Future Med. Chem.* **6**, 1515 (2014)
7. C. Nardon, N. Pettenuzza, and D. Fregona, *Curr. Med. Chem.* **23**, 3374 (2016).
8. S. Nobili, E. Mini, I. Landini, et al., *Med. Res. Rev.* **30** (3), 550 (2010).
9. L. A. Ostrovskaya, M. G. Voronkov, D. B. Korman, et al., *J. Cancer Therapy* **1** (2), 59 (2010).
10. L. A. Ostrovskaya, D. B. Korman, and N. V. Bluhterova, *Biointerface Res. Appl. Chem.* **4** (4), 816 (2014).
11. М. Г. Воронков, К. А. Абзаева, Л. В. Жилицкая и др., Патент РФ № 2372091, Бюл. изобретений, № 31 (2009).
12. Л. А. Островская, М. Г. Воронков, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **59** (4), 785 (2014).
13. Л. А. Островская, Д. Б. Корман, А. К. Грехова и др., *Изв. РАН. Сер. хим.* **66** (12), 2333 (2017).
14. Л. А. Островская, А. К. Грехова, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **62** (3), 598 (2017).
15. Л. А. Островская, Д. Б. Корман, Н. В. Блюхтерова и др., *Хим. физика* **38** (12), 64 (2019).
16. Л. А. Островская, Д. Б. Корман, Н. В. Блюхтерова и др., *Рос. биотерапевтич. журн.* **19** (4), 74 (2020).
17. 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.
18. Д. Б. Корман, Е. И. Некрасова, Л. А. Островская и др., *Биофизика* **64** (6), 1138 (2019).
19. К. А. Абзаева, Л. В. Жилицкая, Г. Г. Белозерская и др., *Изв. РАН. Сер. хим.* **66** (12), 2314 (2017).

### Antitumor and Cytotoxic Effects of Polyacrilates of Noble Metals

L.A. Ostrovskaya\*, D.B. Korman\*, E.I. Nekrasova\*, N.V. Bluhterova\*, M.M. Fomina\*, V.A. Rikova\*, U.A. Hochenkova\*\*, and K.A. Abzaeva\*\*\*

\*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, 119334, Moscow, Russia

\*\*Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Kashirskoe Shosse 24, Moscow, 115478 Russia

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

In this study, we compared the antitumor and cytotoxic activities of polyacrylic acid-based two polymer compounds containing aurum (aurumacryl) and argentum (argacryl). The tested products effectively inhibit the growth of some solid tumors in mice (Lewis lung carcinoma, Acatol adenocarcinoma, Ca-755 adenocarcinoma) and exert a pronounced cytotoxic activity against human tumor cells (MCF-7 cell culture). The coefficient of the murine tumor growth inhibition varies between 55 and 90% as compared to control. The index of the cytotoxic effect,  $IC_{50}$ , is 25  $\mu\text{g/ml}$  and 100  $\mu\text{g/ml}$  for argacryl and aurumacryl, respectively. Sensitivity of animal tumor cells in vivo and human tumor cells in vitro to the tested products depends on the nature of the metal in the complex polymer compound.

*Keywords:* aurum polyacrylate (aurumacryl), argentum polyacrylate (argacryl), antitumor activity, cytotoxic effect, murine solid tumors, human tumor cell culture