

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

ПОЛОХІНА КАТЕРИНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 577.1:616-006.6-091.8

**ДНК-ЗВ'ЯЗУЮЧА ТА АНТИКАНЦЕРОГЕННА АКТИВНІСТЬ
КЛАСТЕРНИХ СПОЛУК РЕНІЮ З БІОЛОГІЧНО АКТИВНИМИ
ЛІГАНДАМИ**

03.00.04 – біохімія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Львів– 2021

Дисертацією є рукопис.

Дисертаційну роботу виконано на кафедрі біофізики та біохімії Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара та на кафедрі неорганічної хімії ДВНЗ «Український хіміко-технологічний університет» Міністерства освіти і науки України (м. Дніпро)

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Штеменко Наталія Іванівна,
ДВНЗ «Український хіміко-технологічний
університет» Міністерства освіти і науки України,
провідний науковий співробітник

Офіційні опоненти:

Стойка Ростислав Стефанович, член-кореспондент НАН України,
доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу регуляції проліферації
клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України;

Божков Анатолій Іванович, доктор біологічних наук, професор,
завідувач кафедри молекулярної біології та біотехнології Харківського
національного університету ім. В.Н. Каразіна, директор НДІ біології
Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна.

Захист відбудеться «12» травня 2021 р. о 12:00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 35.051.14 Львівського національного університету імені Івана Франка на платформі Zoom (Meeting ID: 876 0098 6497, Passcode: 833954).

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Львівського національного університету імені Івана Франка за адресою: 79005, м. Львів, вул. Драгоманова, 17.

Автореферат розісланий «7» квітня 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради К 35.051.14
кандидат біологічних наук, доцент



Бура М.В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Антиканцерогенний ефект кластерних сполук ренію, на відміну від більшості відомих цитостатиків, супроводжується антигемолітичними, гепато-, нефро-протекторними та іншими властивостями, які спричинені антирадикальними властивостями унікального почверного зв'язку між атомами ренію. Сполуки ренію з органічними лігандами привертають увагу спеціалістів різних наукових напрямків - хімії, біології, медицини, у зв'язку з унікальними властивостями цього металу щодо взаємодії з біологічними лігандами і редокс-хімії, оскільки цей метал може змінювати свою валентність від +1 до +7. Синтезовано велику кількість сполук ренію, показані їхні корисні властивості як антиканцерогенних препаратів, так і у якості діагностичних флуоресцентних речовин [Baueer, 2019], визначені значення IC_{50} для деяких сполук ренію на різних клітинних лініях. Наприклад, отримані наступні значення IC_{50} : для сполук Re(I) 0,34 - 198 μ M; для Re(V) – оксо сполук – 0,150 – 8,60 μ M; для однієї сполуки диренію(III) з алкільними лігандами з алкілкарбоксилатними лігандами - $1 \cdot 10^{-2}$ μ M [Zelenuk K., 2020].

Отже, пошук нових ефективних цитостатиків серед сполук диренію(III) є актуальною проблемою. Актуальність досліджень взаємодії потенційних антиканцерогенних сполук на основі біядерних алкілкарбоксилатів диренію(III) з різними типами ДНК та їхніх цитотосичних властивостей щодо лейкемічних клітин людини, протипухлинних властивостей відносно карциноми Герена *in vivo* було продемонстровано роботами групи проф. Штеменко Н.І. [Shtemenko, 2002-2020; Зеленюк, 2016-2020].

Останнім часом чисельні дослідження довели, що шлях до потужних антиканцерогенних властивостей металовмісних сполук є залучення у їхній склад фрагментів стероїдів, пептидів, куркуміноїдів, інших біологічно активних лігандів, що призводить до сумісного ефекту редокс-потенціалу металевого кору і координаційних (специфічних) властивостей біологічно активного ліганду [Johnstone, 2016;]. Спектральні дослідження взаємодії суперспіралізованої еукаріотичної ДНК з потенційними цитостатиками дозволяють визначити константи зв'язування сполук з ДНК і а також наявність утворення нових комплексів між нуклеотидом і досліджуваною сполукою [Shtemenko, 2015]. Кластерні сполуки ренію(III) з біологічно активними лігандами у цьому аспекті не вивчалися.

Одним із методів визначення здатності сполуки взаємодіяти з нуклеотидами різного складу є метод конкурентного комплексоутворення з олігонуклеотидами, який взагалі не застосовувався для дослідження взаємодії ДНК-ренієва сполука. Важливим здобутком нашої наукової групи є нещодавно продемонстрований факт взаємодії кластерних сполук ренію з амінокислотними лігандами з неканонічними послідовностями ДНК, оякі можуть бути присутніми у вірусних полінуклеотидах, що в умовах всесвітньої пандемії робить дослідження таких сполук своєчасними і актуальними. Дослідження цитотоксичності кластерних сполук ренію з біологічно активними лігандами на клітинах лейкемії людини і протипухлинної

активності на моделі щурів з карциномою Герена може висвітлити здатність цих сполук до подолання процесу малігнізації клітин *in vivo*. Раніше було показано, що заключення кластерної сполуки ренію з півалатним лігандом у ліпідну капсулу разом з цисплатином за формування ліпосом змішаного складу, так званих «нанобінів» призводило до посилення протипухлинного ефекту обох сполук із зниженням токсичності цисплатину [Shtemenko, 2013]. Отже, узагальнюючи усе вищевикладене, можна зробити висновок, що дослідження ДНК-зв'язуючої та антиканцерогенної активності кластерних сполук ренію з біологічно активними лігандами є актуальною біохімічною проблемою сьогодення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри біофізики та біохімії Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара у рамках держбюджетної теми «Дослідження антиоксидантних та антиканцерогенних властивостей наноліпосом та наночасток на основі кластерних сполук Ренію» (номер державної реєстрації 0110U001289, 2010-2013 рр.), згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри неорганічної хімії Українського державного хіміко-технологічного університету у рамках держбюджетної теми №43/201490 «Синтез сполук ренію з антиоксидантними і люмінесцентними властивостями та дослідження їхньої специфічної взаємодії з біологічними молекулами» (номер державної реєстрації 0120U101957, 2020-2022 рр.). Експеримент з лейкозними Т-клітинами лінії Jurkat було проведено в Інституті клітинної біології Національної академії наук України (Львів). Експерименти з олігонуклеотидами виконувалися в Університеті Фрідріх-Александр (Єрланген-Нюрнберг, Німеччина).

Мета та завдання дослідження. Мета роботи – дослідити взаємодію кластерних сполук ренію з біологічно активними лігандами з суперспіралізованою еукаріотичною ДНК, олігонуклеотидами різного складу, лейкомічними клітинами людини та їхні протипухлинні властивості у моделі канцерогенезу.

Відповідно до мети було поставлено наступні завдання:

1. Дослідити взаємодію суперспіралізованої ДНК тимусу теляти з кластерними сполуками ренію з фосфатними, адамантільними, бета-аланіновими, гамма-аміномасляними та ферулатними лігандами методами електронної спектроскопії.
2. Дослідити взаємодію кластерних сполук ренію з аденін-тимін- та гуанін-цитозин-багатими олігонуклеотидами методом конкурентного комплексоутворення та з'ясувати специфічність зв'язування з пуриновими і піримідиновими основами;
3. Дослідити цитотоксичну активність кластерної сполуки ренію(III) з бета-аланіновим лігандами і цисплатином у розчинах, ліпосомних формах та у формі змішаних ліпосом на клітинах Т-лімфобластної лейкемії людини лінії Jurkat.
4. Провести дослідження *in vivo* протипухлинної активності кластерної сполуки ренію(III) з бета-аланіновими, адамантільними лігандами і

цисплатином у розчинах, ліпосомних формах та у формі змішаних ліпосом.

Предмет дослідження – цитотоксична дія кластерних сполук диренію(III) з біологічно активними лігандами на клітини лінії Jurkat T-лімфобластній лейкемії людини та експериментальну модель карцинома Герена щурів, біохімічні зміни в крові щурів-пухлиноносіїв за канцерогенезу.

Об'єкт дослідження – ДНК тимусу теляти, олігонуклеотиди різного складу, клітини Jurkat T-лімфобластній лейкемії людини, експериментальна модель карцинома Герена на щурах, кров щурів-пухлиноносіїв у моделі канцерогенезу; кластерні сполуки диренію(III) з біологічно активними лігандами, цисплатин.

Методи дослідження – метод конкурентного комплексоутворення; спектрофотометричні, цитохімічні методи дослідження, мікроскопічні, флуоресцентні, експериментальна модель канцерогенезу (карцинома Герена), статистичні методи.

Наукова новизна одержаних результатів. Досліджено взаємодію біядерних кластерних сполук ренію з біологічно активними лігандами з ДНК і визначено їхню цитотоксичну та антиканцерогенну активність. Показано, що залучення біологічно активного ліганду до координаційної сфери диренієвого фрагменту призводить до більш інтенсивного зв'язування з еукаріотичною ДНК і олігонуклеотидами, до більш інтенсивної редокс-активації взаємодії з ДНК, ніж у сполук з алкільними лігандами. Визначено високі цитотоксичність відносно лейкемічних клітин людини і антиканцерогенну активність *in vivo* кластерної сполуки ренію з бета-аланіновими лігандами незалежно від способу введення, яка також проявила антиоксидантні і антианемічні властивості. Показана активність ліпосом, що містять два цитостатики. Доведено значну роль біологічно активного ліганду у підвищенні ДНК-зв'язуючої, цитотоксичної і антиканцерогенної активності сполук ренію.

Практичне значення одержаних результатів. Виконана робота окреслює напрямок синтезу нових антиканцерогенних речовин, який заснований на залученні біологічно активних лігандів до редокс-центру металоорганічної речовини. Практичне значення має також показана можливість залучення амінокислотних лігандів, а саме: показана висока цитотоксичність і антиканцерогенна активність сполуки ренію з бета-аланіновими лігандами разом з її водорозчинністю і стійкістю у водних розчинах відкриває перспективи для синтезу активних похідних амінокислот диренію(III) як протиракових ліків. У роботі показана ефективність використання ліпосом змішаного складу, що містять два цитостатики разом як у експериментах з лейкемічними клітинами людини, так і в моделі експериментального канцерогенезу. Практичне значення такого висновку полягає у потенційних можливостях комбінаційної терапії, коли виникає необхідність застосування декількох медичних препаратів. Виконана робота вносить певний вклад у розуміння взаємодії цитостатиків з нуклеотидами, що є внеском у розвиток біохімії, зокрема неорганічної біохімії і має практичне значення.

Біоетична експертиза. На своєму засіданні (витяг з протоколу №5 від 12 вересня 2017р.) комісія з питань біомедичної етики установи Дніпропетровський національний Університет ім. Олеся Гончара розглянула дисертаційну роботу здобувача Полохіної Катерини Володимирівни та вважає її такою, що відповідає принципам Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2000 рр.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 р.), відповідним положенням ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.) та законам України. Передбачені заходи забезпечують раціональне використання та гуманне поводження з лабораторними тваринами у відповідності до законодавства України [Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорсткого поводження» / Відомості Верховної Ради України. 2006. № 27. с. 230], правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe, Strasbourg. 1986. – 53 p.].

Особистий внесок здобувача. Дисертантка самостійно виконала та опрацювала експериментальну частину, проаналізувала та зробила статистичну обробку результатів експериментів, опрацювала літературні джерела за темою дисертаційної роботи. Обговорення отриманих результатів проведено спільно з науковим керівником, д.б.н., проф. Н. І. Штеменко.

Апробація результатів дисертації. Матеріали, викладені в дисертаційній роботі, було представлено на науково-практичних конференціях: X Український біохімічний з'їзд (Київ, 2010); четверта Всеукраїнська наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення» (Донецьк, 2010); The 1st Multidisciplinary Symposium “Molecular Oncology: From Laboratory Bench To Medicine” (Mol.Onco-2012 Symposium) (Kiev, 2012); II Міжнародна наукова конференція «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології» (Дніпро, 2013); IX Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2013); XI Український Біохімічний Конгрес (Київ, 2014); XI Всеукраїнська науково-практична конференція Біологічні дослідження-2020 (Житомир, 2020).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових робіт, з яких: 5 статей (4 статті у виданнях, які входять до переліку фахових видань України; 1 стаття у виданні, яке входить до міжнародної наукової бази Scopus) та 8 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 3 розділів, загальних висновків, переліку використаних джерел. Обсяг загального тексту дисертації складає 152 сторінок, з них основного тексту 113 сторінок. Робота ілюстрована 11 таблицями, 38 рисунками, 6 формулами. Перелік використаних джерел містить 196 найменування.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, сформульовано мету і задачі дослідження, наукову новизну та практичну цінність отриманих результатів, наведено відомості про впровадження результатів роботи, наукові публікації та особистий внесок автора.

Огляд літератури. Огляд літератури складається з чотирьох підрозділів, у яких розглянуто сучасні погляди на взаємодія біядерних алкілкарбоксилатів ренію(III) з різними видами ДНК; біологічно активні ліганди як важливий фактор антиканцерогенних властивостей металоорганічних сполук; застосування олігонуклеотидів у практиці і в сучасних наукових дослідженнях; Біологічна активність металоорганічних сполук цис- і транс-конфігурації.

Матеріали та методи дослідження. Кластерні сполуки ренію(III) з органічними лігандами, цисплатин, наноліпосоми було синтезовано на кафедрі неорганічної хімії УДХТУ (м. Дніпро) (Golichenko 2006, 2015; Shtemenko N.I. 2009, 2015). У роботі використовували наступні біядерні кластерні сполуки ренію(III): $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$ – дихлоро- μ -тетраізобутиратодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$); $\text{cis-Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{DMCO}$ – біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди- μ -ізобутиратодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{cisisobut}}$); $\text{trans-Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{DMCO}$ – біс-диметилсульфоксид-транс-тетрахлороди- μ -ізобутиратодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{transisobut}}$); $\text{cis-Re}_2((\text{CH}_3)_3\text{CCOO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{DMCO}$ – біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди- μ -півалатодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{cispival}}$); $\text{trans-Re}_2((\text{CH}_3)_3\text{CCOO})_2\text{Cl}_4$ – транс-тетрахлороди- μ -півалатодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{transpival}}$); $\text{cis-Re}_2(\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{COO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{DMCO}$ – біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди- μ -адамантилкарбоксилатодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{cis-Adam}}$); $\text{trans-Re}_2(\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{COO})_2\text{Cl}_4$ – транс-тетрахлороди- μ -адамантилкарбоксилатодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{trans-Adam}}$); $\text{cis-Re}_2(\text{Fer})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{DMCO}$, ($\text{Fer} - \text{НОС}_6\text{H}_3(\text{ОН}_3)\text{СН}=\text{СНСО}_2\text{H}$ – ферулова кислота) біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди- μ -ферулатодиреній(III) (Re_{Ferul}); $\text{cis-[Re}_2\{\beta\text{-AlaH}\}_2\text{Cl}_6]$ - цис-гексахлороди- μ -3-амінопропаноатодиреній(III), ($\text{Re}_{\text{cis-}\beta\text{Ala}}$); $\text{cis-[Re}_2(\text{GABA})_2\text{Cl}_5(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}$ - цис-аквапентахлороди- μ -4-амінобутаноатодиреній(III) хлорид, ($\text{Re}_{\text{cis-GABA}}$); $\text{K}_2[\text{Re}_2(\text{HPO}_4)_4(\text{H}_2\text{O})_2]$ - калій діакватетра- μ -гідрогенфосфатодиренат(III) ($\text{Re}_{\text{tetraphosph}}$). Електронні спектри поглинання суперспіралізованої ДНК тимусу теляти («Sigma-Aldrich», США) вимірювали за допомогою спектрофотометра в робочому діапазоні довжини хвилі від 220 нм до 400 нм (Jakures, 2008). Зміни у в'язкості ДНК за присутності диренієвих сполук визначали за допомогою віскозиметра (Aguíte 2009). Метод конкурентного комплексоутворення з пропідію йодидом для визначення інтенсивності взаємодії кластерних сполук ренію з лігандами різного структурного типу з олігонуклеотидами різного складу (аденін-тимін та гуанін-цитозин збагаченими оліконуклеотидами) був проведений згідно з [Jadhav, 2008] з деякими модифікаціями. Два типи олігонуклеотидів: DNA (GC = 30%) (довжина 20 нуклеотидів, $M_r = 6069$ г/моль) послідовність 5'-3' «ATTCCTTATCTCTAAGGAAT» та DNA (GC = 10%) (довжина 20 нуклеотидів, $M_r = 6068$ г/моль) послідовність 5'-3'

«АТГААТТАТСТСТААТТААТ» були отримані від Sigma-Aldrich, USA; використовувався пропідію іодид виробництва Sigma-Aldrich, USA. Дослідження цитотоксичності ренієвих сполук стосовно лейкоцичних клітин людини проводили згідно (Lehka, 2015; Panchuk 2014; Ramakrishnan 2016). Лейкемічні клітини Jurkat отримані із спеціалізованої колекції клітинних ліній та клонів Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України (Київ). Експеримент з вивчення протипухлинної активності сполук ренію(III) проводили на щурах лінії Wistar масою 100-150 г. у стандартних умовах віварію. Пухлинний ріст моделювали шляхом трансплантації щурам 20%-ї суспензії клітин карциноми Герена (Т8) у фізіологічному розчині (Shtemenko N.I., 2013). Донорами ракових клітин були пухлиноносії, придбані в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України безпосередньо перед трансплантацією. На 21 день після трансплантації пухлини проводили декапітацію щурів під етерним наркозом. Терапевтичний ефект сполук у щурів визначали за об'ємом пухлини та ступенем її гальмування. Мазки крові готували цитохімічним методом за Романовським-Гімзе та проводили мікроскопічне дослідження, гематокрит визначали методом мікроцентрифугування за загальноприйнятими методами. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми "Microsoft Excel". Використовуючи t-критерій Ст'юдента. Вірогідним вважали результати, якщо $P < 0,05$ (Лакин Г.Ф., 1990).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Взаємодія кластерних сполук ренію з біологічно активними лігандами з нативною ДНК тимусу теляти. На рис. 1. зображено електронні спектри поглинання (ЕСП) ДНК тимусу теляти після додавання $Re_{cis-Adam}$ та $Re_{trans-Adam}$.

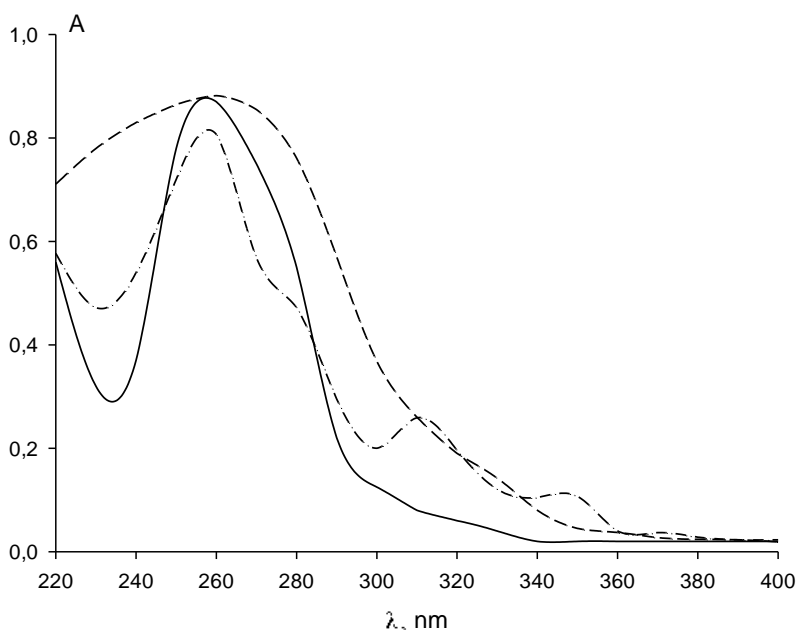


Рис. 1. Електронні спектри поглинання СТ-ДНК при додаванні $Re_{cis-Adam}$ (—), $Re_{trans-Adam}$ (- · - ·) і Re_{Ferul} (---), співвідношення концентрацій ДНК-сполука Ренію 1:1680.

Відомо, що поглинання у ділянці 260 нм викликане порушенням водневих зв'язків і стекінгових взаємодій між комплементарними ланцюгами. Розраховано константи зв'язування з ДНК (табл. 1), які у десятки разів перевищують константи зв'язування з ДНК для біядерних алкілкарбоксилатів ренію(III) [Парамонова, 2016].

Таблиця 1

Константи зв'язування досліджуваних сполук ренію з СТ-ДНК (M^{-1} ; $M \pm m$; $n=5$)

Кластерні сполуки ренію	$Re_{\text{tetraphosph}}$	$Re_{\text{cis-Adam}}$	$Re_{\text{trans-Adam}}$	Re_{Ferul}
K_b, M^{-1}	$2,702 \times 10^3$	$1,993 \times 10^3$	$1,583 \times 10^3$	$1,041 \times 10^3$

Важливо також відмітити нові піки поглинання, які з'являються у довгохвильовій ділянці, при високих концентраціях комплексів Ренію $Re_{\text{trans-Adam}}$ і Re_{Ferul} (табл.2., рис. 1.), які є наслідком поглинання нових адуктів СТ-ДНК- $Re_{\text{trans-Adam}}$, СТ-ДНК- Re_{Ferul} , що додатково підтверджує можливість взаємодій ДНК-сполука ренію із залученням структури біологічно активного ліганду. На рис. 2. показано залежність інтенсивності поглинання при 260 нм при титруванні Re_{Ferul} , за присутності гідрогенпероксиду і разом.

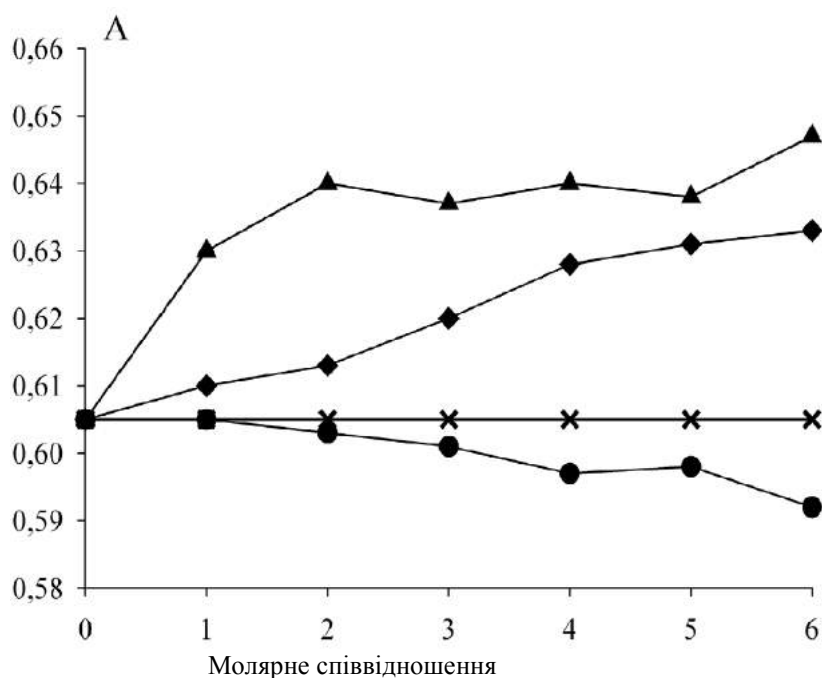


Рис. 2. Інтенсивність поглинання (A) у ділянці 260 нм СТ-ДНК (x); СТ-ДНК + Re_{Ferul} (●); СТ-ДНК + H_2O_2 (◆); СТ-ДНК + H_2O_2 + Re_{Ferul} (▲). Співвідношення молярних концентрацій ДНК-гідрогенпероксид і ДНК – Re_{Ferul} : 1 – 1:84; 2 – 1:168; 3 – 1:252; 4 – 1:420; 5 – 1:840; 6 – 1:1680.

Константа зв'язування зростає при цьому в кілька разів (з $K_b(\text{Re}_{\text{Ferul}})=1,04 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ до $K_b(\text{Re}_{\text{Ferul} + \text{cisPt}})=12,36 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$). Це підтверджує наявність окисно-відновного, або хімічного каталізу в системі, наприклад, гідроген пероксид – сполука ренію – ДНК, який призводить до значного порушення просторової структури біомолекули.

Взаємодія кластерних сполук ренію з біологічно активними лігандами з олігонуклеотидами. На рис. 3 показана інтенсивність взаємодії досліджувальних сполук ренію та цисплатину з різними типами олігонуклеодидів, що визначалася методом конкурентного комплексоутворення. Кластерні сполуки ренію(III) з біологічно активними лігандами органічної природи зв'язуються у середньому сильніше (на 10-15%) з аденін-тимін- та гуанін-цитозин-багатими олігонуклеотидами, ніж біядерні алкілкарбоксилати ренію та з меншою специфічністю відносно пуринових і піримідинових основ, ніж цисплатин.

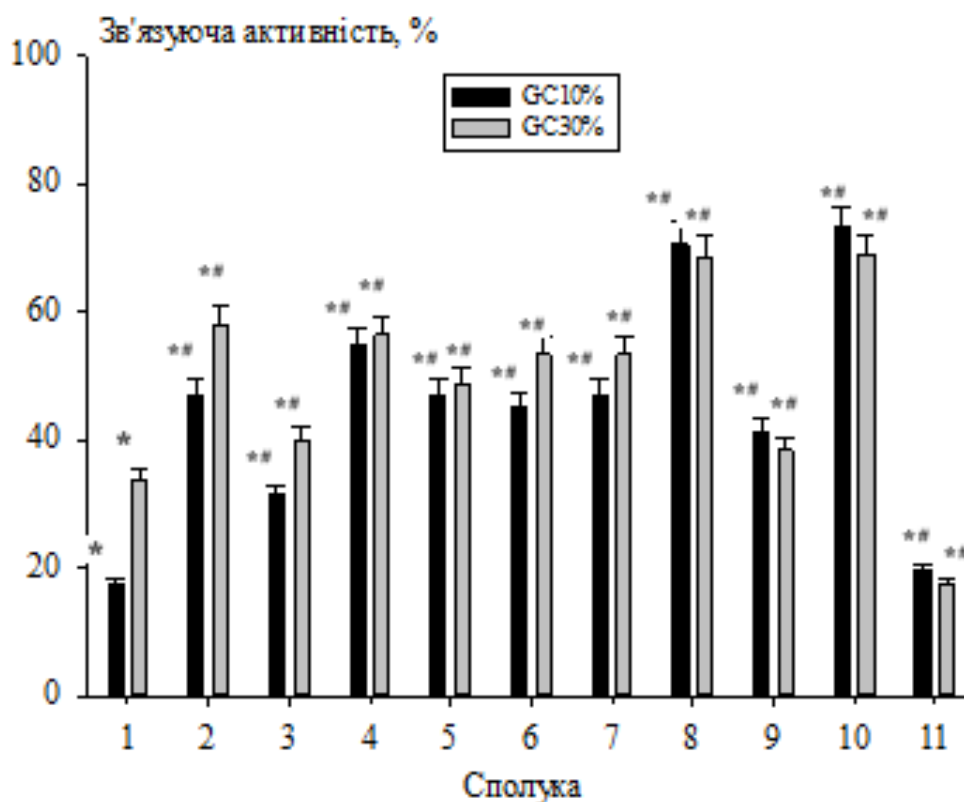


Рис. 3. Зв'язуюча активність цисплатину і кластерних сполук ренію(III) з олігонуклеотидами. 1 - cisPt; 2 - $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$; 3 - $\text{Re}_{\text{cisisobut}}$; 4 - $\text{Re}_{\text{transisobut}}$; 5 - $\text{Re}_{\text{cisipival}}$; 6 - $\text{Re}_{\text{tranpival}}$; 7 - $\text{Re}_{\text{cisAdam}}$; 8 - $\text{Re}_{\text{transAdam}}$; 9 - $\text{Re}_{\text{cis-}\beta\text{-Ala}}$; 10 - $\text{Re}_{\text{cis-GABA}}$; 11 - $\text{Re}_{\text{tetraphosp}}$. * – $P < 0,05$, порівняно з контрольною групою; # – $P < 0,05$, порівняно з групою cisPt.

Інтенсивність зв'язування сполук ренію залежить від структури лігандів і досягає 73,2% , що робить сполуки ренію з біологічно активними лігандами перспективними стабілізаторами олігонуклеотидів різного складу.
Дослідження цитотоксичності кластерної сполуки ренію з β -аланіновими лігандами. Цитотоксична активність кластерної сполуки ренію з бета-

аланіновими лігандами у розчинах і наноліпосомах окремо та разом з цисплатином на лейкозних Т-клітинах лінії Jurkat представлені на рис. 4.

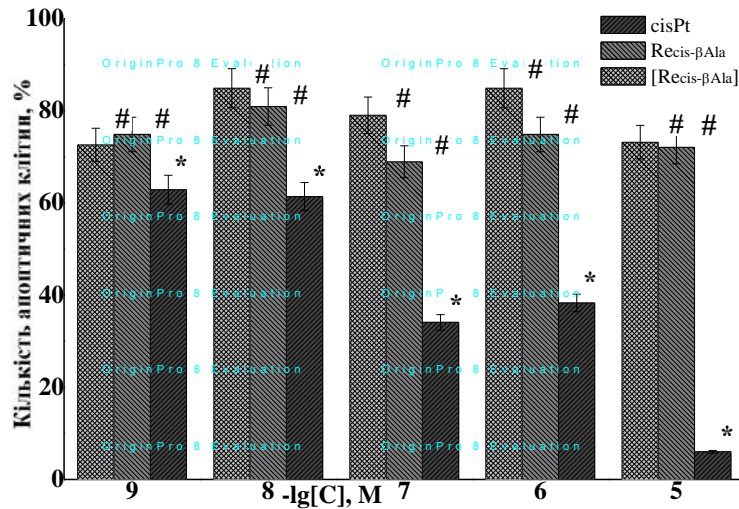


Рисунок. 4. Цитотоксична активність протипухлинної системи реній-платина на основі $Re_{cis-\beta Ala}$. * – $P < 0,05$, порівняно з контрольною групою; # – $P < 0,05$, порівняно з групою *cisPt*.

Значення IC_{50} для $Re_{cis-\beta Ala}$ близьку до цисплатину ($1,92 \cdot 10^{-6}$ та $2,06 \cdot 10^{-6}$ відповідно). Показано, що введення системи реній-платина в ліпосомній формі призводило до більшого цитотоксичного ефекту порівняно з цисплатином. Введення нанобінів (ліпосоми, де $Re_{cis-\beta Ala}$ і цисплатин знаходяться разом) було у 26 разів ефективнішим, ніж введення окремих $Re_{cis-\beta Ala}$ і цисплатину.

Дослідження антиканцерогенної, ДНК-зв'язуючої та антиоксидантної активності кластерної сполуки ренію з β -аланіновими лігандами. Значний ефект пригнічення пухлин спостерігався у групах T8 + $[Re_{cis-\beta Ala}]$ та T8 + $[Re_{cis-\beta Ala}]$ + cisPt, де цисплатин та $Re_{cis-\beta Ala}$ були введені разом (рис. 5).

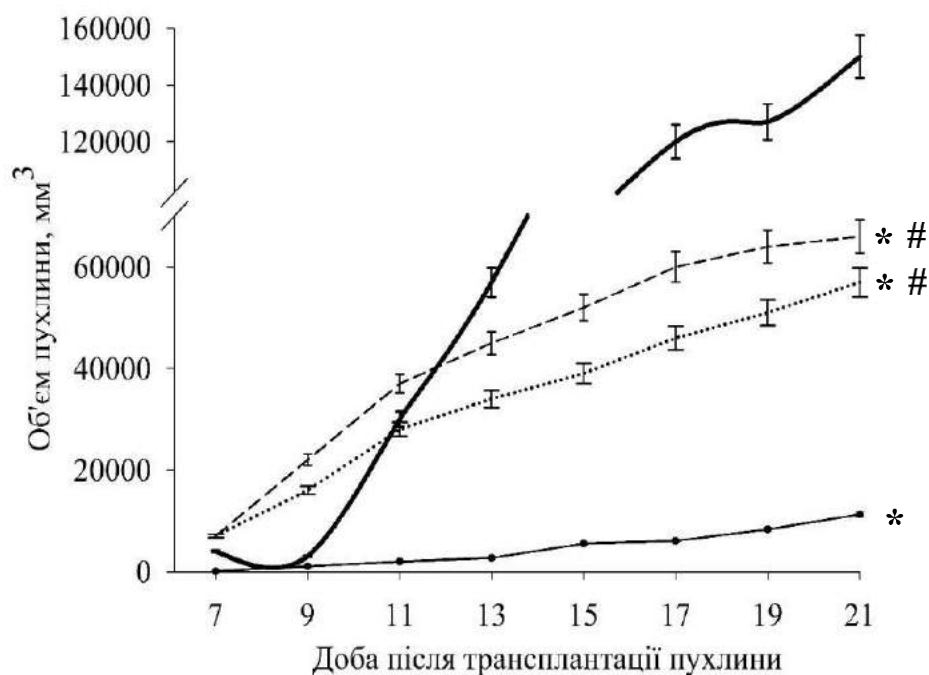


Рис. 5. Динаміка контрольного росту пухлини (— T8); під впливом введення цисплатину (--- T8+cisPt); cisPt у ліпосомній формі (···· T8+[Re_{cis-β}Ala]); та у водному розчині (-.-.- T8+ Re_{cis-β}Ala). * – $P < 0,05$, порівняно з групою T8; # – $P < 0,05$, порівняно з групою T8+cisPt.

Не було виявлено значних відмінностей між введенням ліпосомної та вільної форми Recis-βAla як у протипухлинних, так і у антиоксидантних і антианемічних властивостях, що ще раз демонструє можливість застосування похідних амінокислот кластерів диренію(III) у протипухлинній терапії без застосування ліпосомної технології.

Дослідження антиканцерогенних властивостей цис- і транс-діадамантилкарбоксилатів диренію(III). Цис- і транс-сполуки диренію(III) Re_{cis-Adam} та Re_{trans-Adam} мали близьку протипухлинну активність *in vivo*. (рис. 6), на відміну від інших пар цис- і транс- сполук диренію, що підкреслює роль біологічного ліганду і робить перспективним пошук активних сполук у ряду транс-ізомерів.

Введення досліджених речовин разом із цисплатином у вигляді бінарних ліпосом призводило до практично повного зникнення ракових клітин у експериментальних тварин. Введення Recis-βAla, Recis-Adam, Retrans-Adam у різних формах відбувається значне зниження інтенсивності перекисного окиснення ліпідів і підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту в еритроцитах піддослідних тварин у порівнянні як із групою пухлиноносіїв, так і в порівнянні із групою, де вводився цисплатин. Отже, означені кластерні сполуки ренію з біологічно активними лігандами зберігають антиоксидантну активність, притаманну кластерним сполукам ренію(III) з почверним зв'язком.

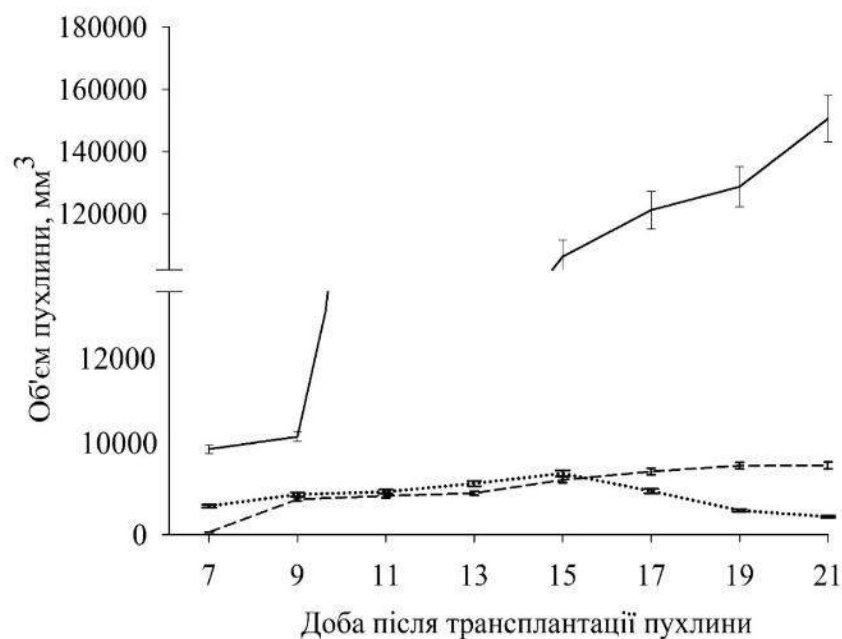


Рис. 6. Динаміка росту пухлини: контроль (— T8); після введення $Re_{cis-Adam}$ та $Re_{trans-Adam}$ у ліпосомній формі (·····T8+[$Re_{cis-Adam}$]); та (--- T8+[$Re_{trans-Adam}$]) відповідно. * – $P < 0,05$, порівняно з контрольною групою (T8);

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вперше досліджено та експериментально обґрунтовано ДНК-зв'язуючу та антиканцерогенну активність кластерних сполук ренію з біологічно активними лігандами:

1. Вперше досліджено взаємодію ДНК тимусу теляти з кластерними сполуками ренію з фосфатними, адамантільними та ферулатними лігандами та показано, що гіперхромний ефект у області 260 нм ДНК набагато перевищує такий, показаний для біядерних алкілкарбоксилатів ренію(III); показано утворення комплексів ДНК-ліганд у довгохвильовій області спектру, яке обумовлене взаємодією π -електронних хмар нуклеїнових основ і біологічно активних лігандів.

2. Показано залежність механізму взаємодії ренієвих сполук і ДНК від наявності у розчинах перекису водню та цисплатину та показана значна роль біологічно активних лігандів у взаємодіях ДНК-кластер ренію, яка полягає у значному перевищенні значень констант зв'язування (до 12 разів з $K_b(Re_{Ferul}) = 1,04 \times 10^3 M^{-1}$ до $K_b(Re_{Ferul} + cisPt) = 12,36 \times 10^3 M^{-1}$) у порівнянні із значеннями для біядерних алкілкарбоксилатів диренію(III).

3. Використання методу конкурентного комплексоутворення дозволило встановити, що кластерні сполуки ренію(III) різних структурних типів здатні взаємодіяти з олігонуклеотидами з інтенсивністю, яка перевищує інтенсивність зв'язування цисплатину, залежить від структури лігандів і досягає 73,2% та з має іншу специфічність щодо взаємодії з аденіновими і гуаніновими нуклеїновими основами.

4. Доведено, що біядерні кластерні сполуки ренію(III) з біологічно активними лігандами органічної природи зв'язуються у середньому сильніше

(на 10-15%) з аденін-тимін- та гуанін-цитозин-багатими олігонуклеотидами, ніж біядерні алкілкарбоксилати ренію та з меншою специфічністю відносно пуринових і піримідинових основ у порівнянні з цисплатином.

5. Показано, що цитотоксична активність кластерної сполуки ренію з бета-аланіновими лігандами у розчинах і наноліпосомах окремо та разом з цисплатином, також ліпосом, що містять всередині обидва цитостатика на лейкозних Т-клітинах лінії Jurkat близькі за значенням до такої цисплатину і складають $2,06 \cdot 10^{-6}M$, $1,98 \cdot 10^{-6}M$, $1,29 \cdot 10^{-8}M$, $4,93 \cdot 10^{-10}M$ відповідно.

6. З'ясовано, що кластерна сполука ренію з бета-аланіновими лігандами незалежно від способу введення *in vivo* володіє протипухлинними (пригнічення динаміки росту пухлини під впливом сполуки у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв), антиоксидантними (зниження інтенсивності перекисного окиснення ліпідів і підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту в еритроцитах піддослідних тварин у порівнянні із групою пухлиноносіїв) і антианемічними (сприяє нормалізації системи червоної крові, про що свідчить підвищення концентрації гемоглобіну, підтримка гематокриту на рівні контрольних значень, а також нормалізація морфологічної картини червонокрівців у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв) властивостями;

7. Показана активність кластерної сполуки ренію з бета-аланіновими лігандами у водних розчинах, що робить можливим, на відміну від водонерозчинних алкілкарбоксилатів, застосування її без ліпосомної технології.

8. Показано практично однакову протипухлинну активність *in vivo* двох адамантилдикарбоксилатів диренію(III) з *цис*- та *транс*- конфігурацією, що відрізняє від раніше отриманих даних для *цис*- та *транс*- алкілкарбоксилатів; зроблено припущення про можливі додаткові позитивні протипухлинні механізми притаманні сполукам з *транс*-конфігурацією біологічно активних лігандів навколо кластерного фрагменту реній-реній.

ПЕРЕЛІК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові статті у міжнародних та фахових виданнях України:

1. **Полохіна К.**, Голіченко О., Бабій С., Джуманіязова О., Штеменко О., Штеменко Н. Вивчення взаємодії між кластерними сполуками ренію з біологічно активними лігандами та суперспіралізованою ДНК методом електронної спектроскопії // Вісник Львівського університету. Сер. біологічна. – 2016. – Вип. 72 – С. 15-24. (Дисертантом проведено експеримент, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання рукопису статті).

2. **Polokhina K. V.**, Kytova D. E., Shtemenko A. V., Shtemenko N. I. Cytotoxic activity of the cluster rhenium compound with β -alanine ligands// Ukr. Biochem. J. – 2020. - Vol. 92, N 1. - P.13-19. *(Дисертантом проведено експеримент, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання рукопису статті).*

3. **Polokhina K.V.**, Golichenko O.A., Shtemenko O.V., Shtemenko N.I. Interaction of rhenium(III) cluster compounds with oligonucleotides of different composition// Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – Вип. 1(155) – Стор. 72 – 75. *(Дисертантом проведено експеримент, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання рукопису статті).*

4. **Polokhina K.**, Babiу S., Golichenko A., Shtemenko N. Dirhenium(III) complex with beta-alanine ligands: anticancer, antioxidant and DNA-binding properties// Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series “Biology”, issue 34, 2020, P. 35 -42. *(Дисертантом проведено експеримент, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання рукопису статті).*

5. Shtemenko Natalia, **Polokhina Katerina**, Golichenko Alexander, Babiу Svetlana, Shtemenko Alexander Anticancer properties of cis- and trans-diadamantathylcarboxylates of dirhenium(III) compounds // Scientific Journal «ScienceRise:Biological Science». – 2020 - No4(25). – P.8–12. *(Дисертантом проведено експеримент, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання рукопису статті).*

Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях) за темою дисертації:

6. Денисов Е. М., Єгорова Д. Є., Кононова Г. С., **Полохіна К. В.**, Штеменко Н.І. Вірогідні механізми взаємодії кластерів Re (III) із ДНК // Матеріали X Українського біохімічного з'їзду . – Український біохімічний журнал. – 2010. - Т. 82, № 4 (додаток 2).- С. 147. *(Дисертантом проведено частину експерименту, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання рукопису тез).*

7. **Полохіна К. В.**, Парамонова К. В., Штеменко Н.І. Вивчення антипроліферативної дії наночасток навантажених протипухлинною

системою реній-платина// Тези четвертої Всеукраїнської наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення». - 16-18 березня 2010 р. – Донецьк.- с. 269. *(Дисертантом проведено частину експерименту, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання тез).*

8. **Polokhina K.,** Babiy S., Shtemenko N. Investigation of DNA with dirhenium adamantate complexes // The 1st Multidisciplinary Symposium “Molecular Oncology: From Laboratory Bench To Medicine” (Mol.Onco-2012 Symposium), Kiev – 2012 *(Дисертантом проведено частину експерименту, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання тез).*

9. **Полохіна К.,** Лісова М., Штеменко Н. Вивчення взаємодії кластерної сполуки Ренію з ДНК при різних редокс-статутах// II Міжнародна наукова конференція «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології» (м. Дніпропетровськ, 23-24 вересня 2013 р.) – с.72. *(Дисертантом проведено частину експерименту, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання тез).*

10. Зубова З., **Полохіна К.,** Штеменко Н. Вивчення взаємодії кластерної сполуки ренію з ДНК шляхом віскозиметрії // IX Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (м. Львів, 15-19 квітня 2013р.) – с.54. *(Дисертантом проведено частину експерименту, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання тез).*

11. Лісова М., **Полохіна К.,** Штеменко Н. Вивчення взаємодії кластерної сполуки ренію з ДНК у присутності пероксиду водню та меркаптоетанолу // IX Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (м. Львів, 15-19 квітня 2013р.) – с.65. *(Дисертантом проведено частину експерименту, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання тез).*

12. **Полохіна К.В.,** Голіченко О.А., Бабій С.О., Штеменко О.В. , Штеменко Н.І. Вивчення протипухлинної активності кластерної сполуки ренію з ферулатними лігандами // Ukrainian Biochemical Journal. – 2014. – V. 86, N 5 (Suppl. 1). Матеріали XI Українського Біохімічного Конгресу, 6-10 жовтня 2014, Київ – Р. 195. *(Дисертантом проведено частину експерименту, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання тез).*

13. **Полохіна К.В.**, Голіченко О.А., Штеменко Н.І., Штеменко О.В. Взаємодія кластерних сполук ренію з олігонуклеотидами // XI Всеукраїнська науково-практична конференція Біологічні дослідження-2020. – 2020. – Житомир – Р. 277-279. (*Дисертантом проведено частину експерименту, здійснено біохімічні виміри та проведено статистичну обробку даних; разом з науковим керівником проведено обговорення результатів та здійснено написання тез*).

АНОТАЦІЯ

Полохіна К. В. ДНК-зв'язуюча та антиканцерогенна активність кластерних сполук ренію з біологічно активними лігандами. – Кваліфікаційна наукова робота на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. – Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, 2021.

Уперше досліджено взаємодію ДНК тимусу теляти (СТ ДНК) з кластерними сполуками ренію з фосфатними, адамантильними та ферулатними лігандами методом електронної спектроскопії. При спектрофотометричному титруванні СТ-ДНК сполуками диренію $Re_{tetraphosph}$, $Re_{cis-Adam}$, $Re_{trans-Adam}$, Re_{Ferul} спостерігали, що гіперхромний ефект у області 260 нм ДНК набагато перевищує такий, показаний для біядерних алкілкарбоксилатів ренію(III). Уперше показано утворення комплексів ДНК-ліганд у довгохвильовій області спектру, яке обумовлене взаємодією π -електронних хмар нуклеїнових основ і біологічно активних лігандів. Проведене вперше спектрофотометричне титрування сполук ренію за присутності цисплатину і отримані константи зв'язування, які перевищують значення основних констант, особливо для Re_{Ferul} (практично у 12 разів). Вперше методом конкурентного комплексоутворення з пропідію іодидом показано, що кластерні сполуки ренію(III) різних структурних типів здатні взаємодіяти з олігонуклеотидами з інтенсивністю, яка перевищує інтенсивність зв'язування цисплатину в залежності від структури лігандів і досягає 73,2%. Показано, що механізм зв'язування комплексних сполук ренію(III) з олігонуклеотидами відрізняється від механізму зв'язування цисплатину щодо специфічності взаємодії з аденіновими і гуаніновими нуклеїновими основами, що може пояснити синергетичний або адитивний протипухлинний ефект введення ренієвих сполук і цисплатину. Вперше досліджено цитотоксичну активність нової кластерної сполуки Ренію з бета-аланіновими лігандами $[Re_2Cl_6(C_3H_7NO_2)_2] \cdot 1.5H_2O$ ($Re_{cis-\beta Ala}$) у розчинах і наноліпосомах окремо та разом з цисплатином на лейкозних Т-клітинах лінії Jurkat. Показано, що у розчині $Re_{cis-\beta Ala}$ має цитотоксичність, що близька за значенням IC_{50} до цисплатину ($IC_{50} = 2,06 \cdot 10^{-6}$ М). Введення системи реній-платина з $Re_{cis-\beta Ala}$ показало ще більшу цитотоксичність щодо клітин, особливо високу, коли

обидва компоненти системи знаходилися у формі змішаних ліпосом ($IC_{50} = 4,93 \cdot 10^{-10}$ M). Показано, що за присутності $Re_{cis-\beta Ala}$ за різних способів введення, навіть за значних (некротичних) концентрацій цисплатину, переважає апоптотичний шлях загибелі лейкозних Т-клітин лінії Jurkat, що дуже важливо для терапевтичних заходів та побічних ефектів, оскільки некроз активує запалення та імунну відповідь, яка не властива апоптозу. Досліджено антиканцерогенні, ДНК-зв'язуюча та антиоксидантна активності кластерної сполуки ренію з β -аланіновими лігандами. Введення як розчину, так і ліпосомної форми сполуки диренію $Re_{cis-\beta Ala}$ призвело до зменшення маси пухлини практично однаково, що дає можливість використовувати стійкі у воді сполуки диренію у експериментальних роботах і практиці. З'ясовано, що новосинтезована кластерна сполука ренію $Re_{cis-\beta Ala}$ незалежно від способу введення володіє антиоксидантними і антианемічними властивостями *in vivo*, стабілізуючи показники червоної крові, як було притаманно іншим кластерним сполукам ренію(III). В цілому, з'ясування антиканцерогенних, ДНК-зв'язуючих та антиоксидантних властивостей таких сполук, відкриває нові, більш широкі перспективи для впровадження похідних амінокислот кластерних сполук ренію(III) у медичну практику. Досліджено протипухлинну активність двох дикарбоксилатів диренію(III) з лігандами 1-адамтанкарбонової кислоти з *цис*- та *транс*-орієнтацією карбоксильних груп навколо кластерного фрагмента *цис*- і *транс*-диадамтанатів диренію окремо і разом з цисплатином *in vivo*, яка виявилася практично однаковою за ефективністю з невеликою перевагою для *цис*-аналогу *in vivo*; зроблена спроба пояснення відмінностей у можливому механізмі протипухлинної активності речовин із врахуванням антирадикальних і ДНК-зв'язуючих властивостей досліджуваних сполук.

Ключові слова: кластерні сполуки диренію (III), біологічно активні ліганди, цисплатин, модель пухлинного росту, ДНК тимуса теляти, олігонуклеотиди, проліки, антирадикальна активність, бета-аланін, адамтанкарбонова кислота.

АНОТАЦІЯ

Полохина К. В. ДНК-связывающая и антиканцерогенная активность кластерных соединений рения с биологически активными лигандами – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук (доктор философии) по специальности 03.00.04 (биохимия) – Львовский национальный университет имени Ивана Франка, Львов, 2021.

Впервые исследовано взаимодействие ДНК тимуса теленка (СТ-ДНК) с кластерными соединениями рения с фосфатными, адамантильными и

ферулатными лигандами методом электронной спектроскопии. При спектрофотометрических титрованиях СТ-ДНК соединениями дирения $\text{Re}_{\text{tetraphosph}}$, $\text{Re}_{\text{cis-Adam}}$, $\text{Re}_{\text{trans-Adam}}$, Re_{Ferul} наблюдали, что гиперхромный эффект в области 260 нм ДНК намного превышает таковой, что был показан для биядерных алкилкарбоксилатов рения (III). Впервые проведено спектрофотометрическое титрование соединений рения в присутствии цисплатина и полученные константы связывания, которые превышают значения основных констант, особенно для Re_{Ferul} (практически в 12 раз). Впервые методом конкурентного комплексообразования с пропидий йодидом показано, что кластерные соединения рения (III) различных структурных типов способны взаимодействовать с олигонуклеотидами с интенсивностью, превышающей интенсивность связывания цисплатина в зависимости от структуры лигандов и эта интенсивность достигает 73,2%. Высокая растворимость и стабильность вещества в водных растворах, в отличие от алкилкарбоксилатов, позволяет использовать $\text{Re}_{\text{cis-}\beta\text{Ala}}$ в виде раствора. Введение соединения дирения $\text{Re}_{\text{cis-}\beta\text{Ala}}$ как в виде раствора, так и в липосомной форме привело к практически одинаковому уменьшению массы опухоли, что дает возможность использовать устойчивые в воде соединения дирения в экспериментальных работах и практике. В целом, установление антиканцерогенных, ДНК-связывающих и антиоксидантных свойств таких соединений, открывает новые, более широкие перспективы для внедрения производных аминокислот кластерных соединений рения (III) в медицинскую практику. Исследована противоопухолевую активность двух дикарбоксилат дирению (III) с лигандами 1-адамантанкарбоновой кислоты с цис- и транс- ориентацией карбоксильных групп вокруг кластерного фрагмента цис- и транс-диадамантантив дирению отдельно и вместе с цисплатином *in vivo*, которая оказалась практически одинаковой по эффективности с небольшим преимуществом для цис-аналога *in vivo*; предпринята попытка объяснения различий в возможном механизме противоопухолевой активности веществ с учетом антирадикальных и ДНК-связывающих свойств исследуемых соединений.

Ключевые слова: кластерные соединения дирения (III), биологически активные лиганды, цисплатин, модель опухолевого роста, ДНК тимуса теленка, олигонуклеотиды, пролекарства, антирадикальная активность, бета-аланин, адамантанкарбоновая кислота.

SUMMARY

Polokhina K. V. DNA-binding and anticancer activity of rhenium cluster compounds with biologically active ligands. - Qualifying scientific work on the rights of the paper manuscript.

The dissertation for Candidate's of Biological Sciences (Doctor of Philosophy) degree by speciality: 03.00.04 - biochemistry (Biological sciences). Ivan Franko Lviv National University, Lviv, 2021.

The interaction of calf thymus DNA (ST DNA) with the cluster rhenium compounds with phosphate, adamantyl and ferrulate ligands was studied by the electron spectroscopy for the first time. During the spectrophotometric titration of CT-DNA with the compounds of direnium $\text{Re}_{\text{tetraphosph}}$, $\text{Re}_{\text{cis-Adam}}$, $\text{Re}_{\text{trans-Adam}}$, Re_{Ferul} , the hyperchromic effect in the region of 260 nm of DNA was observed, it is much higher than that shown for binuclear alkyl carboxylates of rhenium (III). The DNA-ligand complexes formation in the long-wavelength region of the spectrum, which is due to the interaction of π -electron clouds of nucleic bases and biologically active ligands, was shown for the first time. The dependence of the interaction mechanism of rhenium compounds and DNA in the presence of hydrogen peroxide and cisplatin in solutions was shown. Spectrophotometric titration of rhenium compounds in the presence of cisplatin was performed for the first time and binding constants were obtained. These constants exceed the values of the basic constants, especially for Re_{Ferul} (almost 12 times). For the first time, the method of competitive complexation with propidium iodide showed that cluster rhenium (III) compounds of different structural types are able to interact with oligonucleotides with the intensity which exceeding the intensity of cisplatin binding, depending on the structure of the ligands, the intensity of the interaction reaches 73.2%. The cytotoxic activity of a new cluster compound of rhenium with beta-alanine ligands $[\text{Re}_2\text{Cl}_6(\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2)_2] \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Re}_{\text{cis-}\beta\text{Ala}}$) in solutions and nanoliposomes separately and together with cisplatin on leukemic T-cells of the Jurkat line was studied for the first time. It is shown, that $\text{Re}_{\text{cis-}\beta\text{Ala}}$ solution has a cytotoxicity close to the IC_{50} value to cisplatin ($\text{IC}_{50} = 2,06 \cdot 10^{-6}$ M). The administration of the rhenium-platinum system with $\text{Re}_{\text{cis-}\beta\text{Ala}}$ showed even greater cytotoxicity against cells, especially high when both components of the system were in the form of mixed liposomes ($\text{IC}_{50} = 4,93 \cdot 10^{-10}$ M). Loaded with both cytostatics liposomes (nanobins) were used in experiments with cancer cell culture first time and showed high efficacy. It is shown that in the presence of $\text{Re}_{\text{cis-}\beta\text{Ala}}$ by different methods of administration, even at significant (necrotic) concentrations of cisplatin, the apoptotic pathway of leukemic T-cells of the Jurkat line death are predominates. This is very important for therapeutic measures and side effects, as necrosis activates inflammation and the immune response, which is not inherent in apoptosis. The anticancer, DNA-binding and antioxidant activities of the rhenium cluster compound with β -alanine ligands have been studied.. The high solubility and stability of the substance in aqueous solutions, in contrast to alkylcarboxylates, revealed the effect of its aqueous solution and the rhenium-platinum system based on it on the growth of Guerin's carcinoma without the use of liposomes. The introduction of both the solution and the liposomal form of the compound direnium $\text{Re}_{\text{cis-}\beta\text{Ala}}$ led to a decrease in tumor mass almost equally, which makes it possible to use water-resistant compounds of direnium in experimental work and practice. It was found that the newly synthesized cluster compound of rhenium $\text{Re}_{\text{cis-}\beta\text{Ala}}$, regardless of the method of administration has antioxidant and antianemic properties *in vivo*, stabilizing a red blood cell counts, as was the case with other rhenium (III) cluster compounds. In general, elucidation of the anticancer, DNA-binding, and antioxidant properties

of such compounds opens up new, broader prospects for the introduction of amino acid derivatives of rhenium (III) cluster compounds into medical practice. The antitumor activity of two rhenium (III) dicarboxylates with 1-adamantanecarboxylic acid ligands, with cis- and trans-orientation of carboxyl groups around the cluster fragment of cis- and trans-diadamants of dirhenium separately and together with cisplatin *in vivo* was studied. The antitumor activity was almost identical to the minor benefits for the *cis* analog *in vivo*. The attempt to explain the differences in the possible mechanism of antitumor activity of substances taking into account the antiradical and DNA-binding properties of the studied compounds was made.

Key words: dirhenium(III) cluster compounds, biologically active ligands, cisplatin, model of tumor growth, Calf Thymus DNA, oligonucleotides, pro-drug, antiradical activity, beta-alanine, adamantanecarboxylic acid.

Підписано до друку 05.04.21 р. формат 60X 90/16
Умовних друкар., арк., 0,9. Обл. - вид., арк., 0,9. Друк ризографія.
Тираж 100 пр. Замовлення № 42

Надруковано ВТК «Друкар» ДЗ «ДМА МОЗУ»
м. Дніпро, пл. Соборна, 2