

Д.С. Третьякова, Е.Л. Водовозова

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ СТАБИЛИЗИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛИПОСОМ, НЕСУЩИХ В БИСЛОЕ ЛИПОФИЛЬНОЕ ПРОЛЕКАРСТВО МЕЛФАЛАНА

ФГБУН Институт биоорганической химии им. акад.

М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Введение. Липосомы применяют для доставки лекарственных молекул к пораженным органам и тканям. Они наиболее био- и гемосовместимы среди других систем доставки, но, как и все наночастицы, при попадании в кровотока липосомы покрываются белковой короной. Ассоциированные белки могут привести к дестабилизации липосом, изменению их биораспределения, узнаванию иммунной системой и выведению из кровотока. Для защиты поверхности наночастицы покрывают высокогидратируемыми соединениями.

Цель исследования — установить влияние структуры стабилизирующих компонентов бислоя, призванных уменьшать связывание белков, на устойчивость липосом в сыворотке.

Материалы и методы. Методом экструзии через поры 100 нм готовили 2 серии липосом, несущих в бислое липофильное пролекарство мелфалана и защитные молекулы — фосфатидилинозит (PI) 10 %, ганглиозид GM12 и 10 %, СООН-пептидолипид 2 и 10 %, ПЭГ-липид 2 и 10 % — в матрице из яичного фосфатидилхолина. В 1-й серии во внутренний водный объем включали раствор кальцеина в самозатухающей концентрации 80 мМ (после экструзии освобождались от невключившегося кальцеина геле-фильтрацией на колонке с Sephadex G-50). Вторая серия содержала FRET-пару (fluorescence resonance energy transfer) флуоресцентных фосфолипидных зондов (TMB-BSNB) в бислое. Аликвоты липосом инкубировали в буфере PBS и 80 % сыворотке в течение суток. В различные промежутки времени регистрировали сигнал флуоресценции (кальцеин: $\lambda_{ex} = 485$ нм, $\lambda_{em} = 517$ нм; TMB-BSNB: $\lambda_{ex} = 470$ нм, $\lambda_{em} = 505$ нм). Сигнал нормировали на максимум разгорания образца при добавлении детергента TritonX100.

Результаты. Липосомы с PI показали высокую стабильность (вытекание кальцеина < 5 % от максимального) в первые 5 ч инкубации, а липосомы с 2 % GM1 или 2 % СООН-пептидолипида — в течение всего времени инкубации. При повышении содержания GM1 или СООН-пептидолипида до 10 % после изначального резкого вытекания кальцеина (более 50 %) наблюдался выход на плато. Вероятная причина — дестабилизация бислоя за счет электростатических взаимодействий белков с жестким отрицательно заряженным каркасом на поверхности липосом и образование в бислое микроканалов в ходе перераспределения электронной плотности и латеральной диффузии липидов. Тем не менее, по данным FRET, включение именно 10 % пептидолипида приводило к наименьшему связыванию белков. Включение ПЭГ-липида уменьшало связывание белков, однако не увеличивало стабильности бислоя: последовательные всплески и затухания флуоресценции кальцеина могут свидетельствовать о выходе молекул ПЭГ-липида из жидкого бислоя липосом и формировании отдельных мицелл с компонентами бислоя.

Заключение. В случае включения в бислое из яичного фосфатидилхолина пролекарства мелфалана для стабилизации липосом можно использовать PI, GM1 и СООН-пептидолипид, причем последний — наилучшая защита от опсонизации.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-01585.

И.Д. Трещалин¹, В.А. Голибродо¹, М.И. Трещалин¹, Н.В. Еремкин¹, Е.В. Возняковская¹, Т.Б. Переверзева¹, С.А. Цуркан², Э.Р. Переверзева¹

ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА АИМПИЛА В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ

¹ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», Москва, Россия;

²ООО «ФНЦ «ФармАксесс», Москва, Россия

Введение. Высокая специфичность альфафетопротеина (АФП) по отношению к опухолевым клеткам, несущим рецепторы к АФП, послужила основой для его использования в качестве средства направленной доставки противоопухолевых лекарств. Препарат аимпила (А), разработанный в ООО «ФНЦ «ФармАксесс», представляет собой нековалентный комплекс свиного АФП с атрактилозидом — гликозидом, ингибирующим транслоказу адениновых нуклеотидов и вызывающим тем самым апоптоз злокачественных клеток. В экспериментах на мышах с перевиваемыми опухолями показана высокая противоопухолевая активность данной фармакологической композиции. Для продвижения препарата необходимо изучение его токсических свойств на различных моделях.

Цель исследования — оценка общетоксических свойств препарата А при хроническом введении крысам.

Материалы и методы. В эксперименте использовали 60 беспородных крыс, самцов и самок. Препарат в лекарственной форме в виде взвеси капсульной массы в крахмальном геле вводили перорально ежедневно в течение 30 дней в разовых дозах, составляющих 1 (0,1 мг/кг) и 10 (1 мг/кг) терапевтических доз (ТД). ТД для крыс рассчитана исходя из эффективной ТД для мышей с использованием коэффициента поверхности тела. На 1-е и 30-е сутки по окончании курса введений животных подвергали эвтаназии. Клинические и патоморфологические исследования проводили в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств.

Результаты. При применении А в 1 ТД токсических свойств препарата не выявлено. При 10-кратном превышении ТД обнаружены обратимые изменения структуры миокарда. Гепатотоксичность А проявилась как клинически (повышение активности АСТ), так и морфологически только по окончании курса введений и была обратимой. При патоморфологическом исследовании найдены повреждения канальцевой и клубочковой систем почек. При этом изменения структуры извитых канальцев были полностью обратимыми, тогда как повреждение отдельных клубочков завершалось рубцеванием. Признаки панкреатоксического действия А выразились в нарушении гемодинамики в островках Лангерганса. Повреждения в экзокринной части железы найдены только у одного животного через месяц после окончания курса введений препарата. Выявленные изменения не зависели от пола животных.