

**ЗАПИТ**  
**на проведення наукової (науково-технічної) роботи**

**1. Назва роботи**

Посилення біологічної активності in vitro та in vivo берберин-подібних алкалоїдів шляхом їх ковалентної і нековалентної модифікації

**2. Вид тематики**

II. Програмно-цільова та конкурсна тематика НАН України

**3. Назва цільової програми або цільового проєкту**

Цільова програма наукових досліджень НАН України «Геномні, молекулярні та клітинні основи розвитку інноваційних біотехнологій» на 2020–2024 рр.

**4. Назва розділу програми або напрям цільового проєкту**

н е м а є

**5. Строки виконання роботи**

01 квітня 2020 р. - 31 грудня 2024 р.

**6. Код програмної класифікації видатків**

6541030 (фундаментальні дослідження)

**7. Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки**

Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

**8. Пріоритетний тематичний напрям наукових досліджень і науково-технічних розробок**

Фундаментальні проблеми наук про життя та розвиток біотехнологій

**9. Код та назва наукового напрямку (проблеми) з Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук**

2.2.2.3. Дослідження молекулярних механізмів регуляції проліферації, диференціації та апоптозу у нормальних та пухлинних клітин тварин і людини

2.2.2.5. Пошук шляхів та засобів подолання резистентності патогенів та злоякісних клітин

2.2.4.1. Вивчення механізмів регуляції функціональних систем організму за умов норми і патології

2.2.4.3. Вивчення молекулярно-генетичних основ регуляції метаболічних процесів при пухлинній хворобі

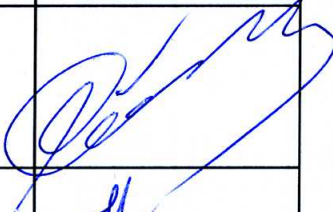







2.2.4.4. Вивчення впливу наночастинок і нанокompatитів на метаболізм нормальних і пухлинних клітин та розробка підходів до таргетної терапії

### 10. Науковий керівник роботи

*Стойка Ростислав Стефанович*, член-кореспондент НАН України, д.б.н., проф., завідувач відділу, Інститут біології клітини НАН України

телефон: +38 032 261 2287; факс: +38 032 261 2148; e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua

### 11. Відповідальні виконавці

Прізвище, ім'я та по батькові	Науковий ступінь, посада, місце роботи, телефон, електронна адреса	Підпис
Стойка Ростислав Стефанович	член-кор. НАН України, д.б.н., проф., завідувач відділу, ІБК НАН України, тел.: +38 032 261 2287, e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua	
Кащак Наталія Іванівна	к.б.н., молодший науковий співробітник, ІБК НАН України, тел.: (032)2612287, e-mail: nataliya.kashchak@gmail.com	
Ключівська Ольга Юріївна	провідний інженер, ІБК НАН України, тел.: (32)2612287, e-mail: zorepad1775@gmail.com	
Луцик Максим Дмитрович	д.б.н., проф., провідний науковий співробітник, ІБК НАН України, тел.: +38 032 261 2187, e-mail: lootsik@cellbiol.lviv.ua	
Козак Юлія Сергіївна	к.б.н., молодший науковий співробітник, ІБК НАН України, тел.: (032)2612287, e-mail: juliana.kozzak@gmail.com	
Панчук Ростислав Русланович	д.б.н., с.н.с., старший науковий співробітник, ІБК НАН України, тел.: +38 032 261 2287, e-mail: rpanchuk@ukr.net	
Скорохід Надія Романівна	провідний інженер-дослідник, ІБК НАН України, тел.: (032)2612287, e-mail: n.skorokhyd@gmail.com	
Фінюк Наталія Степанівна	к.б.н., науковий співробітник, ІБК НАН України, тел.: (032)-261-22-87, e-mail: nataliyafiniuk@gmail.com	

### 12. Установи - співвиконавці

н е м а є

### 13. Ключові слова

Біологічно-активні речовини, алкалоїди, протипухлинна активність, хімічна модифікація, синтетичні полімерні носії

### 14. Резюме

Біологічно-активні речовини природного походження знаходять все більше застосування як у традиційній, так і у нетрадиційній медицині, яка розвивається в різних країнах світу, включно з

Україною.

**Метою роботи** є посилити біологічну активність берберину та інших структурно подібних алкалоїдів (сангвінарин і хелеритрин), одержаних з рослин триби *Chelidoniae*. Це планується здійснити двома шляхами: 1) ковалентним приєднанням до молекули берберину залишків жирних кислот з різною довжиною вуглецевого ланцюга і різною кількістю ненасичених зв'язків у ньому; 2) нековалентним комплексуванням берберину і подібних до нього алкалоїдів із синтетичними поверхнево-активними полімерами з розгалуженою структурою та аніонними ланцюгами поліетиленгліколю. Як відомо, вільний берберин є майже не токсичним, тоді як за допомогою першого підходу вдалося значно посилити цитотоксичну дію берберину щодо пухлинних клітин людини (неопубліковані результати авторів проекту). У той же час, використання другого згаданого підходу може дозволити вирішити проблему поганої розчинності згаданих алкалоїдів у воді, оскільки вони добре розчинні лише в органічних розчинниках, наприклад, у диметилсульфоксиді, що робить неможливим доклінічне дослідження їхньої біологічної активності у лабораторним тварин.

**Передумовами успішного виконання проекту** є: 1) співпраця його співавторів з колективом кафедри органічної хімії Національного Університету «Львівська Політехніка», що забезпечить нековалентне кон'югування досліджуваних алкалоїдів з синтетичними полімерами, необхідними для створення водорозчинних форм водонерозчинних алкалоїдів; 2) співпраця співавторів проекту з колективом Інституту біології Шандунської Академії наук (м. Цінань, КНР), які надали синтезовані цим колективом ковалентно модифіковані похідні берберину для проведення спільних наукових досліджень.

## 15. Обґрунтування доцільності виконання роботи

### 15.1. Цілі та завдання роботи, її актуальність, соціальна та економічна значимість.

**Ціллю роботи** є посилити біологічну активність берберину та інших структурно подібних алкалоїдів (сангвінарин і хелеритрин), одержаних з рослин триби *Chelidoniae*. Це планується здійснити двома шляхами: 1) ковалентним приєднанням до молекули берберину залишків жирних кислот з різною довжиною вуглецевого ланцюга і різною кількістю ненасичених зв'язків у ньому; 2) нековалентним комплексуванням берберину і подібних до нього алкалоїдів із синтетичними поверхнево-активними полімерами з розгалуженою структурою та аніонними ланцюгами поліетиленгліколю. Як відомо, вільний берберин є майже не токсичним, тоді як за допомогою першого підходу вдалося значно посилити цитотоксичну дію берберину щодо пухлинних клітин людини (неопубліковані результати авторів проекту). У той же час, використання другого згаданого підходу може дозволити вирішити проблему поганої розчинності згаданих алкалоїдів у воді, оскільки вони добре розчинні лише в органічних розчинниках, наприклад, у диметилсульфоксиді, що робить неможливим доклінічне дослідження їхньої біологічної активності у лабораторним тварин.

#### **Завдання роботи:**

1) Порівняння цитотоксичної дії *in vitro* щодо лейкозних і карциномних людських пухлинних клітин вільного берберину і його похідних, ковалентно модифікованих різними жирними кислотами. (01.04–31.12 2020 р.)

2) Порівняння цитотоксичної дії *in vitro* щодо лейкозних і карциномних людських пухлинних клітин вільного берберину і його похідних, нековалентно комплексованих синтетичними полімерами, необхідними для створення водорозчинних форм водонерозчинних алкалоїдів. (01.01–31.12 2021 р.)

3) Дослідження біохімічних механізмів цитотоксичної дії (Вестерн-блот аналіз проапоптичних і антиапоптичних білків, цитофлуориметричний аналіз клітинного циклу і поверхневих маркерів апоптозу, ДНК-комет аналіз, електрофоретичний аналіз фрагментації ДНК, аналіз інтеркаляції в структуру ДНК та ін.) *in vitro* щодо лейкозних і карциномних клітин людини вільного берберину, його похідних, ковалентно модифікованих різними жирними кислотами і похідних, нековалентно комплексованих синтетичними полімерами, необхідними для створення водорозчинних форм водонерозчинних алкалоїдів. (01.01–31.12 2022 р.)

4) Порівняння сили інгібування *in vitro* субстрат-незалежного росту карциномних клітин людини у середовищі з напіврідким агаром (фенотипова ознака злоякісних клітин) за дії вільного берберину, його похідних, ковалентно модифікованих різними жирними кислотами, і похідних, нековалентно комплексованих синтетичними полімерами, необхідними для створення водорозчинних форм водонерозчинних алкалоїдів. (01.01–31.12 2023 р.)

5) Порівняння сили інгібування *in vivo* росту асцитної карциноми Ерліха і меланоми В16 миші за дії вільного берберину, його похідних, ковалентно модифікованих різними жирними кислотами, і похідних, нековалентно комплексованих синтетичними полімерами, необхідними для створення водорозчинних форм водонерозчинних алкалоїдів. (01.01–31.12 2024 р.)

**Актуальність роботи.** Біологічно-активні речовини природного походження знаходять все більше застосування як у традиційній, так і у нетрадиційній медицині, яка розвивається в різних країнах світу, включно з Україною. Відомо, що алкалоїд берберин, який є одним із важливих лікувальних засобів у нетрадиційній східній медицині, в цілому, є малотоксичним, що виключає його з числа ефективних протипухлинних ліків. Раніше ми показали, що сангвіарин і хелеритрин, які структурно дуже подібні до берберину, є токсичними як до пухлинних клітин, так і до клітин нормальних тканин і органів. Тому запланований проект націлений на скеровану модифікацію цих властивостей берберин-подібних алкалоїдів, що дозволить зробити берберин більш ефективним щодо пухлинних клітин, і, крім того, «замаскує» цитотоксичність інших алкалоїдів цієї групи (сангвіарин і хелеритрин) шляхом їхнього комплексування з полімерними наноносієм, допоки не відбудеться їхнє «вивільнення» в специфічних клітинах-мішенях. Одним із головних пріоритетів у розвитку сучасної фармацевтичної індустрії є створення медикаментозних препаратів **адресної дії**, здатних **долаючи множинну медикаментозну резистентність**. Важливим завданням таких біотехнологій є забезпечення **водорозчинності** лікарських препаратів, адже більшість з них, включно, до речі, з багатьма алкалоїдами погано розчинні у воді і тому їхнє застосування в лікарській практиці є утруднене.

**Соціальна та економічна значимість.** Всесвітня організація охорони здоров'я вважає, що у найближчі 20 років число випадків захворювання на рак зросте на 70%. Кількість онкохворих в Україні становить 800 000 чоловік із щорічним приростом 150 000 чоловік і смертністю 90 000 чоловік за рік (<http://www.unn.com.ua/uk/news/1652701>). 30% нових випадків онкологічних захворювань діагностується на пізніх стадіях хвороби і тому обов'язково потребують хіміотерапевтичного лікування. Ціна курсу лікування в Україні 1-го онкохворого лише найбільш вживаним протипухлинним препаратом Доксорубіцином (наприклад, фармкомпанія Teva, Ізраїль) становить 13 \$/20 мг (325 \$/річний курс), а повний курс хіміотерапії під час лікування раку молочної залози в середньому коштує 50 тис. грн. на рік. Ціна протипухлинного препарату Doxil (фармкомпанія Janssen) на основі Доксорубіцину зі зниженою кардіотоксичністю і більшою тривалістю дії становить 705 \$/20 мг (14 000 \$/річний курс). Тому створення в рамках запланованого проекту нових хімічно модифікованих форм берберин-подібних алкалоїдів із зниженою загальною токсичністю, водною розчинністю і можливістю забезпечення адресної дії шляхом векторизації полімерного носія має соціальну та економічну значимість.

## 15.2. Стан розроблення проблеми.

Продукти природного походження складають приблизно 50% від усіх існуючих фармацевтичних продуктів, причому у 17% вони містяться в ліках у незміненому (природному) виді. 80% світової популяції людства користуються рослинами, як основним джерелом лікувальних засобів (Cordell et al. 2001). Відомо приблизно 27 тисяч алкалоїдних структур (21120 мають рослинне походження) із приблизно 150 тисяч охарактеризованих природних продуктів. Структурні блоки в молекулах алкалоїдів є надзвичайно різноманітними і містять вибрані амінокислоти (орнітин, лізин, фенілаланін, тирозин, триптофан, антранілову кислоту і гістидин), а також вибрані блоки політерпенів, полікетидів і пуринів. Описано 1 872 структурні скелети алкалоїдів. Серед найбільш відомих алкалоїдів, що використовуються людиною, є корисні (але не обов'язково) алкалоїди – кофеїн кави і чаю, теобромін шоколаду, капсаїцин перцю, нікотин тютюну, опій в ліках, і небезпечні для людини алкалоїди – тубокурарин (отруйні стріли), тетродотоксини та інші токсини риб, амфібій, грибів і рослин (Cordell et al. 2001). Найбільш відомі алкалоїди у фармацевтиці – атропін, берберин, морфін, псевдоефедрин, хінін, таксол, вінбластин та ін. Старі алкалоїди з новими застосуваннями – кофеїн, теофілін, колхіцин, нікотин, пілокарпін, скополамін та ін.

Станом на 4.3.2020 р. в інформаційній системі PubMed зрєєстровано 468833 статті з ключовим словом "alkaloid", 328721 статті з ключовими словами "alkaloid , drug", 226950 статей з ключовими словами "alkaloid, treatment" і 67633 статті з ключовими словами "alkaloid, cancer".

Особливий інтерес привертають алкалоїди з протипухлинною активністю, такі як кампотецин (ліпофільний монотерпеновий індольний алкалоїд, виділений з *Camptotheca acuminata*), що інгібує функціонування топоізомерази I. Кору цього дерева віддавна використовують у традиційній китайській медицині, як протипухлинний засіб. Синтезовані

структурні аналоги кампотечину - іринотекан і топотекан, що володіють підвищеною водорозчинністю і кращою фармакокінетикою. Отже, незважаючи на потужну протипухлинну дію, кампотечин має серйозний недолік, а саме погану розчинність у воді.

*Chelidonium majus L.* (Papaveraceae) має довгу історію як лікарська рослина в різних країнах Європи. Цю рослину також використовують у китайській фітотерапії. Крім вторинних метаболітів, вона містить ізохінолінові алкалоїди, такі як сангвінарин, хелідонін, хелеритрин, берберин і коптізин. Іншими цікавими для медицини речовинами тут є різні флавоноїди і фенолові кислоти. Екстракт цієї рослини володіє протівірусною, антимікробною і протипухлинною активностями, механізми прояву яких залишаються мало вивченими. Встановлено здатність хелідоніну та інших алкалоїдів *Chelidonium majus* вбивати ракові клітини *s3* множинною медикаментозною резистентністю. ([El-Readi MZ<sup>1</sup>](#), [Eid S](#), [Ashour ML](#), [Tahrani A](#), [Wink M](#). Modulation of multidrug resistance in cancer cells by chelidonine and *Chelidonium majus* alkaloids. *Phytomedicine*. 2013; 20(3-4). P. 282-294).

Були спроби модифікації хімічних і фізико-хімічних властивостей алкалоїдів, але у більшості випадків вони виявилися не дуже ефективними. Зокрема, синтезовано амітозин, що є продуктом алкілювання алкалоїдів за допомогою фосфор-органічної сполуки N,N,N'-triethylenethiophosphoramidate. Але такий кон'югат виявився досить токсичним *in vivo*.

Створено наночастинки, що містять протипухлинний алкалоїд, але такі роботи не мають систематичного характеру. ([Paul A<sup>1</sup>](#), [Das S](#), [Das J](#), [Samadder A](#), [Khuda-Bukhsh AR](#) Cytotoxicity and apoptotic signalling cascade induced by chelidonine-loaded PLGA nanoparticles in HepG2 cells *in vitro* and bioavailability of nano-chelidonine in mice *in vivo*. *Toxicol. Lett.* 2013 222(1). P.10-22).

У запланованому проекті запропоновано здійснювати як ковалентну хімічну модифікацію алкалоїдів за допомогою біосумісних жирних кислот, так і нековалентне комплексування алкалоїдів із синтетичними поверхнево-активними полімерами, що дозволяє зробити інкапсульовані алкалоїди водорозчинними. Такі підходи для впливу на біологічні і фізико-хімічні властивості алкалоїдів в літературі не описані.

### 15.3. Досвід і доробок авторів.

У 2005-2006 р.р. за участі співавторів даного проекту виконано **Державне замовлення України** на тему «Фракціонування та очистка алкалоїдів і тритерпенів із лікарських рослин (чистотіл, омела, пізньоцвіт). Отримання дослідних зразків цих препаратів, дослідження їх хімічного складу та фізико-хімічних властивостей, біотестування імуномодулюючої та протипухлинної активності отриманих речовин в культурі клітин» (керівник проекту – член-кор. НАН України Стойка Р.С., відповідальний виконавець – д.б.н. Луцик М.Д.).

У рамках держзамовлення розроблено технологію фракціонування екстрактів із рослинної сировини і отримання окремих алкалоїдів і тритерпенових сапонінів в очищеному стані із лікарських рослин чистотілу, омели і пізньоцвіту. Проведено ідентифікацію алкалоїдів методом мас-спектрометрії (аналіз виконано на засадах співробітництва з Людвігівським Інститутом ракових досліджень в м. Уппсала, Швеція). Із кореневищ чистотілу отримано наступні алкалоїди: сангвінарин (200 мг), хелеритрин (50 мг), хелідонін (1000 мг), коптізин (50 мг), а з цибулин пізньоцвіту - колхіцин (500 мг) і колхамін (100 мг). Вивчено фізико-хімічні властивості отриманих алкалоїдів із використанням тонкошарової хроматографії на пластинках силікагелю, спектрального аналізу в областях видимого світла і ультрафіолету та отримання кристалів. Досліджено імуномодуляторну активність отриманих алкалоїдів, зокрема їх вплив на фагоцитарну активність гранулоцитів крові людини. Встановлено, що тільки хелідонін стимулював фагоцитарну активність гранулоцитів, тоді як решта алкалоїдів і сапонінів пригнічували фагоцитарну активність.

У подальших дослідженнях встановлено, що різні алкалоїди (сангвінарин, хелеритрин, коптізин, берберин, хелідонін), одержані з *Chelidonium majus L.*, суттєво різняться за своєю дією на злоякісні клітини лінії L1210 лейкозу миші та клітини мишачої лімфоми лінії NK/Ly. Якщо сангвінарин, хелеритрин, коптізин і берберин мають цитотоксичний вплив (ці алкалоїди розміщені у порядку зниження цитотоксичної активності) на ці злоякісні клітини, то хелідонін не вбиває клітини і має цитостатичний вплив.

Вперше виявлено здатність алкалоїдів інтеркалювати в структуру ДНК. Продемонстровано прямо пропорційну залежність між здатністю алкалоїдів інтеркалювати в структуру ДНК і рівнем їх цитотоксичної активності. За допомогою методу електрофоретичної оцінки ступеня фрагментації ДНК і методу ДНК-комет показано, що досліджувані алкалоїди (за винятком

хелідоніну) індукують швидкий апоптоз у пухлинних клітинах-мішенях, підтверджений Вестерн-блот-аналізом про-і анти-апоптичних білків в цих клітинах. Проапоптичну дію досліджуваних алкалоїдів підтверджено також цитоморфологічними методами дослідження. Більш цитотоксичні алкалоїди виявилися також більш деструктивними для мітохондрій тваринних клітин.

У дослідженні біологічної дії різних алкалоїдів *in vivo* визначено їхні субтоксичні (переносимі) дози за доочеревинного введення мишам з прищепленою їм лімфоною NK/Ly.

**За результатами проведених досліджень авторами проекту опубліковані наступні статті:**

1. Kaminsky V., Kulachkovsky O., **Stoika R.** A decisive role of mitochondria in defining rate and intensity of apoptosis induction by different alkaloids. *Toxicol. Lett.* 2008, V. 177, N 3, P. 168-181. (IF: 3,86)
2. Phylchenkov A., Kaminsky V., Zavelevych M., **Stoika R.** Apoptogenic activity of two benzophenanthridine alkaloids from *Chelidonium majus* L. does not correlate with their DNA damaging effects. *Toxicol. In Vitro*, 2008, V. 22, N 2, P. 287-295. (IF: 2,9)
3. Kaminsky V.O., Lutsik M.D., **Stoika R.S.** Analysis of DNA fragmentation in the individual cells by the method of gel-microelectrophoresis: modification of silver salts staining for obtaining stable preparation. *Ukrainian Biochemical Journal*. 2005; V. 77, N.6: P. 89-92.
4. Kaminsky V.O., Lootsik M.D., Stoika R.S. Cytotoxic activity of various greater celandine alkaloids correlates with their DNA intercalating properties and ability to induce breaks in DNA of NK/Ly murine lymphoma cells. *Central European Journal of Biology*. 2006, V. 1. N1. P. 2-15. (IF: 0,76)
5. Kaminsky V.O., Kryvyak N.V., Lutsik M.D., **Stoika R.S.** Effect of great celandine alkaloids on calcium capacity and oxidative phosphorylation in mitochondria depending on their capacity to intercalate into DNA structure, *Ukrainian Biochemical Journal*, 2006. V. 78. N2. P. 73-78.
6. Kaminsky V., Lin K., Filyak Ye., **Stoika R.** Differential effect of sanguinarine, chelerythrine and chelidonine on DNA damage and cell viability in primary mouse spleen cells and mouse leukemic cells. *Cell Biol. Int.* 2008, V. 32, N 2. P. 271-277. (IF: 1,75)

**За результатами досліджень зі створення водорозчинних форм біологічно активних речовин**, в т.ч. протипухлинних чинників, шляхом їх нековалентного комплексування із синтетичними поверхнево-активними полімерами опубліковано такі статті:

1. Zaichenko Alexander, Mitina Natalya, Shevchuk Oleh, Rayevska Katerina, Lobaz Volodymyr, Skorokhoda Taras, **Stoika Rostyslav.** Development of novel linear, block, and branched oligoelectrolytes and functionally targeting nanoparticles. *Pure Applied Chem.* 2008. V.80, N11. P. 2309-2326. (IF: 1,8)

2. A. Riabtseva, N. Mitina, N. Boiko, S. Garasevich, I. Yanchuk, **R. Stoika**, O. Slobodyanyuk, A. Zaichenko Structural and colloidal-chemical characteristics of nanosized drug delivery systems based on pegylated comb-like carriers / *Chemistry & Chemical Technology*. 6, N 3. 2012. P. 291–295 (ISSN: 1996-4196).

3. Senkiv Y., Riabtseva A., Heffeter P., Boiko N., Kowol R.C., Jungwith U., Shlyakhtina Y., Garasevych S.G., Mitina N., Berger W., Zaichenko A., Stoika R. Enhanced anticancer activity and circumvention of resistance mechanisms by novel polymeric/phospholipidic nanocarriers of doxorubicin. // *J. Biomedical Nanotechnology*. – 2014. – V. 10, N. 7. – P. 1369-1381. (IF: 7,58)

4. Heffeter P., Riabtseva A., Senkiv Y., Kowol R.C., Koerner W., Jungwith U., Mitina N., Keppler B.K., Konstantinova T., Yanchuk I., Stoika R., Zaichenko A., Berger W. Nanoformulation improves activity of the (pre)clinical anticancer ruthenium complex KP1019. // *J. Biomedical Nanotechnology*. – 2014. – V. 10, N 5 – P. 877-84. (IF: 7,58)

5. Senkiv J., N. Finiuk, D. Kaminsky, D. Havrylyuk, M. Wojtyra, I. Kril, A. Gzella, R. Stoika, R. Lesyk 5-Ene-4-thiazolidinones induce apoptosis in mammalian leukemia cells.// *Eur J Med Chem.* – 2016, - Jul 19; 117 – P.33-46. (IF: 3,902)

6. A. Riabtseva, N. Mitina, I. Grytsyna, N. Boiko, V. M. Garamus, H. Stryhanyuk, R. Stoika, A. Zaichenko Functional micelles formed by branched polymeric surfactants: Synthesis, characteristics, and application as nanoreactors and carriers / // *European Polymer Journal*. – 2016, - V. 75, - P. 406-422. (IF: 3,485)

7. T. Shagotova, D. Horák, N. Mitina, M. Trchová, N. Boiko, M. Babič, **R. Stoika**, J. Kovářová, O. Hevus, M. Beneš, T. Skorokhoda, P. Holler, A. Zaichenko Surface-initiated polymerization of 2-

hydroxyethyl methacrylate from heterotelechelic oligoperoxide-coated g-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles and their engulfment by mammalian cells // *Chemistry of Materials*. – 2011. – V. 23. – P. 2637–2649. (IF = 8.238)

9. Senkiv Yu.V., Heffeter P., Riabtseva A.O., Boiko N.M., Zaichenko O.S., Mitina N.Ye., Berger W., **Stoika R.S.** Action of free and polymer carrier encapsulated doxorubicin towards HCT 116 cells of human colorectal carcinoma // *Ukrainian Biochemical Journal*. – 2013. – Vol. 85, N 2. – P. 33–44.

10. Бойко Н.М., Сеньків Ю.В., Шляхтіна Є.А., Ключівська О.В., Скорохід Н., Мітіна Н.Є., Скорохода Т.В., Москвін М.М., Заіченко О.С., **Стойка Р.С.** Дія доксорубіцину, доставленого в пухлинні клітини *in vitro* та *in vivo* новим нанорозмірним функціональним олігоелектролітним носієм // *Biotechnologia Acta*. – 2013. – Vol. 6, N 3. – P. 53–62.

11. Boiko N.M., Klyuchivska O.Yu., Kobylinska L.I., Havrylyuk D.Ya., Mitina N.Ye., Lesyk R.B., Zaichenko O.S., **Stoika R.S.** Vitality and morphology of tumor cells treated with 4-thiazolidinone derivatives immobilized on nanoscale polymer carrier // *Biotechnologia Acta*. – 2015. – V.8, №1. – P. 39-48.

12. Kobylinska LI, Havrylyuk DY, Ryabtseva AO, Mitina NE, Zaichenko OS, Lesyk RB, Zimenkovsky BS, **Stoika RS.** Biochemical indicators of hepatotoxicity in blood serum of rats under the effect of novel 4-thiazolidinone derivatives and doxorubicin and their complexes with polyethyleneglycol-containing nanoscale polymeric carrier. // *Ukr Biochem J.* – 2015. – V. 87, №2. – P. 122-132.

13. Kobylins'ka LI, Havryliuk DIa, Riabtseva AO, Mitina NIe, Zaichenko OS, Zimenkovskyi BS, **Stoika RS.** Study of rat blood serum biochemical indicators of cardiotoxic action of novel antitumor 4-thiazolidinone derivatives and doxorubicin in complexes with polyethylene glycol-containing polymeric carrier in the rat blood serum. // *Ukr Biochem J.* 2014 – V.86 №6, 84-95.

14. Kobylinska L.I. Havrylyuk D.Ya., Mitina N.E., Zaichenko A.S., Lesyk R.B., Zimenkovsky B.S., **Stoika R.S.** Biochemical indicators of nephrotoxicity in blood serum of rats treated with novel 4-thiazolidinone derivatives or their complexes with polyethyleneglycol-containing nanoscale polymeric carrier. // *Ukr. Biochem. J.* 2015; Vol. 87(2); P. 122-132.

15. Finiuk N. S., Senkiv J. V., Riabtseva A. O., Mitina N. Y., Molochii N. I., Kitsera M. O., Avdieiev S.S., Zaichenko O. S., **Stoika R. S.** Modulation of temozolomide action towards rat and human glioblastoma cells in vitro by its combination with doxorubicin and immobilization with nanoscale polymeric carrier // *Ukr. Biochem. J.* - 2016; - T. 88, Спецвипуск. - С. 87-98.

Розділи в монографіях:

1. Повышение эффективности противоопухолевого действия и снижение общей токсичности доксорубицина путем его доставки новыми смешанными мицеллярными системами на основе ПЭГ-содержащего носителя и N-стеароилэтаноламина (NSE) / Гудзь Е.А., Панчук Р.Р., Рябцева А., Митина Н.Є., Скорохід Н.Р., Легка Л.В., Заіченко О.С., Гула Н.М., **Стойка Р.С.** // Раздел монографии **Наноразмерные системы и наноматериалы: исследования в Украине** / Редкол.: А.Г. Наумовец (глав. ред.) ; НАН Украины. – К. : Академперіодика, 2014. – 768 с., 4 с. ил. – С. 515-518.

2. Surface-modified magnetic nanoparticles for cell labeling / B.A. Zasonska, V. Patsula, **R. Stoika**, D. Horák // “**The Chemistry and Physics of Engineering Materials**” Editors:A. A. Berlin, R. Joswik, N. I. Vatin, / Modern Analytical Methodologies.- Apple Academic Press, NJ, USA. – 2015. – V. 1, Chapter 10. – P. 275-288.

**Патент на винахід** № а201405945 від 30.05.2014, Міцеллярна композиція на основі подвійних гідрофільних блок-кополімерів і доксорубіцину та її застосування як засобу протиракової дії. / Куницька Л. Р., Желтоножська Т. Б., Стойка Р. С., Бойко Н. М. затверджено 22.10.2015 р. Бюл. № 23.

Коллективна монографія під редакцією член-кор. НАН України **Стойки Р.С.** «**Багатофункціональні наноматеріали для біології і медицини: молекулярний дизайн, синтез і застосування**». Наукова Думка. Київ, 2017. 364 с.

#### 15.4. Структура досліджень.

Дослідження в рамках даного проекту будуть виконуватися за 2-ма головними напрямками: 1) вивчення біологічної дії на пухлинні клітини *in vitro* похідних берберину із ковалентно приєднаними до них залишками різних жирних кислот; 2) вивчення біологічної дії на пухлинні клітини *in vitro* похідних берберину, а також його гомологів з високою токсичністю (сангвінарин

і хелеритрин) у їх нековалентних комплексах із синтетичними полімерами, необхідними для створення водорозчинних форм цих водонерозчинних алкалоїдів.

За результатами досліджень в рамках цих 2-х напрямків роботи буде розроблено план досліджень *in vivo* з використанням мишей із прищепленими їм модельними пухлинами. Ці тварини будуть піддані лікуванню комплексами, що містять водорозчинну форму вибраного алкалоїда, у т.ч. ковалентно модифікованого берберину з підвищеною цитотоксичною активністю.

У рамках 1-го напрямку, буде додатково проведено поглиблене дослідження механізмів антинеопластичної дії *in vitro* похідних берберину, модифікованих залишком різних жирних кислот. У рамках 2-го напрямку, буде додатково проведено поглиблене дослідження механізмів антинеопластичної дії *in vitro* похідних берберину та аналогів берберину з високою токсичністю у комплексі з синтетичними полімерами, необхідними для створення водорозчинних форм цих водонерозчинних алкалоїдів. Для цього будуть досліджені показники апоптозу і некрозу у лейкозних клітинах і карциномних клітинах людини, а також, для порівняння, у псевдонормальних клітинах людини й активованих лімфоцитах крові клінічно здорових донорів.

#### 15.5. Наявність матеріально-технічної бази для виконання роботи.

У відділі регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини Національної академії наук України наявна наступна матеріально-технічна база, необхідна для реалізації запланованого проекту:

- CO<sub>2</sub>-інкубатор (New Brunswick, USA) для культивування клітин;
- Ламінарні бокси (4 штуки) для робіт з клітинами у стерильних умовах (Електроніка);
- Апаратура (камера і блок живлення) для електрофоретичного аналізу білків і ДНК (BioRad, США);
- Флуоресцентний мікроскоп (Carl Zeiss Jena, Germany);
- Інвертований мікроскоп (БіоЛам, Російська Федерація);
- Цитофлуориметр (Becton Dickinson);
- Апаратура для перемішування: вортекс-мішалка (Biosan), струшувач (Biosan), магнітні мішалки (Biosan);
- Центрифуга типу Еппендорф з охолодженням (Jouan, Франція);
- Мікроспектрофотометр (NanoDrop, США);
- Прилад для високоефективної рідинної хроматографії (HPLC, BioRad);
- Віварій (розрахований приблизно на 400 мишей).

#### **16. Техніко-економічне обґрунтування**

н е м а є

#### **17. Власна оцінка науково-технічного рівня розробки, що пропонується, яка очікується за результатами наукової, науково-технічної роботи**

- |  |
|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> немає аналогів у світі або краща за існуючі у світі аналоги  |
| <input type="checkbox"/> немає аналогів в Україні  |
| <input type="checkbox"/> краща за існуючі в Україні аналоги за всіма основними показниками       |
| <input type="checkbox"/> перевищує існуючі в Україні аналогічні розробки за окремими показниками |



## 18. Використання результатів роботи

### 18.1. Очікувані наукові та науково-практичні результати, об'єкти права інтелектуальної власності (ОІВ), які плануються до впровадження після завершення роботи

Найменування результатів, ОІВ	Назва підприємства, організації, де передбачається використовувати результати, ОІВ	Заплановані обсяги впровадження
Буде встановлено, чи впливає ковалентне приєднання до молекули берберину залишків різних жирних кислот на біологічну дію одержаних похідних берберину щодо пухлинних клітин <i>in vitro</i>	Інститут біології клітини НАН України, Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України	2 статті
Будуть одержані нековалентні водорозчинні комплекси модифікованих похідних берберину, а також гомологів берберину з високою токсичністю (сангвінарин і хелеритрин) із синтетичними поверхнево-активними полімерами з розгалуженою структурою та аніонними ланцюгами поліетиленгліколю	Інститут біології клітини НАН України, Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України	2 статті
Буде досліджено, як впливає комплексоутворення різних похідних алкалоїдів, у т.ч. модифікованих залишками жирних кислот, із синтетичними поверхнево-активними полімерами на біологічну дію таких форм алкалоїдів на пухлинні клітини <i>in vitro</i>	Інститут біології клітини НАН України, Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України	2 статті
Водорозчинні форми різних досліджуваних алкалоїдів (у т.ч. ковалентно модифікований берберин з підвищеною цитотоксичною активністю) у складі створених комплексів з поверхнево-активними полімерами будуть використані для лікування лабораторних мишей із прищепленими їм модельними пухлинами	Інститут біології клітини НАН України, Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України	2 статті
Будуть досліджені біохімічні (рівень про- і антиапоптичних білків в клітинах-мішенях, ступінь фрагментації ядерної ДНК, ступінь інтеркаляції в структуру ДНК та ін.) і клітинні (ступінь екстерналізації фосфатидилсерину в плазматичній мембрані клітин, розподіл стадій клітинного циклу, зокрема поява проапоптичної пре-G1 стадії, цитоморфологічні зміни в клітинах-мішенях) механізми антинеопластичної дії <i>in vitro</i> похідних берберину, модифікованих залишком різних жирних кислот	Інститут біології клітини НАН України, Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України	2 статті
Будуть досліджені біохімічні (рівень про- і антиапоптичних білків в клітинах-мішенях, ступінь фрагментації ядерної ДНК, ступінь інтеркаляції в структуру ДНК та ін.) і клітинні (ступінь екстерналізації фосфатидилсерину в плазматичній мембрані клітин, розподіл стадій клітинного циклу, зокрема поява проапоптичної пре-G1 стадії, цитоморфологічні зміни в клітинах-мішенях) механізми антинеопластичної дії <i>in vitro</i> похідних берберину у комплексі з Окремі з перелічених показників апоптозу у лейкозних і карциномних клітинах людини будуть порівняні з такими показниками у псевдонормальних клітин людини й активованих лімфоцитах периферичної крові клінічно здорових донорів.	Інститут біології клітини НАН України, Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України	2 статті
Патент України на винахід «Створення водорозчинної біологічно активної форми	Інститут біології клітини НАН України, Інститут біохімії ім.	1 патент

<p>природних та модифікованих алкалоїдів шляхом їх нековалентного комплексування із синтетичними поверхнево-активними полімерами з розгалуженою структурою та аніонними ланцюгами поліетиленгліколю»</p>	<p>О.В. Палладіна НАН України, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Фармацевтичні компанії: Галичфарм, Фармак, Дарниця, ДіаПрофМед</p>	
--	---	--

## **18.2. Шляхи та способи подальшого використання в суспільній практиці результатів виконання роботи**

1) Співпраця його співавторів з колективом кафедри органічної хімії Національного Університету «Львівська Політехніка», що забезпечить нековалентне кон'югування досліджуваних алкалоїдів з синтетичними полімерами, необхідними для створення водорозчинних форм водонерозчинних алкалоїдів. Кінцевою метою такої співпраці є доклінічне випробування створених комплексів у лабораторних тварин (після подання заявки на Патент України).

2) Співпраця співавторів проекту з колективом Інституту біології Шандунської Академії наук (м. Цінань, КНР), які надали синтезовані цим колективом ковалентно модифіковані похідні берберину для проведення спільних досліджень. Кінцевою метою такої співпраці є доклінічне випробування синтезованих похідних у комплексі з синтетичним полімерним наноносієм у лабораторних тварин (після подання заявки на Патенти України і Китайської Народної Республіки).

Результати виконання проекту будуть також використані у лекційних курсах керівника проекту, член-кор. НАН України Стойки Р.С., який за сумісництвом викладає для магістрів на кафедрі біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка і на кафедрі нормальної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

### 18.3. Потенційні споживачі наукових та науково-технічних результатів, об'єктів права інтелектуальної власності (ОІВ)

Країна	Назва підприємства, організації	Найменування результатів, ОІВ	Можливі обсяги споживання
Україна	Інститут біології клітини НАН України, Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України	Результати про посилену біологічну активність берберину та інших структурно подібних алкалоїдів (сангвінарин і хелеритрин), одержаних з рослин триби <i>Chelidoniae</i> після хімічної модифікації цих алкалоїдів двома різними шляхами: 1) ковалентним приєднанням до молекули берберину залишків жирних кислот з різною довжиною вуглецевого ланцюга і різною кількістю ненасичених зв'язків у ньому; 2) нековалентним комплексуванням берберину і подібних до нього алкалоїдів із синтетичними поверхнево-активними полімерами з розгалуженою структурою та аніонними ланцюгами поліетиленгліколю.	Спільні статті (4) і спільні науково-дослідні проекти (2).
Україна	Фармацевтичні компанії: Галичфарм *Львів), Фармак (Київ), Дарниця (Київ), ДіаПрофМед (Київ)	Обговорення алгоритмів посилення біологічних властивостей речовин природного походження, що представляють інтерес для медицини і фармацевтики. Ці алгоритми базуватимуться на ковалентній (посилення біологічної дії шляхом приєднання ліпідних компонентів) і нековалентній (забезпечення водорозчинності і покращення біосумісності шляхом нековалентного комплексування із синтетичними поверхнево-активними полімерами) модифікації таких речовин.	Створення нових вітчизняних біологічно активних речовин для різного застосування у медицині. Це дозволить зменшити залежність України від необхідності купівлі за кордоном цих продуктів біомедичного призначення.

### 19. Об'єкти права інтелектуальної власності (ОІВ), використання яких передбачається під час проведення досліджень (для прикладних досліджень та фундаментальних, де використовуються ОІВ)

н е м а є

#### 20. Фінансові аспекти роботи

**20.1. Загальна вартість роботи 1200,000 тис. грн.**

*словами: один мільйон двісті тисяч грн.*

#### 20.2. Вартість роботи:

Роки виконання роботи	2020 р.	2021 р.	2022 р.	2023 р.	2024 р.
Вартість виконання робіт (тис. грн.)	240,000	240,000	240,000	240,000	240,000

### 21. Наукові ради (комітети, комісії) НАН України, ради регіональних наукових центрів НАН і МОН України, яких доцільно залучити до експертної оцінки запиту

Відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України, Західний науковий центр МОН і НАН України

**22. Кандидатури можливих експертів у галузі, до якої відноситься робота, що пропонується**

Прізвище, ім'я, по батькові	Науковий ступінь, посада	Місце роботи
Риндич Алла Володимирівна	член-кореспондент НАН України, д.б.н., проф., завідувач відділу	Ін-т молекулярної біології і генетики НАН України
Мінченко Олександр Григорович	член-кореспондент НАН України, д.б.н., проф., завідувач відділу	Ін-т біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України
Федоренко Віктор Олександрович	д.б.н., проф., завідувач кафедри	Львівський національний університет імені Івана Франка
Рибальченко Володимир Корнійович	д.б.н., проф., завідувач сектору	НДС мембранології і цитології ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка

**23. Додатки, що є невід'ємною частиною запиту:**

1. Технічне завдання на виконання роботи (Додаток А).
2. Планова калькуляція кошторисної вартості роботи (Додаток Б).

04.03.2020

дата

Директор  
Інституту біології клітини НАН України  
академік НАН України

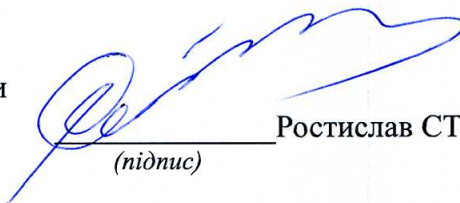


Андрій СИБІРНИЙ

М.П.

Науковий керівник роботи

Завідувач відділу  
Інституту біології клітини НАН України  
член-кореспондент НАН України

  
(підпис)

Ростислав СТОЙКА

**ПОГОДЖЕНО**

Директор  
Інституту біології клітини НАН України  
академік НАН України

\_\_\_\_\_ Андрій СИБІРНИЙ

(підпис)

2525 «01/8» березня 2020 р.

М.П.

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Співкоординатор Програми  
академік НАН України

\_\_\_\_\_ Сергій КОМІСАРЕНКО

(підпис)

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_\_ р.

М.П.

### **ТЕХНІЧНЕ ЗАВДАННЯ**

**на виконання наукової (науково-технічної) роботи**

**«Посилення біологічної активності in vitro та in vivo берберин-подібних алкалоїдів шляхом їх ковалентної і нековалентної модифікації»**

**Цільова програма наукових досліджень НАН України «Геномі, молекулярні та клітинні основи розвитку інноваційних біотехнологій» на 2020–2024 рр.**

Інститут біології клітини НАН України

## 1. Рішення про затвердження роботи

---

### 2. Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки

Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

### 3. Пріоритетний тематичний напрям наукових досліджень і науково-технічних розробок

Фундаментальні проблеми наук про життя та розвиток біотехнологій

#### 4. Код та назва наукового напрямку або проблеми з Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук (для фундаментальних досліджень)

2.2.2.3. Дослідження молекулярних механізмів регуляції проліферації, диференціації та апоптозу у нормальних та пухлинних клітин тварин і людини

2.2.2.5. Пошук шляхів та засобів подолання резистентності патогенів та злоякісних клітин

2.2.4.1. Вивчення механізмів регуляції функціональних систем організму за умов норми і патології

2.2.4.3. Вивчення молекулярно-генетичних основ регуляції метаболічних процесів при пухлинній хворобі

2.2.4.4. Вивчення впливу наночастинок і нанокompatитів на метаболізм нормальних і пухлинних клітин та розробка підходів до таргетної терапії

#### 5. Основний напрям наукової діяльності установи, за яким проводяться роботи

Дослідження молекулярних механізмів регуляції проліферації, диференціації та апоптозу у нормальних та пухлинних клітинах тварин і людини.

#### 6. Мета роботи

Біологічно-активні речовини природного походження знаходять все більше застосування як у традиційній, так і у нетрадиційній медицині, яка розвивається в різних країнах світу, включно з Україною.

**Метою роботи** є посилити біологічну активність берберину та інших структурно подібних алкалоїдів (сангвінарин і хелеритрин), одержаних з рослин триби *Chelidoniaeae*. Це планується здійснити двома шляхами: 1) ковалентним приєднанням до молекули берберину залишків жирних кислот з різною довжиною вуглецевого ланцюга і різною кількістю ненасичених зв'язків у ньому; 2) нековалентним комплексуванням берберину і подібних до нього алкалоїдів із синтетичними поверхнево-активними полімерами з розгалуженою структурою та аніонними ланцюгами поліетиленгліколю. Як відомо, вільний берберин є майже не токсичним, тоді як за допомогою першого підходу вдалося значно посилити цитотоксичну дію берберину щодо пухлинних клітин людини (неопубліковані результати авторів проекту). У той же час, використання другого згаданого підходу може дозволити вирішити проблему поганої розчинності згаданих алкалоїдів у воді, оскільки вони добре розчинні лише в органічних розчинниках, наприклад, у диметилсульфоксиді, що робить неможливим доклінічне дослідження їхньої біологічної активності у лабораторним тварин.

## 7. Термін проведення роботи:

початок — 01 квітня 2020 р. ; закінчення — 31 грудня 2024 р.

Орієнтовний обсяг коштів на виконання роботи в цілому **1200,000** тис. грн.

та по роках

2020 р. — 240,000 тис. грн.

2021 р. — 240,000 тис. грн.

2022 р. — 240,000 тис. грн.

2023 р. — 240,000 тис. грн.

2024 р. — 240,000 тис. грн.

## 8. Календарний план роботи

№ з/п	Найменування основного етапу роботи	Термін виконання	Відповідальний виконавець
1	Порівняння цитотоксичної дії <i>in vitro</i> щодо лейкозних і карциномних людських пухлинних клітин вільного берберину і його похідних, ковалентно модифікованих різними жирними кислотами	04 березня 2020 р. - 31 грудня 2020 р.	член-кор. НАН України, д.б.н., проф., Р.С. Стойка; к.б.н., Р.Р. Панчук; д.б.н., проф., М.Д. Луцик; к.б.н., Н.С. Фінюк; О.Ю. Ключівська; к.б.н., Ю.С. Козак; Н.Р. Скорохід; к.б.н., Н.І. Кащак.
2	Порівняння цитотоксичної дії <i>in vitro</i> щодо лейкозних і карциномних людських пухлинних клітин вільного берберину і його похідних, нековалентно комплексованих синтетичними полімерами, необхідними для створення водорозчинних форм водонерозчинних алкалоїдів	01 січня 2021 р. - 31 грудня 2021 р.	член-кор. НАН України, д.б.н., проф., Р.С. Стойка; д.б.н., с.н.с., Р.Р. Панчук.
3	Дослідження біохімічних механізмів цитотоксичної дії <i>in vitro</i> щодо лейкозних і карциномних клітин людини вільного берберину, його похідних, ковалентно модифікованих різними жирними кислотами і похідних, нековалентно комплексованих синтетичними полімерами	01 січня 2022 р. - 31 грудня 2022 р.	член-кор. НАН України, д.б.н., проф., Р.С. Стойка; к.б.н., Р.Р. Панчук.
4	Порівняння сили інгібування <i>in vitro</i> субстрат-незалежного росту карциномних клітин людини у середовищі з напіврідким агаром за дії вільного берберину, його похідних, ковалентно модифікованих різними жирними кислотами, і похідних, нековалентно комплексованих синтетичними полімерами	01 січня 2023 р. - 31 грудня 2023 р.	член-кор. НАН України, д.б.н., проф., Р.С. Стойка; к.б.н., Р.Р. Панчук.
5	Порівняння сили інгібування <i>in vivo</i> росту асцитної карциноми Ерліха і меланоми В16 миші за дії вільного берберину, його похідних, ковалентно модифікованих різними жирними кислотами, і похідних, нековалентно комплексованих синтетичними полімерами	01 січня 2024 р. - 31 грудня 2024 р.	член-кор. НАН України, д.б.н., проф., Р.С. Стойка; к.б.н., Р.Р. Панчук.

## **9. Зміст, основні вимоги до виконання роботи, рівня і способів її виконання**

У ході виконання проекту буде здійснено оцінку біологічної (цитотоксичної) активності нових форм біологічно активних речовин, а саме вибраних алкалоїдів, отриманих з рослин триби *Chelidoniae*. Дослідженню будуть піддані похідні алкалоїду берберину з ковалентно приєднаними залишками різних жирних кислот, а також берберин і берберин-подібні алкалоїди у нековалентному комплексі із синтетичними полімерами, необхідними для створення водорозчинних форм цих водонерозчинних алкалоїдів.

Селективну цитотоксичну дію створених продуктів буде досліджено щодо пухлинних клітин тварин *in vitro* та *in vivo*, а також пухлинних клітин людини *in vitro*. Рівень цитотоксичної дії оцінюватиметься за показниками життєздатності пухлинних клітин (МТТ-тест) і виживаності (тест з барвником трипановим синім), за вмістом про- і анти-апоптичних білків (Вестерн-блот аналіз), за ступенем екстерналізації фосфатидилсерину плазматичної мембрани клітин (цитофлуориметрія), за змінами у розподілі стадій клітинного циклу, зокрема за появою проапоптичної пре-G1 стадії, а також за результатами цитоморфологічного дослідження з використанням світлової і флуоресцентної мікроскопії.

При виконанні запланованої науково-дослідної роботи дослідники зобов'язуються дотримуватись правил техніки безпеки у хімічних лабораторіях. Дослідження з використанням лабораторних мишей будуть проведені з дотриманням біоетичних норм, прийнятих в Україні і країнах Європейського Союзу. Під час аналізу отриманих результатів дослідники зобов'язуються проводити статистичну оцінку достовірності різниці або кореляції отриманих числових даних.

## **10. Наукові (науково-технічні) результати, що очікуються за основними етапами та роботою в цілому**

Головним результатом виконання запланованого проекту буде посилення дії біологічно активних речовин природного походження (берберин, сангвінарин і хелеритрин) на пухлинні клітини тварин (у дослідях *in vitro* та *in vivo*) і людини (у дослідях *in vitro*). Це посилення буде досягнене: 1) через ковалентну модифікацію їхньої структури шляхом приєднання залишків різних жирних кислот, що підвищить цитотоксичну дію досліджуваних алкалоїдів; 2) через їхнє нековалентне комплексування синтетичними поверхнево-активними полімерами із розгалуженою структурою та аніонними ланцюгами поліетиленгліколю, що забезпечить набуття алкалоїдами розчинності у водних середовищах. Подібні алгоритми модифікації біологічної активності (модифікація шляхом ковалентного приєднання залишків жирних кислот чи фосфоліпідів чи шляхом нековалентного комплексування із синтетичними полімерами для створення водорозчинних форм водонерозчинних речовин) будуть застосовані під час дослідження інших речовин із потенційною лікувальною дією (наприклад, нерозчинний у воді антибіотик ландомицин А з протипухлинною дією).

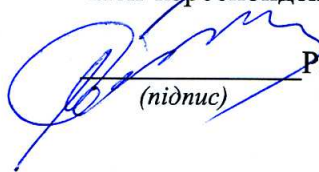


## 11. Перелік науково-технічної та іншої документації, що надається по завершенню роботи

Звіт про виконання наукового проекту; кошторис фактичних витрат із розрахунками за статтями; перелік статей накладних витрат. На підставі отриманих результатів будуть опубліковані статті в журналах, що входять до наукометричної бази даних Scopus, до переліку фахових видань України і мають ISSN, а також будуть зроблені доповіді на міжнародних та вітчизняних науково-практичних конференціях і будуть опубліковані тези цих конференцій. Крім того, будуть опубліковані розділи у міжнародних монографіях. Заплановано також подати заявку на Патент України на винахід і заявку на Патент Китайської Народної Республіки (на ковалентно модифіковані похідні берберину).

Науковий керівник роботи

Завідувач відділу  
Інституту біології клітини НАН України  
член-кореспондент НАН України



Ростислав СТОЙКА

(підпис)

Планова калькуляція кошторисної вартості наукової (науково-технічної) роботи

«Посилення біологічної активності *in vitro* та *in vivo* берберин-подібних алкалоїдів  
шляхом їх ковалентної і нековалентної модифікації»

на 2020 рік

Термін виконання роботи: початок — 01.04.2020 р., закінчення — 31.12.2024 р.

№ з/п	Найменування статей витрат	КЕКВ	Сума, тис. грн.
1	Заробітна плата	2111	100,000
2	Нарахування на оплату праці	2120	22,000
3	Предмети, матеріали, обладнання та інвентар	2210	40,000
4	Оплата послуг (крім комунальних)	2240	2,000
5	Видатки на відрядження	2250	4,000
6	Оплата водопостачання та водовідведення	2272	8,000
7	Оплата електроенергії	2273	40,000
8	Оплата природного газу	2274	24,000
<b>Разом:</b>			<b>240,000</b>
в т.ч. накладні витрати			18,500
% їх до основної заробітної плати			20,0%

УСТАНОВА-ВИКОНАВЕЦЬ:



Директор  
Інституту біології клітини НАН України  
академік НАН України

\_\_\_\_\_ Андрій СИБІРНИЙ  
(підпис)

М.П.

Науковий керівник роботи  
Завідувач відділу  
Інституту біології клітини НАН України  
член-кореспондент НАН України

\_\_\_\_\_ Ростислав СТОЙКА  
(підпис)