



ISSN 1726-9784

Российский Биотерапевтический Журнал

Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal

Материалы XV Всероссийской научно-практической конференции имени А.Ю. Барышникова

**«НОВЫЕ ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ
И МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ: ПРОБЛЕМЫ, ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ»**

Москва
29–30 марта
2018 г.



**Russian Journal
of Biotherapy**

СПЕЦВЫПУСК

ТОМ 17 2018

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

С 2016 года журнал зарегистрирован в CrossRef, статьи индексируются с помощью цифрового идентификатора DOI.

Российский Биотерапевтический Журнал

Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

УЧРЕДИТЕЛИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научно-исследовательский институт экспериментальной диагностики и терапии опухолей

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

З.С. Шпрах, канд. фарм. наук

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

А.В. Караулов, академик РАН, д-р мед. наук, проф.;

М.А. Барышникова, канд. фарм. наук

РЕДКОЛЛЕГИЯ

И.А. Балдуева, д-р мед. наук (Санкт-Петербург, Россия); **О.А. Бочарова**, д-р биол. наук, проф.

(Москва, Россия); **Н.Д. Бунятян**, д-р фарм. наук, проф. (Москва, Россия); **А.К. Голенков**, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия); **М.И. Давыдов**, д-р мед. наук, проф., академик РАН (Москва, Россия);

Л.В. Демидов, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия); **М.В. Дмитриева**, канд. фарм. наук, *ответственный секретарь* (Москва, Россия); **И.В. Евсегнеева**, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия); **П.К. Иванов**,

д-р мед. наук (Москва, Россия); **З.Г. Кадагидзе**, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия); **В.П. Краснов**, д-р хим. наук, проф. (Екатеринбург, Россия); **И.Ю. Кубасова**, канд. мед. наук (Москва, Россия);

И.Г. Меерович, канд. биол. наук (Омаха, Небраска, США); **А.В. Мисюрин**, канд. биол. наук (Москва, Россия); **И.Р. Набиев**, д-р хим. наук, проф. (Реймс, Франция); **В.В. Новиков**, д-р биол. наук, проф.

(Нижний Новгород, Россия); **Н.А. Оборотова**, д-р фарм. наук, проф. (Москва, Россия); **А.Ю. Петров**, д-р фарм. наук, проф. (Екатеринбург, Россия); **Н.Я. Рапопорт**, д-р хим. наук, проф. (Солт-Лейк-Сити, Юта, США);

Н.С. Сергеева, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия); **Е.В. Степанова**, д-р мед. наук (Москва, Россия); **Н.Н. Тупицын**, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия); **Ю.В. Шишкин**, д-р мед. наук,

проф. (Москва, Россия); **И.Ж. Шубина**, д-р биол. наук (Москва, Россия); **И.В. Уласов**, д-р биол. наук (Сиэтл, США); **Р.И. Якубовская**, д-р биол. наук, проф. (Москва, Россия)

ТОМ 17

2018

ОСНОВАН В 2002 Г.

СПЕЦВЫПУСК

115478 Москва, Каширское ш., 24
ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
НИИ экспериментальной
диагностики и терапии опухолей
Тел.: +7 (499) 324-10-65,
+7 (499) 612-81-92;
факс +7 (499) 324-22-74

E-mail: bioterapy_rbj@mail.ru
rbjournal@ronc.ru

Адрес редакции:
115478, Москва, Каширское шоссе, 24,
стр. 15, НИИ канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел./факс: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru

Редактор В.Е. Ефремова
Корректор А.В. Лукина
Дизайн Е.В. Степанова
Верстка О.В. Гончарук

*Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций.
Регистрационный номер: № 77-11695
от 21.01.2002 г., ПИ № ФС77-53039 от
04.03.2013 г.*

*При полной или частичной перепечатке
материалов ссылка на журнал
«Российский биотерапевтический
журнал» обязательна.*

ISSN 1726-9784
Российский биотерапевтический
журнал. 2018. Том 17.
Спецвыпуск. 1–91
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2018
Подписной индекс в каталоге
агентства «Роспечать» – 81679
Отпечатано в типографии
ООО «Медиаколор»
Тираж 1000 экз.
<http://bioterapevt.elpub.ru/jour/index>

МАТЕРИАЛЫ XV ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ИМЕНИ А.Ю. БАРЫШНИКОВА «НОВЫЕ ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ И МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ: ПРОБЛЕМЫ, ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ»

*Г.М. Аверочкин¹, А.И. Соколов¹, А.А. Выговский¹,
Н.С. Воробьева², А.В. Финько¹, Е.К. Белоглазкина¹,
Н.В. Зык¹, А.Г. Мажуга^{1,3}*

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ 2-ТИОГИДАНТОИНА – ИНГИБИТОРОВ АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА

¹Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия;

²НИТУ «МИСиС», Москва, Россия;

³РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. Рак предстательной железы является причиной почти 10 % смертей от рака у мужчин и одной из главных причин смерти у пожилых мужчин. В США рак предстательной железы является 1-м по распространенности и 2-й по частоте причиной смерти от злокачественных опухолей. Андрогены, такие как тестостерон и дигидротестостерон, играют важную роль в развитии и прогрессировании рака предстательной железы: они действуют как факторы роста, стимулируя деление клеток и рост тканей. Одним из методов гормональной терапии служит применение антагонистов андрогенового рецептора (androgen receptor, AR). В последнее время особое внимание привлекают нестероидные антиандрогены нового поколения: соединения тиогидантоинового ряда, такие как энзалутамид. В нашей лаборатории ранее были получены производные 2-тиогидантоина с ароматическими заместителями на атоме серы, ориентированные на ингибирование MDM2-рецептора. Методом молекулярного докинга было показано, что подобные соединения без ароматического заместителя на атоме азота могут проявлять антиандрогеновые свойства.

Цель исследования. Синтез различных диарилтиогидантоинов с помощью реакции с ароматическими иодидами. Проведение биологических исследований *in vitro*.

Материалы и методы. Структуры полученных соединений были установлены с помощью комплекса физико-химических методов (ЯМР, ИК, масс-спектрокопия, в случае необходимости – РСА). Цитотоксичность синтезированных ингибиторов была определена с помощью стандартного МТТ/MTS-теста на различных клеточных линиях.

Результаты. Был разработан синтетический метод получения производных 2-тиогидантоина с использованием медного катализа и ароматических галогенидов. Получена библиотека нового класса соединений с различными заместителями. Исследование цитотоксичности проводили на клеточных линиях LNCaP (AR⁺), PC-3 (AR⁻) и LECN-4. Значения IC₅₀ для 2 соединений-лидеров составили на LNCaP (AR⁺) 70 и 670 нМ при отсутствии цитотоксичности на клетках PC-3 и LECN-4.

Заключение. Показатели IC₅₀ энзалутамида в МТТ-тесте на культурах раковых клеток предстательной железы составляют: 11,7 мкМ (LNCaP) и 35,2 мкМ (PC-3) по данным литературы, 56 мкМ (LNCaP) и >100 мкМ (PC-3) – в эксперименте. Клетки LNCaP экспрессируют AR в большом количестве, в то время как клетки PC-3 – практически нет. Сравнение данных биологического исследования соединений-лидеров и энзалутамида говорят в пользу того, что полученные в настоящей работе вещества проявляют лучшую активность и селективность действия на AR. Планируются дальнейшие доклинические испытания для подтверждения механизма действия ингибиторов.

С.Т. Адлейба, Л.М. Когония, В.С. Мазурин ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДИКИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ С ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫМИ СТРОМАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ

ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского»,
Москва, Россия

Цель исследования. Увеличение эффективности лечения иматинибом у пациентов с локализованными и генерализованными формами гастроинтестинальной стромальной опухоли (ГИСО) путем индивидуализации режима лекарственной терапии с учетом концентрации активных метаболитов иматиниба в плазме крови больных.

Материалы и методы. Пациентам с морфологически верифицированным диагнозом ГИСО проводили терапию иматинибом в дозе 400 мг/сут перорально ежедневно. Исследование концентрации активных метаболитов иматиниба в плазме крови больных проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с детекцией методом тандемной масс-спектрометрии. Пациентам, в крови которых уровень активных метаболитов был ниже терапевтического, выполняли эскалацию суточной дозы иматиниба до 600 или 800 мг с последующей оценкой эффективности оптимизации методики лекарственной терапии.

Результаты. С сентября 2010 г. по май 2016 г. исследование было проведено 71 пациенту. Медиана общей выживаемости у больных с локализованными формами заболевания составила 48 мес при медиане прослеженности 13 мес. В этой группе пациентов средняя продолжительность жизни составила 19,5 мес. Медиана общей выживаемости у больных с генерализованными формами заболевания составила 83,3 мес при медиане прослеженности 30,7 мес. В этой группе пациентов средняя продолжительность жизни составила 43,6 мес. Медиана безрецидивной выживаемости у больных с локализованными формами заболевания составила 42 мес при медиане

прослеженности 13 мес. В этой группе пациентов средний безрецидивный период соответствовал 15,4 мес. Медиана безрецидивной выживаемости больных с генерализованными формами заболевания составила 79,9 мес при медиане прослеженности 24 мес. Такая разница показателей продолжительности жизни в этих группах может объясняться тем, что время наблюдения за пациентами с генерализованными формами ГИСО составляет 8 лет, а за пациентами с локализованными формами заболевания — 5 лет.

Заключение. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии с детекцией методом тандемной масс-спектрометрии для определения концентрации активных метаболитов иматиниба в плазме крови больных с ГИСО позволяет повысить эффективность терапии, тем самым увеличивая продолжительность жизни пациентов.

Д. В. Андреева^{1,2}, А. С. Тихомиров^{1,2}, Ю. Б. Синькевич², Л. Г. Деженкова¹, А. Е. Щекотихин^{1,2}

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ АНАЛОГИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АНТРАФУРАНДИОНОВ

¹ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия;

²РХТУ им. Д. И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. Амиды антрафуран-3-карбоновой кислоты проявляют высокую противоопухолевую активность и являются перспективным классом для разработки новых лекарственных средств. Наиболее активный антрафуран ЛХТА-2034 (Щекотихин А. Е. и др. Патент РФ № 2554939 (2015)) рекомендован для проведения клинических испытаний.

Цель исследования. Биоизостерная модификация гетероциклического ядра производных антрафурандиона в антрадиофен-3-карбоксамиды для анализа влияния гетероатома на величину антипролиферативной активности.

Материалы и методы. Новые антрадиофен-3-карбоксамиды были получены конденсацией антра[2,3-*b*]тиофен-3-карбоновой кислоты с аминами. Цитотоксичность полученных соединений определяли в МТТ-тесте на линиях клеток миелоидного лейкоза человека K562 и резистентной сублинии K562/4 (с экспрессией Pgp), а также на клетках карциномы кишки НСТ-116 и сублинии НСТ-116 с делецией гена *p53*.

Результаты. Полученные антрадиофен-3-карбоксамиды ингибируют пролиферацию указанных клеток в интервале от низких микромолярных до субмикромолярных концентраций, преодолевая оба механизма лекарственной устойчивости. Большинство новых соединений характеризуются меньшей цитотоксичностью, чем фурановое производное ЛХТА-2034. Наиболее активные соединения, содержащие 3- и 4-аминопиперидиновый остаток в карбоксамидном фрагменте, сопоставимо с ЛХТА-2034 блокируют рост опухолевых клеток в концентрациях $IC_{50} = 0,5-1,0$ мкМ.

Заключение. Замена атома кислорода на серу в гетероциклическом ядре приводит к незначительному снижению антипролиферативных свойств. Тем не менее, в отличие от фуранов, в серии антрадиофен-3-карбоксамидов производные, содержащие 6-членный циклический диамин,

оказались активнее, чем соединения, замещенные 5-членным аналогом.

Химическая часть исследований выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ для молодых ученых МК-2474.2018.3.

А. А. Арефьева¹, Т. А. Богуш², С. А. Калужный², О. М. Рябинина², А. Н. Гришанина², Е. А. Богуш², С. Д. Коломийцев², Н. О. Вихлянцева²

ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЙ ПЕРЕХОД В ПРОГНОЗЕ БЕЗРЕЦИДИВНОГО ПЕРИОДА ПОСЛЕ 1-Й ЛИНИИ СТАНДАРТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ СЕРОЗНЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

¹МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Ранее мы выявили различия в уровне эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) в опухоли между группами больных с клинически диагностированной чувствительностью к 1-й линии стандартной платиносодержащей химиотерапии рака яичников (РЯ). Маркером ЭМП, который ассоциирован с повышением метастатического потенциала и с резистентностью эпителиальных опухолей к химиотерапии, служил уровень *de novo* экспрессии мезенхимального белка виментина (Вим).

Цель исследования. Основываясь на результатах количественной оценки экспрессии Вим в клетках РЯ, оценить вклад этого маркера ЭМП в прогноз эффективности препаратов платины и таксанов по показателю безрецидивного периода (БРП) заболевания после завершения 1-й линии стандартной химиотерапии с включением этих лекарств.

Материалы и методы. Проведена корреляция данных иммунофлуоресцентного анализа уровня ЭМП в ткани серозного РЯ 56 больных с БРП после 1-й линии платиносодержащей химиотерапии. Использован метод двойного флуоресцентного анализа и проточной цитофлуориметрии для выявления эпителиальных клеток, коэкспрессирующих цитокератины и мезенхимальный белок Вим (ЦК/Вим). Показатель уровня ЭМП в опухоли — доля клеток, экспрессирующих ЦК/Вим, относительно общего числа исследованных клеток (%). Для оценки прогностической значимости ЦК/Вим проводили деление на группы с высоким и низким уровнем маркера в соответствии с медианой показателя по группе. Для статистического анализа различий в БРП болезни использовали метод Каплана–Мейера. Период наблюдения — 43 мес.

Результаты. Медиана уровня экспрессии ЦК/Вим, которая является общепринятой границей деления опухолей на подгруппы с низким и высоким уровнем экспрессии маркера, составила 42 %. При этом порог деления БРП в подгруппах с низкой и высокой экспрессией ЦК/Вим составил 7 и 18 мес соответственно ($p = 0,0258$). При смещении порога деления на подгруппы по уровню ЭМП в меньшую — до 30 % и в большую сторону — до 50 %, статистически значимым показателем экспрессии Вим оказался уровень 35 %, при котором БРП составил 8 и 26 мес соответственно ($p = 0,0423$).

Заключение. Выявлена значимость уровня ЭМП в клетках РЯ в прогнозе БРП после завершения 1-й линии стандартной платиносодержащей химиотерапии. Диапазон уровней ЦК/Вим от 35 до 42 % является наиболее достоверным порогом деления показателей экспрессии маркера на группы чувствительных и резистентных опухолей.

А. В. Асатурова

НАРУШЕНИЕ СООТНОШЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ КОМПОНЕНТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ В ПАТОГЕНЕЗЕ СЕРОЗНЫХ КАРЦИНОМ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В. И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования. Изучить частоту возникновения вариантов экспансии секреторных клеток эпителия маточной трубы при патологии органов репродуктивной системы, определить их иммунофенотип и биологическую роль на ранних этапах патогенеза серозных карцином яичника высокой степени злокачественности (СКЯВСЗ).

Материалы и методы. В исследование включены 287 пациенток с экстраяичниковой патологией и серозными опухолями яичника разной степени злокачественности, маточные трубы которых исследованы морфологически и иммуногистохимически (с маркерами p53, Ki-67, PAX2, Vcl-2, beta-catenin, ALDH1). Статистическая обработка материала выполнена с использованием критериев Манна–Уитни и χ^2 .

Результаты. Частота возникновения пролиферации секреторных клеток (>10 секреторных клеток подряд, ПСК) и разрастания секреторных клеток (>30 секреторных клеток подряд, РСК) увеличивается с возрастом при всех изученных патологиях репродуктивной системы. В фимбриальном отделе частота ПСК в маточных трубах пациенток с СКЯВСЗ в 5,9 раза выше, чем у пациенток с экстраяичниковой патологией ($p < 0,01$), а частота РСК – в 3,4 раза выше ($p < 0,05$). Иммуногистохимическая характеристика изученных поражений была следующей (в баллах): экспрессия PAX2 составила в нормальном эпителии 2,8; в ПСК – 1,3; в РСК – 1,2; в серозных трубных интраэпителиальных карциномах (СТИК) – 1,0; в СКЯВСЗ – 0,9. Экспрессия Vcl-2 составила в нормальном эпителии 2,2; в ПСК 2,1; в СТИК – 0,9; в СКЯВСЗ – 0,6. Экспрессия beta-catenin составила в нормальном эпителии 0,5; в ПСК – 2,85; в РСК – 2,95; в СТИК – 0,6; в СКЯВСЗ – 0,5. Экспрессия ALDH1 составила в нормальном эпителии 0,5; в ПСК – 2,91; в РСК – 2,92; в СТИК – 1,2; в СКЯВСЗ – 0,6. Статистически значимые различия с доверительным интервалом 95 % ($p < 0,05$) были выявлены: 1) в отношении PAX2 между нормальным эпителием и патологией (поражениями маточной трубы и СКЯВСЗ); 2) в отношении Vcl-2 – между нормальным эпителием и экспансией секреторных клеток (ПСК и РСК), а также между экспансией секреторных клеток и СКЯВСЗ; 3) в отношении beta-catenin – между нормальным эпителием и экспансией секреторных клеток (ПСК и РСК), а также между экспансией секреторных клеток и СКЯВСЗ; 4) в отношении ALDH1 – между нормальным эпителием и экспансией секреторных клеток, между

экспансией секреторных клеток и СТИК, а также между СТИК и СКЯВСЗ.

Заключение. Нами было показано, что пролиферация секреторных клеток является самостоятельным интраэпителиальным поражением. Частота данного поражения увеличивалась с возрастом, а также достоверно различалась между маточными трубами при экстраяичниковой патологии и злокачественных серозных опухолях яичника (в 6 раз), при этом по разрастанию секреторных клеток данные группы различались в 3 раза. Таким образом, пролиферация секреторных клеток может служить более чувствительным маркером ранних этапов патогенеза серозной карциномы яичника. Для изученных типов экспансии секреторных клеток были также продемонстрированы множественные молекулярные события (утрата экспрессии PAX2, усиление экспрессии Vcl-2, beta-catenin и ALDH1), некоторые из которых претерпевали значительные изменения с усилением тяжести патологического процесса (утрата экспрессии ALDH1, beta-catenin, Vcl-2). Таким образом, терапевтическое воздействие на ранних этапах патогенеза может иметь несколько точек приложения и сразу несколько молекул могут служить независимыми маркерами ранних патологических изменений эпителия маточной трубы.

С. Б. Ахметова, И. К. Карилхан, Ж. Т. Амирханова, Р. Б. Абубакирова

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫХ ЛАКТОНОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ НА КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЯХ

Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, Казахстан

Введение. Интерес к биоскринингу на живых клетках – тестам на клетках водорослей, инфузорий, дрожжей, на флуоресцирующих бактериях, грамположительных и грамотрицательных микроорганизмах, а также на культурах клеток – возрастает благодаря поиску альтернатив классическим методикам.

Цель исследования. Оценка биологической активности и суммарных эффектов сесквитерпеновых лактонов и их производных (диэтилфосфит арглабина, диэтиламиноарглабин, диметиламиноарглабин, бромпроизводное арглабина, бромкарбен производное арглабина) на жизнеспособность клеток ювенальных форм (juvenile forms) инфузорий *Paramecium caudatum*, фильтраторов *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia affinis*, а также *Saccharomyces cerevisiae*.

Материалы и методы. Для скрининга на тест-моделях использовали диэтилфосфит арглабина, диэтиламиноарглабин, диметиламиноарглабин, бромпроизводное арглабина, бромкарбенпроизводное арглабина. Тест-объекты *Paramecium caudatum*, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia affinis*, *Saccharomyces cerevisiae* готовили согласно регламентированным нормативным документам по работе с инфузориями, водорослями, светящимися бактериями, где в качестве контроля служили тесты без нагрузки; при оценке выживаемости за единицу принимали число клеток в интактной культуре (без инкубации с арглабином и его производными). Регистрировали гибель клеток, изменение численности клеток в культуре, коэффициент деления клеток, траекторию движения, среднюю скорость роста. Повреждающее действие биологически ак-

тивного вещества зарегистрировано микроскопом с цифровой видеокамерой (14 Мпикс) для микроскопа на USB, подсчитано число клеток, попадающих в поле зрения, синхронно в «секунда-интервале».

Результаты. При инкубации инфузорий в интактных условиях с арглабином и его производными исследуемые соединения не проявили токсического действия, не влияли на рост и жизнеспособность инфузорий, дафний, а также не изменяли скорость их движения, кроме образца бромкарбенпроизводного арглабина. Инфузории, подвергнутые инкубации с бромкарбенпроизводным арглабина, обладали высокой чувствительностью к действию вещества, было зарегистрировано изменение траектории движения по сравнению с интактными клетками. В то же время бромкарбенпроизводное арглабина снижало выживаемость клеток. Степень выживаемости *Paramecium caudatum*, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia affinis* при действии бромкарбенпроизводного арглабина была в 2,2 раза ниже, чем в контроле.

Заключение. Экспериментальные исследования показали, что инфузории *Paramecium caudatum*, клетки *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia affinis*, а также *Saccharomyces cerevisiae* чувствительны для проведения тестов на цитотоксичность.

*А.Л. Баиров¹, Е.А. Саратовских², Н.С. Емельянова²,
Б.Л. Психа², Н.А. Санина²*

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРОЕНИЯ ПРОДУКТОВ РЕАКЦИИ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА – ДОНОРОВ NO – С АДЕНОЗИН-ТРИФОСФОРНОЙ КИСЛОТЫ

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной физико-химической инженерии, Москва, Россия;

²ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия

Введение. Известно, что аденозинтрифосфорная кислота (АТФ) играет исключительно важную роль в обмене энергии и веществ в организмах. АТФ является носителем 2 высокоэнергетических связей и служит универсальным источником энергии для множества биохимических и физиологических процессов. Исследование механизмов регуляции энергетического метаболизма и стабилизация уровня АТФ в клетках при различных формах сердечно-сосудистых заболеваний, заболеваний легких, крови и при процессах старения и ряда других представляет собой актуальную задачу современной биологии и медицины. Нитрозильные комплексы железа – NO-доноры – являются потенциальными лекарственными препаратами, проявляя вазодилатационные, антимагистатические и противоопухолевые свойства.

Цель исследования. Изучение реакционной способности потенциального лекарственного препарата онкологической направленности – нитрозильного комплекса железа с пенициламиновым лигандом (ПЕН) – донора NO, в отношении АТФ методами электронной и ИК-спектроскопии.

Материалы и методы. Использовали АТФ чистоты 99 % (Sigma) без дополнительной очистки. Комплекс ПЕН общей формулы $\{Fe_2[S(C_5H_{11}NO_2)_2(NO)_4]SO_4 \cdot 5H_2O\}$ синтезирован согласно методике (Н.А. Санина и др., 2005).

В реакции использовали эквимольные ($10^{-2}M$) растворы АТФ и ПЕН в бидистиллированной воде. Выпавший в осадок продукт реакции выделяли и дважды промывали бидистиллированной водой. Электронные спектры регистрировали на спектрофотометре Perkin Elmer UV–VIS Spectrometer Lambda EZ 210 (PerkinElmer, США). ИК-спектры образцов исходных веществ и продуктов реакции в диапазоне от 4000 до 40 cm^{-1} регистрировали на ИК-спектрометре VERTEX 70v (Bruker Corporation, США) в сухих порошках под вакуумом.

Результаты. В ИК-спектре исходного комплекса ПЕН сильный дублет 1779 и 1735 cm^{-1} принадлежит валентным колебаниям связи N–O. Их исчезновение в спектре продукта указывает на полное их отщепление в процессе реакции. Группа сильных полос поглощения в спектре исходной АТФ 1704, 1650 и 1603 cm^{-1} мы отнесли к валентным колебаниям связей P=O и P–O–P. В спектре продукта реакции эти полосы сохраняются, что указывает на присутствие в продукте всех 3 фосфорнокислых групп. В продукте реакции появляются новые полосы поглощения. Их мы относим к колебаниям вновь возникающих при образовании продукта реакции связей Fe–N и S–N. Выполненный анализ ИК-спектров подтвержден квантово-механическими расчетами. Таким образом, при взаимодействии с АТФ комплекс ПЕН теряет группы NO, диссоциирует на 2 монокислотных комплекса. Молекула АТФ сохраняет фосфорный «хвост» и связывается с остатками ПЕН за счет аденинового кольца.

Заключение. В результате анализа ИК-спектров исходных веществ и образующегося соединения показано, что в ходе реакции между АТФ и ПЕН возникает новое соединение за счет образования связей Fe–N атома N-7 и S–N терминальной NH_2 -группы аденинового кольца. Предложена гипотетическая схема протекания реакции и строения образующихся продуктов реакции.

*И.А. Балдуева, В.Ф. Семиглазов, Н.П. Пупина,
Т.Л. Нехаева, А.Б. Данилова, Н.А. Авдонкина, А.В. Новик,
С.А. Проценко, Т.Ю. Семиглазова, А.П. Карицкий,
А.М. Беляев*

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ИММУНОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ИСЧЕРПАННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ СТАНДАРТНОГО ЛЕЧЕНИЯ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»

Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Прошедшее десятилетие изучения биологии рака было отмечено растущей оценкой роли иммунитета у больных раком молочной железы (РМЖ). Было показано: 1) мутации в геноме раковой клетки могут привести к экспрессии в опухоли мутантных раково-тестикулярных антигенов (РТА), экспрессия которых подавлена в нормальных тканях, но может aberrантно реэкспрессироваться в опухоли, особенно после нескольких линий лекарственного воздействия; 2) экспрессия РТА коррелирует с неблагоприятным прогнозом, диссеминацией опухоли, поздней стадией болезни; 3) РТА экспрессируются в трижды негативных, люминальных и других биологических подтипах РМЖ; 4) РТА являются чрезвычайно интересной мишенью

для разработки новых методов вакцинотерапии, поскольку их селективная экспрессия в опухоли может минимизировать иммунологическую толерантность и риск аутоиммунных реакций.

Цель исследования. Разработка способа иммунотерапии у больных РМЖ с исчерпанными возможностями стандартного лечения.

Материалы и методы. В исследование после подписания информированного согласия были включены 14 больных. Критерии включения: 1) трижды негативный РМЖ после как минимум 4 линий химиотерапии с включением препаратов платины, таксанов, антрациклинов и фторпиримидинов; 2) люминальные HER2⁻-подтипы РМЖ после как минимум 3 линий гормонотерапии (с включением антиэстрогенов и ингибиторов ароматазы) и как минимум 3 линий химиотерапии; 3) HER2/neu⁺-подтипы РМЖ после прогрессирования на фоне анти-HER2 терапии и после как минимум 3 линий химиотерапии с включением препаратов платины, таксанов, антрациклинов и фторпиримидинов. Критерии проведения иммунотерапии включали представление письменного информированного согласия, возраст старше 18 лет, гистологический подтвержденный диагноз РМЖ, наличие биологического материала для оценки генетических маркеров, объективно оцениваемые опухолевые очаги, функциональный статус 0–1 балл по шкале ECOG, ожидаемая продолжительность жизни не менее 12 нед, прогрессирование после стандартной терапии РМЖ, предшествующее лечение не менее 4 нед, восстановление после нежелательных явлений предшествующего лечения, отсутствие прогрессирующих метастазов в головном мозге (после радио- или хирургического лечения), отсутствие необходимости применения глюкокортикостероидов. Лабораторные показатели: отсутствие признаков токсичности ≥II степени (в том числе лимфопении ≥II степени), допускается повышение трансаминаз II степени при поражении печени, повышение щелочной фосфатазы III степени при поражении костей, снижение гемоглобина II степени (для повышения гемоглобина допустимы гемотрансфузии). Больные получили от 3 до 12 введений аутологичных дендритных клеток, нагруженных РТА. Клиническую эффективность оценивали с помощью системы RECIST 1.1 – набора стандартизированных критериев, используемых для оценки уменьшения размеров опухоли в ответ на проводимую терапию.

Результаты. Получен клинически значимый противоопухолевый эффект у 70 % больных: частичный регресс у 3 (20 %) пациенток, у 2 из них – люминальный В-подтип и у 1 – трижды негативная форма после 7 линий химиотерапии. Стабилизация опухолевого процесса зарегистрирована у 7 (50 %) пациенток: у 5 из них в опухоли экспрессировались рецепторы эстрогена и прогестерона, но эти больные уже были резистентными к эндокринной терапии; 1 больная с трижды негативной формой и 1 пациентка с HER2/neu⁺ РМЖ, с продолжительностью эффекта >10,5 мес. Прогрессирование заболевания отмечено у 4 (30 %) больных: 3 пациенток с люминальными подтипами и 1 пациентки с трижды негативной формой РМЖ. Медиана безрецидивной выживаемости составила 8,3 мес (95 % ДИ 6,5–9,9). Осложнения III–IV степени не

зарегистрированы, осложнения I–II степени отмечены у 57 % пациенток. Иммунологический эффект в лабораторных тестах зарегистрирован у 92 % больных.

Заключение. Аутологичные дендритные клетки, нагруженные РТА, могут рассматриваться в качестве паллиативной иммунотерапии у больных метастатическим РМЖ с исчерпанными возможностями стандартного лечения.

А.А. Башарина^{1,2}, Т.А. Богуш¹, Е.А. Богуш¹, В.Т. Заркуа¹, А.С. Тюляндина¹, С.А. Тюляндин¹

КОЭКСПРЕССИЯ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ α И β В ТКАНИ И КЛЕТКАХ СЕРОЗНОГО РАКА ЯИЧНИКОВ

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Лечение рака яичников (РЯ) требует пересмотра и выбора новых тактик терапии. Одним из перспективных путей решения проблемы является гормональная терапия. Однако, в отличие от рака молочной железы, мишень антиэстрогенов в РЯ до настоящего времени точно не установлена. Ранее мы показали, что в ткани РЯ экспрессируются 2 типа эстрогеновых рецепторов (ЭР) – ЭР α и ЭР β . Возможность их коэкспрессии в разных и/или в одной и той же клетке остается невыясненной, хотя это принципиально важно для дальнейшего выяснения клинической значимости ЭР α и ЭР β в прогнозе эффективности гормональной терапии РЯ.

Цель исследования. Ответить на ряд вопросов: каковы частота и уровень экспрессии ЭР α и ЭР β в ткани РЯ и возможна ли коэкспрессия ЭР α и ЭР β в разных и/или одних и тех же клетках новообразования.

Материалы и методы. Исследование проведено на 74 образцах серозного РЯ с использованием иммунофлуоресцентного анализа и проточной цитофлуориметрии. В работе использованы первичные и вторичные антитела фирмы Abcam: для ЭР α – клон SP1 и ab98510; для ЭР β – клон 14C8 и ab98729. Для оценки частоты и уровня коэкспрессии в опухоли ЭР α и ЭР β проведена окраска антителами к ЭР α или к ЭР β разных аликвот суспензии клеток из одного и того же образца опухоли (одиночное окрашивание). Для выявления коэкспрессии ЭР α и ЭР β в одной и той же клетке проведено последовательное окрашивание антителами к ЭР α и ЭР β одной и той же аликвоты суспензии клеток (двойное окрашивание). Количественную оценку специфически окрашенных клеток проводили в программе FlowJo 10.0.8.

Результаты. Коэкспрессия ЭР α и ЭР β выявлена во всех исследуемых опухолях, со средним значением уровней маркеров и стандартным отклонением $26,8 \pm 13,4$ и $43,9 \pm 12,2$ % соответственно. Можно сделать вывод, что средний уровень ЭР β в целом по опухоли более чем в 1,5 раза превышает данный показатель для ЭР α . Более того, всего в 7 (9,5 %) из 74 образцов опухолей уровень экспрессии ЭР α был выше уровня экспрессии ЭР β .

При двойном флуоресцентном окрашивании суспензий клеток РЯ показано, что ЭР α и ЭР β могут коэкспрессироваться в одних и тех же клетках. Причем наблюдается

внутриопухолевая гетерогенность, то есть встречаются клетки, содержащие не только ЭРа или ЭРβ, но и оба рецептора.

Заключение. Учитывая разнонаправленный вклад ЭРа и ЭРβ в реализацию пролиферативных стимулов, важным прогностическим показателем агрессивности РЯ и чувствительности к антиэстрогенам может быть не только уровень одиночной экспрессии ЭРа и ЭРβ в опухоли, но и уровень их коэкспрессии как в опухоли, так и в одних и тех же клетках.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (гранты № 15-04-06991_а, 16-34-01049_мол_а), а также грантом Президента РФ МК-7709.2016.7.

А.Ю. Белик¹, В.И. Кукушкин², А.Ю. Рыбкин¹, Н.С. Горячев¹, Д.А. Полетаева¹, В.Ю. Кузнецов^{1,3}, О.А. Краевая¹, П.А. Михайлов⁴, П.А. Трошин^{1,5}, А.И. Котельников¹

РАЗРАБОТКА МЕТОДА СПЕКТРОСКОПИИ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ И ПОВЕРХНОСТНО-УСИЛЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНОВ И ИХ ДИАД С ХЛОРИНОМ E6

¹ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия;

²ФГБУН ИФТТ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия;

³МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

⁴ФГБУН «ИНХС им. А.В. Топчиева РАН», Москва, Россия;

⁵Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

Введение. Водорастворимые производные фуллеренов (ВПФ) имеют широкий спектр биологической активности и являются перспективными с точки зрения создания на их основе лекарственных препаратов. В ИПХФ РАН разработаны методы синтеза различных ВПФ C₆₀, а также водорастворимых ковалентных диад ВПФ–краситель. В предыдущих работах была показана перспективность использования таких диад в качестве высокоэффективных фотосенсибилизаторов для применения в фотодинамической терапии. В связи с этим разработка методов детектирования таких наночастиц в тканях организма является актуальной задачей биологии и фундаментальной медицины. Известно, что фуллерены обладают невыраженным спектром поглощения в УФ-области и не проявляют флуоресцентных свойств, что затрудняет их детектирование наиболее традиционными спектральными методами. Флуоресценция красителей, входящих в структуру диад ВПФ–краситель, практически полностью потушена и также трудно детектируема. Одним из путей решения данной проблемы является использование явлений гигантского комбинационного рассеяния (метод поверхностно-усиленной Рамановской спектроскопии, surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS) и поверхностно-усиленной флуоресценции (surface-enhanced fluorescence, SEF).

Цель исследования. Исследование спектров SERS и спектров SEF хлорина e₆ и водорастворимых ковалентных диад фуллерен–хлорин.

Материалы и методы. Водорастворимые диады и исходные полизамещенные ВПФ синтезированы в ИПХФ РАН, структура соединений доказана методами ИК- и УФ-спектроскопии, спектроскопии ядерного магнитного резонанса на ядрах ¹H и ¹³C и электроспрей масс-спектрометрии. Для регистрации спектров SERS и SEF исследуемых веществ использовались оригинальные подложки Ин-Спектр SERS, в которых поверхностным слоем служило nanoостровковое серебро.

Результаты и заключение. В настоящей работе методы SERS и SEF впервые применены для детектирования ВПФ и их диад с хлорином e₆ в воде. Показано, что хлорин e₆ и ковалентные диады фуллерен–хлорин обладают близкими по структуре характерными спектрами SERS. У диад фуллерен–хлорин наблюдается выраженный сигнал SEF, тогда как у свободного хлорина e₆ флуоресценция SEF отсутствует, что согласуется с теорией, предсказывающей обратную зависимость интенсивности SEF от квантового выхода обычной флуоресценции. Концентрационная зависимость интенсивности SEF линейна для исследуемых диад в диапазоне 0,1–2,0 мкМ. Эти эффекты позволяют с высокой чувствительностью определять содержание исследуемых соединений, обладающих малым квантовым выходом для обычной флуоресценции в растворах.

Исследования поддержаны Программой Президиума РАН № 1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий», гос. заданием ФАНО (№ гос. регистрации 01201361875) и грантом РФФИ № 18-34-00607 мол_а.

А.П. Бер, А.Э. Мачулкин, М.В. Ковальчук, Н.С. Воробьева, Е.К. Белоглазкина, С.В. Ковалев, В.Э. Котельянский, А.Г. Мажуга

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ КОНЬЮГАТОВ ПАКЛИТАКСЕЛА НА ОСНОВЕ ИНГИБИТОРА ПРОСТАТИЧЕСКОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО МЕМБРАННОГО АНТИГЕНА ДЛЯ ТЕРАПИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. В 2012 г. рак предстательной железы (РПЖ) был 2-м по распространенности злокачественным новообразованием среди мужского населения (1,1 млн новых случаев). Широкий спектр методов лечения заболевания, таких как радикальная простатэктомия, лучевая терапия, гормональная терапия и химиотерапия, не позволяет проводить эффективное лечение опухолей, имеющих метастазы. Помимо этого, многие методы обладают различными побочными эффектами. В качестве одного из решений данной проблемы выступает направленная доставка противоопухолевых препаратов. В клетках РПЖ наблюдается повышенная экспрессия простатического специфического мембранного антигена (ПСМА) по сравнению со здоровыми клетками. Существует ряд низкомолекулярных лигандов, обладающих высокой аффинностью к ПСМА.

Цель исследования. Разработка конъюгатов противоопухолевого препарата паклитаксел с рядом лигандов, специфично связывающихся с ПСМА. Связь терапевтического агента и лиганда осуществлялась посредством углеродного линкера, который обеспечивает высвобождение лекарства внутри клетки. Часть лигандов содержали

N-галогенбензильный заместитель при атоме азота лизина. Вектор с линкером соединялись амидным или мочевиным фрагментом. Сшивка противоопухолевого агента и вектора с линкером осуществлялась посредством 1,3-диполярного циклоприсоединения с образованием 1,4-дизамещенного 1,2,3-триазола.

Материалы и методы. Все полученные вещества были охарактеризованы спектроскопией ЯМР ^1H и ^{13}C . Чистота конъюгатов подтверждалась с помощью метода ВЭЖХ/МС. Также конечные соединения были протестированы *in vitro* и *in vivo*.

Результаты. Была синтезирована серия из 11 конъюгатов, и проведены *in vitro* испытания на клеточных линиях РПЖ LNCaP (ПСМА⁺) и РС3 (ПСМА⁻). Конъюгаты показали токсичность, близкую к паклитакселу, но некоторые из них имели низкую избирательность по отношению к ПСМА-экспрессирующим клеткам. Также были проведены *in vivo* испытания для 2 конъюгатов. Соединения показали способность ингибировать рост опухоли, сопоставимую с оригинальным препаратом.

Заключение. Были синтезированы 11 конъюгатов, строение которых подтверждено спектрами ^1H и ^{13}C ЯМР, МС высокого разрешения. Чистота соединений была подтверждена методом ВЭЖХ/МС. Также были проведены биологические испытания *in vitro* и *in vivo*.

Ю.В. Берсенева¹, Ф.А. Ибрагимов¹, Ю.Ю. Ассесорова², Ш.Н. Мусаева²

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ γ -ОБЛУЧЕНИЯ И ПРЕПАРАТА СОЯФЛАН, ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

¹ИБОХ АН РУз, Ташкент, Узбекистан;

²РОНЦ МЗ РУз, Ташкент, Узбекистан

Введение. Лучевая терапия сопровождается проявлением ряда тяжелых побочных действий, самыми значимыми из которых являются нарушение кроветворения и дестабилизация иммунной системы организма. Решение данной проблемы лежит в применении средств, нивелирующих или снижающих негативные последствия γ -облучения для организма. В Институте биоорганической химии АН РУз получена стандартизированная комбинация полипептидов из сои с молекулярной массой 12,5–79,0 кДа, богатая изофлавонами, – препарат сояфлан.

Цель исследования. Сравнительная оценка противоопухолевой активности γ -облучения и препарата сояфлан на раннем этапе развития опухоли «саркома-180» (С-180) (3–13-й день после перевивки опухолевого штамма) и определение числа иммунокомпетентных клеток в крови экспериментальных животных.

Материалы и методы. Трансплантацию солидной опухоли С-180 производили гомогенатом опухолевой ткани в стерильном физиологическом растворе. Противоопухолевую терапию проводили следующим образом: I группа – γ -облучение, II группа – сояфлан, III группа – сояфлан + γ -облучение, IV группа – контроль (животные-опухолоносители, без терапевтического воздействия), V группа – интактные животные. Облучение животных-опухолоносителей

(II и III группы) проводили 3-кратно – на 5-, 7- и 9-й день после перевивки опухоли, при тотальном воздействии. Облучение выполнено на радиотерапевтической установке «Рокус» γ -лучами ^{60}Co . Разовая доза составила 2 Гр, суммарная доза – 6 Гр. Сояфлан растворяли в дистиллированной воде и вводили зондом в желудок мышам в дозе 75 мг/кг начиная с 3-го дня после перевивки опухоли. Метод оценки иммунного статуса основан на количественном тестировании субпопуляций лимфоцитов со специфическими для каждого вида рецепторами – кластерами дифференцировки (CD) (Шушкевич Н.И., 2007). Использовались CD-маркеры: CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD95.

Результаты. Облучение в монорежиме показывает торможение роста опухоли (ТРО) 85,6 % по массе и 82 % по объему; сояфлан, вводимый в монорежиме, оказывает выраженное противоопухолевое действие – ТРО 91,2 % по массе и 90,3 % по объему, при введении сояфлана в комплексной терапии с γ -облучением показатель ТРО по массе составил до 94,3 % и по объему – до 94 %. Результаты иммунологического обследования интактных животных и животных-опухолоносителей показали, что появление и развитие в организме животных опухолевого очага приводит к достоверному увеличению числа CD3-клеток на 20 %, CD8 – на 70 %, CD16 – на 90 % и CD95 – на 50 %, уменьшению числа CD4-клеток – на 14 %, CD20 – на 22 % ($p < 0,05$); иммунорегуляторный индекс (ИРИ) – 0,83. Воздействие лучевой терапии достоверно снижало число CD3-клеток на 36 %, CD4 – на 40 %, CD8 – на 20 %, CD16 – на 20 % и CD20 – на 20 % в сравнении с контролем ($p < 0,05$), ИРИ – 0,83. Лечение сояфланом в монорежиме вызывает достоверное снижение показателей по 3 параметрам – числа CD8-клеток на 28 %, CD16 – на 57 % и CD95 – на 33 %, и увеличение числа CD20 клеток на 17 % ($p < 0,05$), ИРИ – 1,16. Комплексное воздействие γ -облучения и сояфлана приводило к уменьшению общего пула CD3-клеток на 25 %, CD8 – на 50 %, CD16 – на 40 %, CD95 – на 18 %, увеличению общего пула CD25 на 22 %, ИРИ – 1,23.

Заключение. Нормализующие иммунологические параметры действия сояфлана при монотерапии и в комплексе с γ -облучением коррелируют с выраженным противоопухолевым действием.

В.Г. Беспалов, Я.Г. Муразов, А.Н. Стуков, Г.В. Точильников, И.Н. Васильева, А.Л. Семенов, О.А. Беляева, Г.С. Киреева, К.Ю. Сенчик, А.М. Беляев

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНОГО СИММЕТРИЧНЫХ ТРИАЗИНОВ ПРИ ГИПЕРТЕРМИЧЕСКОЙ ИНТРАПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ХИМИОПЕРФУЗИИ АСЦИТНОЙ ОПУХОЛИ ЯИЧНИКОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»

Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Введение. У 75 % больных эпителиальным раком яичников (РЯ) на момент установления диагноза присутствует канцероматоз брюшины, который трудно поддается хирургическому и стандартному (внутривенному) химиотерапевтическому лечению.

Цель исследования. Изучить противоопухолевую активность производного симметричных триазинов (ПСТ)

в сравнении с цисплатином на модели асцитного РЯ в условиях гипертермической химиоперфузии.

Материалы и методы. Исследование проведено на 60 крысах-самках Вистар с массой тела 200–260 г. Использован штамм асцитной опухоли яичников, полученный из ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Перевивку РЯ осуществляли внутрибрюшинно. В качестве препарата сравнения был выбран цисплатин. Перфузионное гипертермическое лечение животных (температура в брюшной полости 40,5–41,5 °С) проводили на экспериментальной установке. Животные были разделены на 4 группы: I – контроль (перевивка РЯ, $n = 19$); II – гипертермическая интраперитонеальная перфузия (ГИПП) физиологическим раствором ($n = 14$); III – ГИПП с цисплатином в максимально переносимой дозе (МПД) – 20 мг/кг массы тела ($n = 14$); IV – ГИПП с ПСТ в МПД – 15 мг/кг массы тела ($n = 13$). Все манипуляции проводили однократно через 48 ч после перевивки РЯ. Эффективность лечения оценивали по увеличению выживаемости животных.

Результаты. Медиана продолжительности жизни (МПЖ) животных составила: в I группе – 9 дней (95 % ДИ 8–23); в II – 22,5 дня (95 % ДИ 12–43); в III – 25,5 дня (95 % ДИ 13–62); в IV – 49 дней (95 % ДИ 28–70). В группе животных, которым была выполнена ГИПП с тестируемым агентом, наблюдалось достоверное увеличение МПЖ по сравнению с контролем ($p = 0,001$), группой ГИПП с физиологическим раствором ($p = 0,037$) и группой, получавшей препарат сравнения – цисплатин ($p = 0,002$). Выраженной гематологической токсичности ГИПП с ПСТ отмечено не было.

Заключение. В условиях ГИПП на модели асцитного РЯ установлена более выраженная противоопухолевая активность ПСТ в сравнении с цисплатином – наиболее известным препаратом, применяемым сегодня для интраперитонеальной химиотерапии.

Т.Н. Богатыренко¹, Н.В. Кандалицева²,

Т.Е. Сашенкова¹, Д.В. Мищенко^{1,3}

**ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СЕРОСОДЕРЖАЩИЙ
ФЕНОЛЬНЫЙ АНТИОКСИДАНТ ТС-13
КАК МОДУЛЯТОР ДЕЙСТВИЯ
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЦИТОСТАТИКОВ
ЦИСПЛАТИНА И АДРИАМИЦИНА**

¹ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия;

²ФГБОУ ВО НГПУ, Новосибирск, Россия;

³НОЦ «Медицинская химия» МГОУ, Черноголовка, Московская область, Россия

Введение. Используемые в химиотерапии онкозаболеваний препараты зачастую усиливают генерацию активных форм кислорода, влияя на клеточный редокс-гомеостаз – одну из ключевых характеристик трансформированных тканей. Модулируя редокс-состояния опухолевых клеток, можно усиливать или ослаблять действие различных цитостатиков на опухолевый процесс. Таким образом, возможно создание новых препаратов, механизм действия которых будет основываться и на регуляции клеточного редокс-гомеостаза.

Цель исследования. Изучение влияния серосодержащего фенольного антиоксиданта ТС-13 на противоопухо-

левую активность цисплатина (сPt) и адриамицина (ADR).

Материалы и методы. Противоопухолевую активность изучали на лимфолейкозе Р-388 мышей линии VDF1. Критерием эффективности лечения служило увеличение средней продолжительности жизни (СПЖ) и ILS, %. Исследуемые соединения вводили внутрибрюшинно; ТС-13 – ежедневно в течение 7 дней в дозах 30, 40 и 60 мг/кг, сPt – также ежедневно в субтерапевтической дозе 0,6 мг/кг, ADR – в дозе 1 мг/кг на 1-е и 6-е сутки. Животные получены из УНУ «Питомник и виварий ИПХФ РАН».

Результаты. Как было показано ранее, антиоксидант ТС-13 не проявляет антилейкемической активности. Животные гибнут практически одновременно с контролем. Комбинации сPt с исследуемыми дозами антиоксиданта ТС-13 увеличивали продолжительность жизни животных по сравнению с монотерапией сPt по-разному, в зависимости от концентрации ТС-13. Так, при дозе ТС-13 30 мг/кг СПЖ увеличивалась на 59 %, ILS – на 88 %. Выживших животных не было. При комбинации сPt с ТС-13 в дозе 40 мг/кг СПЖ увеличивалась на 20 %, а ILS – на 30 % при 33 % выживших животных. При комбинации сPt с ТС-13 в дозе 60 мг/кг СПЖ увеличивалась на 23 %, а ILS – на 36 % при 17 % выживших животных. Таким образом, комбинации сPt с антиоксидантом ТС-13 увеличивали противоопухолевую активность цитостатика и снижали его токсичность. Исследуемые в случае комбинации ТС-13 с ADR усиливали токсическое действие адриамицина по сравнению с монотерапией. Животные гибли одновременно и даже раньше контроля.

Заключение. Оба исследуемых цитостатика воздействуют на уже существующую ДНК и относятся к условно алкилирующим препаратам. Кроме того, существенным механизмом в реализации противоопухолевого действия ADR являются свободнорадикальные повреждения ДНК и перекисное окисление липидов мембран в результате образования свободных радикалов при метаболизме препарата. Известна концентрационная инверсия антиоксидантного действия антиоксидантов в прооксидантное, и с ней связывают неудачи в клиническом использовании антиоксидантов для лечения свободнорадикальных патологий. По-видимому, модулирующее действие ТС-13 в комбинации с ADR пошло по прооксидантному пути, что усилило токсическое действие ADR. В комбинации с цисплатином ТС-13 проявил себя как цитопротектор – уменьшил присущую сPt токсичность, увеличил СПЖ и долю выживших животных.

Т.А. Богущ¹, И.А. Мамичев¹, Ю.П. Борисенко²,

А.Н. Гришанина¹, М.М. Давыдов¹

**ФРАКЦИЯ АНЕУПОИДНЫХ
И ПРОЛИФЕРИРУЮЩИХ КЛЕТОК
КАК ПРЕДИКТОР ЭФФЕКТИВНОСТИ
ХИМИОТЕРАПИИ РАКА ЯИЧНИКОВ**

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Выявление изменений генетического аппарата, характеризующихся показателями ploидности

и пролиферативной активности опухолевых клеток, позволяет прогнозировать агрессивность злокачественного заболевания и способствовать оптимизации терапевтической тактики. Но расхождение пиков флуоресценции часто бывает непригодным для четкого количественного анализа из-за неинформативности опухолевого материала (до 40 %), поэтому оценка плоидности не стала рутинной лабораторной процедурой. Мы предположили, что для оценки прогноза агрессивности злокачественного новообразования можно избежать невыполнимой стадии анализа — количественной оценки плоидности и пролиферативной активности, и предложили анализировать опухоль по заведомо неблагоприятному показателю интегральной фракции анеуплоидных и пролиферирующих клеток.

Цель исследования. Оценка прогностической значимости количественного показателя интегральной фракции анеуплоидных и пролиферирующих клеток для предсказания эффективности 1-й линии химиотерапии рака яичников с включением препаратов платины и таксанов.

Материалы и методы. Исследование проведено на 57 образцах серозного рака яичников с использованием красителя ДНК Hoechst H33258 и проточного цитофлуориметра. Пациентки были распределены на группы. Группа резистентных опухолей — 14 образцов пациенток, у которых безрецидивный период длился <6 мес. Условно чувствительная группа — 13 опухолевых образцов пациенток с безрецидивным периодом от 6 до 12 мес. Образцы 30 пациенток с безрецидивным периодом >12 мес составляли группу чувствительных опухолей. Обработку данных проводили с применением программного обеспечения FlowJo 7.6.1 и WinMDI 2.9.

Результаты. Опухоли характеризовались гетерогенностью по исследованному показателю от 5 до 73 %, с показателем медианы — 27 %. Была выявлена достоверность различий между показателями интегральной фракции анеуплоидных и пролиферирующих клеток в группах чувствительных и резистентных опухолей ($p = 0,0019$). Статистически значимых различий не отмечено между группами чувствительных и условно чувствительных и между условно чувствительными и резистентными к химиотерапии опухолями ($p = 0,135$ и $p = 0,15$ соответственно). В течение 43 мес наблюдения в группе образцов с показателями фракции анеуплоидных и пролиферирующих клеток меньших медианы <27 % рецидив рака яичников диагностирован у 37 % (10 случаев из 27). Рецидивы у больных с показателями ≥ 27 % возникли в 23 (77 %) случаях из 30. Выявленные различия между кривыми Каплана—Мейера являются статистически значимыми ($p = 0,0004$).

Заключение. Благодаря простоте предложенного подхода к количественной оценке фракции анеуплоидных и пролиферирующих клеток эта характеристика рака яичников может быть использована для оптимизации химиотерапии.

Исследование поддержано грантами РФФИ № 15-04-06991 и 15-04-02172.

Т.А. Бозуш¹, М.И. Папулина², О.М. Рябинина¹, Ю.Б. Дьякова¹, Д.В. Новиков¹, Н.О. Вихлянцева¹, А.Н. Гришанина¹, Б.Е. Полоцкий¹

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ α И β В ТКАНИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Эпидемиологические и статистические данные свидетельствуют о широком распространении немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) и неудовлетворительной выживаемости, что делает актуальным поиск новых подходов к лечению этого заболевания. К настоящему времени накоплены данные, которые подтверждают вовлечение эстрогенов в патогенез рака легкого. Таким образом, эстрогеновые рецепторы (ЭР) могут быть значимыми прогностическими маркерами. Изучение экспрессии ЭР α и ЭР β в ткани НМРЛ, взаимосвязи показателей экспрессии с гистологическим типом опухоли необходимы для оценки возможного применения гормональной терапии.

Цель исследования. Определить уровень экспрессии ЭР α и ЭР β в ткани НМРЛ, оценить взаимосвязь этих опухолевых маркеров, в том числе и при разных гистологических типах НМРЛ.

Материалы и методы. Для проведения исследования был использован хирургический биопсийный материал 113 пациентов (92 мужчин и 21 женщины). Оценка экспрессии ЭР α и ЭР β в опухолевой ткани проводили методом иммунофлуоресцентного анализа с помощью проточной цитофлуориметрии. В работе использовали первичные и вторичные антитела Abcam для ЭР α (клон SP1 и ab98510) и для ЭР β (клон 14C8 и ab98729). Количество специфически флуоресцирующих клеток (уровень экспрессии ЭР α и ЭР β , %) определяли с помощью теста Колмогорова—Смирнова, включенного в программу FlowJo 10.0.8. Статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для оценки взаимосвязи показателей экспрессии применяли критерий корреляции Пирсона.

Результаты. Экспрессия ЭР α и ЭР β выявлена во всех исследуемых образцах НМРЛ, со средним значением уровня экспрессии маркеров и стандартным отклонением $25,5 \pm 9,7$ и $44,0 \pm 15,6$ % соответственно ($p < 0,0001$). Уровень экспрессии ЭР β был выше показателя для ЭР α в 88 % случаев. Аналогичный результат получен при сравнении уровня экспрессии ЭР α и ЭР β при аденокарциноме и плоскоклеточном раке легкого: $28,0 \pm 11,7$ % против $43,6 \pm 14,9$ % и $23,7 \pm 6,7$ % против $45,0 \pm 15,3$ % ($p < 0,0001$). Корреляционный анализ показал, что в группе пациентов с плоскоклеточным раком легкого определяется прямая очень слабая связь между уровнем экспрессии ЭР α и ЭР β (коэффициент Пирсона $r = +0,28$); коэффициент Пирсона в группе пациентов с аденокарциномой имеет большее значение ($r = +0,38$), что указывает на лучшую взаимосвязь показателей экспрессии.

Заключение. В ткани НМРЛ (как аденокарциномы, так и плоскоклеточного рака легкого) уровень экспрессии ЭР β почти в 2 раза превышает показатель для ЭР α . При этом

корреляции между этими маркерами практически не выявлено. Таким образом, в отличие от рака молочной железы, ЭРβ могут быть основной мишенью при проведении адьювантной гормональной терапии НМРЛ.

*Л.М. Борисова¹, М.П. Киселева¹, З.С. Шпрах¹,
С.Е. Миронова¹, Е.Н. Медведева², Н.А. Неверова²,
В.А. Бабкин²*

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VIVO* ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ МЕХАНОКОМПОЗИТОВ АРАБИНОГАЛАКТАНА С ЦИКЛОФОСФАМИДОМ

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

²ИНЦ СО РАН, Иркутск, Россия

Введение. Водорастворимый растительный полисахарид арабиногалактан (АГ) характеризуется высокой биологической активностью (иммуномодулирующей, гастро- и гепатопротекторной, гиполлипидемической) и низкой токсичностью. Физико-химическими методами установлено, что механообработка известных лекарственных веществ (ЛВ) с АГ устраняет ulcerогенность, существенно повышает растворимость и биодоступность ЛВ, что позволяет снизить действующую дозу ЛВ с сохранением терапевтического эффекта.

Цель исследования. Предполагая, что механокомпози- ты циклофосфамида (ЦФА) с АГ будут менее токсичны, чем сам ЦФА, проведено изучение противоопухолевой активности 2 образцов механокомпози- тов (ЦФА/АГ) на перевиваемой эпидермоидной карциноме легкого Льюис (LLC) мышей.

Материалы и методы. Исследования выполнены на мышцах-самцах гибридах F1 (C57Bl/6 × DBA/2) массой 20–25 г. LLC перевивали подкожно в правую подмышечную область. Лечение начинали через 48 ч после перевивки. Два образца механокомпози- тов: ЦФА/АГ с молекулярной массой (ММ) 16645 Да и ЦФА/АГфр (фрагментированный, ММ 8380 Да) в соотношении ЦФА/АГ 1 : 10, изучались в дозе 50/500 мг/кг, исходные образцы АГ и АГфр в дозе 500 мг/кг в сравнении с ЦФА в дозе 50 мг/кг при ежедневном пероральном введении в течение 5 дней. Образцы растворяли в воде до концентрации 30 мг/мл. Критериями эффективности считали торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) подопытных мышей по сравнению с контрольными.

Результаты. В течение 4 дней после окончания лечения противоопухолевая активность ЦФА/АГ была выше (ТРО = 95–69 %), чем у ЦФА/АГфр (ТРО = 88–65 %). При введении исходных образцов АГ и АГфр мышам с LLC противоопухолевого эффекта не обнаружено. Анализ полученных результатов показал, что более активный из механокомпози- тов ЦФА/АГ проявил достоверно менее выраженное в сравнении с ЦФА противоопухолевое действие: ТРО = 95–52 % на 11-е сутки и ТРО = 93–81 % на 19-е сутки после окончания лечения соответственно. ЦФА/АГ в 2 раза увеличивал продолжительность жизни мышей с LLC (УПЖ = 17 %) по сравнению с применением ЦФА (УПЖ = 8 %) при минимальном критерии эффективности УПЖ ≥ 25 %.

Заключение. Полученные по УПЖ данные могут указывать на возможность снижения токсического действия ЦФА в составе механокомпози- та ЦФА/АГ.

*Е.В. Бочаров¹, Р.В. Карпова¹, О.А. Бочарова¹,
В.Г. Кучеряну², И.В. Казеев¹, Н.А. Брусенцов¹,
В.А. Ильенко¹, Е.С. Иноземцева¹*

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА МУЛЬТИФИТОАДАПТОГЕНА НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ (ПОВЕДЕНЧЕСКУЮ) АКТИВНОСТЬ МЫШЕЙ ВЫСОКОРАКОВОЙ ЛИНИИ СВА

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава

России, Москва, Россия;

²ФГБНУ НИИОПП, Москва, Россия

Цель исследования. Изучить профилактическое воздействие сухого экстракта мультифитоадаптогена (МФА) на двигательную (поведенческую) активность мышей высоко- раковой линии СВА, генетически предрасположенных к возникновению спонтанных гепатокарцином.

Материалы и методы. Работа проведена на мышцах-самцах СВА (сублиния СВА/LacY). Контрольные мыши (1-я группа, $n = 9$) получали воду в качестве питья, опытные животные (2-я группа, $n = 9$) – 10 % раствор МФА с питьевой водой в течение 1-го месяца постнатального онтогенеза, включая завершающий период дифференцировки ткани печени. МФА – стандартизованный препарат, включает компоненты 40 растительных водно-спиртовых экстрактов, в том числе адаптогенов женьшеня, элеутерококка, родиолы розовой, а также соединения фенольной природы (флавоноиды, тритерпеновые гликозиды и др.), обладает антимиутагенными, антиоксидантными, иммуномодулирующими, нейропротекторными свойствами. Для определения двигательной активности животных применяли автоматизированный аналог теста «открытое поле» с использованием системы Opto-Varimex-3 (Columbus Instruments, США). Оценивали следующие параметры: горизонтальную двигательную активность (пройденный путь, см); вертикальную двигательную активность (число стоек); время передвижения животных (с); время без движения (время «отдыха», с); число мелких движений (груминг, умывание, обнюхивание, лизание, грызение); скорость движения животных. Средний возраст мышей на момент определения показателей составил для контрольной группы $22,7 \pm 0,5$ мес, для опытной группы – $23,1 \pm 0,6$ мес, то есть был практически одинаков. Статистический анализ результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты. Величина пройденного пути у контрольных мышей составляла $1000,8 \pm 52,0$ см. Величина пройденного пути у опытных мышей была достоверно выше и равна $1230,1 \pm 88,5$ см, $p_{1-2} = 0,04$). Аналогичные результаты были получены и для других параметров двигательной активности. Время без движения в контрольной группе животных составило $83,8 \pm 6,1$ с. В опытной группе без движения самцы оставались более короткое время: $66,4 \pm 5,3$ с, $p_{1-2} = 0,04$). Число стоек у мышей контрольной группы определено как $11,1 \pm 1,0$. В опытной группе животные выполняли стойки в среднем большее число раз ($14,6 \pm 1,2$; $p_{1-2} = 0,04$). Мелкие движения животных контрольной

группы оценили в количестве $217,8 \pm 10,7$. У опытных мышей число мелких движений было достоверно большим — $251,9 \pm 21,3$; $p_{1-2} = 0,03$.

Заключение. Результаты работы показали, что у мышей-самцов линии СВА, предрасположенных к спонтанному гепатоканцерогенезу, к 22-месячному возрасту наблюдается ослабление двигательной активности. Двигательная активность мышей, получавших сухой экстракт МФА профилактически, была статистически достоверно выше, чем контрольных мышей. Вместе с тем повышение двигательной активности животных без признаков кахексии и алопечий при воздействии МФА согласуется с понижением сыровоточного уровня стресс-гормона кортикостерона, лучшей выживаемостью и снижением уровня опухолеобразования.

*Н.А. Брусенцов¹, И.С. Голубева¹, О.А. Бочарова¹,
Ю.А. Пирогов², Н.В. Анисимов², М.В. Гуляев²,
П.И. Никитин³, М.П. Никитин³*

РАННЕЕ КонтРАСТНОЕ МРТ-ВЫЯВЛЕНИЕ И ТЕРМОХИМИОТЕРАПИЯ АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Са755 КОМБИНАЦИЯМИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ

*¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва, Россия;*

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

³ФГБУН ИОФ РАН, Москва, Россия

Введение. Декстранферрит, допированный Co^{2+} (ДФ- Co^{2+}), на мышцах имеет LD_{50} 1,5 г/кг, биодеструктурируется, полностью метаболизируется в организме млекопитающих, имеет высокую намагниченность, нагревается в полях от 0,1 до 1,0 МГц. Аденокс (АО) — диальдегидное производное аденозина.

Цель исследования. Синтез ДФ- Co^{2+} и оценка МР-свойств комбинации ДФ- Co^{2+} —магневист (ДФ- Co^{2+} —МВ) 0,25 мл/кг 5 % водный золь и противоопухолевой активности 40 % золя ДФ- Co^{2+} при магнитной термотерапии (МТТ), а комбинации 40 % золя ДФ- Co^{2+} —аденокс (ДФ- Co^{2+} —АО) — при магнитной термохимиотерапии (МТХТ).

Материалы и методы. Из активированного нестехиометрического магнетита, допированного Co^{2+} , и декстрана ММ 70 кД при $+90^\circ\text{C}$ и перемешивании синтезировали ДФ- Co^{2+} . Через 3 дня после прививки аденокарциномы Са-755 самкам мышей С57В1/6j внутривенно последовательно вводили 0,25 мл/кг 5 % водный золь ДФ- Co^{2+} и 0,2 мл/кг МВ. Мышей размещали в поле 7 Тл биоспектротографа BioSpec BC 70/30 USR (Bruker, США) и проводили контрастное МРТ-сканирование тканей в режимах получения T1-взвешенных (В) {700/15 [время повторения, мс/время эхо, мс], T2-В (1900/85) спин эхо, T2-В градиент эхо (700/13) и T*2-В градиент эхо (500/15)} изображений. Визуализировали ранние контрастные МРТ-изображения. При МТТ 40 мг ДФ- Co^{2+} в 100 мкл H_2O вводили 10 мышам по периметру в опухолевые ткани объемом $21,0 \pm 7,0 \text{ мм}^3$, выдерживали мышей 5×30 мин через 24 ч в поле 0,88 МГц, 150 Вт.

Результаты. Разработали комбинации: ДФ- Co^{2+} —МВ и ДФ- Co^{2+} —АО). Противоопухолевую активность определили при МТХТ. После 5×30 мин МТХТ, в поле 0,88 МГц

при температуре от $+44$ до $+45^\circ\text{C}$ наблюдали уменьшение опухолей до объема от $1,0 \pm 0,3$ до 0 мм^3 , увеличение продолжительности жизни (УПЖ) — 360 %. На 30-е сутки после термохимиотерапии на контрастной МРТ у большей части мышей опухоли не выявлялись, полная регрессия опухолей — 65 %, УПЖ — 360 %.

Заключение. Значительное повышение эффективности МТХТ возможно при условии отсутствия инфильтрации нормальных тканей опухолевыми клетками.

*Ю.М. Букреев, Ю.И. Должикова, Н.К. Власенкова,
А.В. Сергеев, Н.Ю. Соколов, И.Ж. Шубина*

АНТИКАНЦЕРОГЕННАЯ И АНТИТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЧАГИ И КАРОТИНОИДОВ

*ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва, Россия*

Введение. Водные экстракты чаги и природные каротиноиды обладают широким спектром биологической активности, в том числе антиоксидантными, иммуномодулирующими и другими свойствами, что позволяет изучать их в качестве потенциальных средств химиопрофилактики рака.

Цель исследования. Изучение антиканцерогенной, антимиутагенной, антиоксидантной активности разработанных нами препаратов каскатол (КАС), томатол (ТОЛ), чаголюкс (ЧГЛ).

Материалы и методы. Объектами исследования были препараты КАС, созданный на основе бета-каротина, аскорбиновой кислоты и токоферилацетата, ТОЛ на основе каротиноида ликопина и ЧГЛ на основе водного экстракта чаги. Все препараты прошли необходимые доклинические фармацевтические и медико-биологические исследования и поступили в аптечную сеть. Антиканцерогенную активность препаратов изучали на модели химического канцерогенеза пищевода и желудка, индуцированного у крыс N-метил-N-бензилнитрозамином. Препараты вводили вместе с кормом ежедневно на протяжении всего эксперимента в дозе 50 мг/кг массы тела. Антимиутагенную и иммуномодулирующую активность препаратов изучали на мышцах СЗН и BALB/C согласно ранее описанным нами методам.

Результаты. Систематическое введение препаратов животным снижало на 35–50 % частоту возникновения опухолей желудочно-кишечного тракта у крыс, при этом уменьшался в 2 раза индекс множественности опухолей и повышался латентный период их появления. Микроскопический анализ опухолей показал снижение степени малигнизации неопластических образований. Совместное применение КАС и ЧГЛ не влияло на частоту образования опухолей, но снижало индекс множественности и увеличивало на 20–25 % продолжительность жизни животных. Все препараты уменьшали на 25–40 % частоту хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей, индуцированных циклофосфаном, и повышали антиоксидантный потенциал организма. КАС и ЧГЛ уменьшали проявления вторичного иммунодефицита у мышей, индуцированного цитостатиком аранозой, повышая активность цитолитических Т-лимфоцитов и пролиферативную активность спленоцитов.

Заключение. Разработанные и изученные нами препараты КАС, ТОЛ и ЧГЛ можно рассматривать как эффективные потенциальные средства химиопрофилактики рака.

Г.И. Буравченко^{1,2}, А.М. Щербаков³, А.Е. Щекотихин^{1,2}

АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ 6-АМИНОПРОИЗВОДНЫХ 1,4-ДИОКСИДА 3-ФЕНИЛ-2-ХИНОКСАЛИНКАРБОНИТРИЛА

¹ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия;

²РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия;

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Производные 1,4-диоксида хиноксалина селективно ингибируют рост резистентных опухолевых клеток (WO 2015167350), однако недостатком таких производных является низкая растворимость в фармакологически приемлемых водных средах.

Цель исследования. Поиск новых водорастворимых производных 1,4-диоксида хиноксалина, селективно ингибирующих рост опухолевых клеток в условиях гипоксии, и исследование влияния структуры аминогрупп на цитотоксическую активность соединений.

Материалы и методы. Серия 6-аминопроизводных 1,4-диоксида 3-фенил-2-хиноксалинкарбонитрила получена замещением атома галогена в 1,4-диоксиде 3-фенил-6,7-дихлор-2-хиноксалинкарбонитрила различными циклическими диаминами. Цитотоксическую активность веществ определяли в МТТ-тесте (72 ч инкубация) на клетках рака молочной железы человека MCF-7 и MDA-MB-231 в условиях нормоксии (21 % O₂) и гипоксии (1 % O₂).

Результаты. Ряд новых аминопроводных 1,4-диоксида 3-фенил-2-хиноксалинкарбонитрила обладает хорошей растворимостью в фармакологически приемлемых водных средах. Практически все полученные соединения селективно ингибируют рост клеток аденокарциномы молочной железы в условиях гипоксии. Активность большинства аминопроводных 1,4-диоксида 3-фенил-2-хиноксалинкарбонитрила в гипоксии значительно выше, чем у препарата сравнения – тирапазамина. Наиболее активными оказались производные 3-аминопирролидина и N-метилгомопиперазина, в то время как производные пиперазина имели на порядок меньшую активность в отношении этих линий опухолевых клеток.

Заключение. Получена серия новых водорастворимых производных 1,4-диоксида 3-фенил-2-хиноксалинкарбонитрила с высокой активностью в отношении клеток рака молочной железы в гипоксических условиях.

*Биологические эксперименты финансировались
из средств Российского научного фонда
(грант № 14-15-00362).*

*Т.С. Быркина, Т.С. Хлыстова, И.В. Гусев,
Н.Д. Олтаржевская*

ЛЕЧЕБНЫЕ ГИДРОГЕЛЕВЫЕ КОМПОЗИЦИИ С УВЕЛИЧЕННЫМ СРОКОМ ГОДНОСТИ В ОНКОУРОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

ООО «Колетекс», Москва, Россия

Введение. В последние годы большое внимание уделяется не только вопросам повышения эффективности

лечения онкологических больных, но и сохранению качества их жизни. Так, одними из самых распространенных осложнений у пациентов, получающих химиотерапию, особенно в сочетании с лучевой терапией, по поводу рака органов малого таза, являются цистит различной этиологии и гематурия. Учитывая агрессивное воздействие, оказываемое проводимым лечением на уретелий, боли, расстройства мочеиспускания, курс лечения у таких больных занимает продолжительное время, требует ежедневных обработок, что крайне тяжело для пациентов как физически, так и морально. В ООО «Колетекс» были разработаны специальные лечебные материалы – гидрогелевые композиции для внутрипузырного введения «Колегель-уро» на основе биополимеров альгината и гиалуроната натрия с включенной комбинацией лекарственных веществ диоксидаина и лидокаина, позволяющие проводить комплексную терапию постлучевых циститов. Применение гидрогелевых композиций «Колегель-уро» у больных в период реабилитации позволяет купировать болевые синдромы, снижает выраженность местных лучевых реакций, способствует восстановлению поврежденного гликозаминогликанового слоя уретелий, улучшает качество жизни пациентов. Однако малый срок годности такого материала (1 год) препятствует его распространению в медицинской практике – у этого медицинского изделия с малым сроком годности возникают сложности при хранении и закупках клиниками и аптеками.

Цель исследования. Оптимизации технологии получения гидрогелевой композиции для онкоурологического применения с точки зрения увеличения срока годности до 2 лет. Необходимо отметить, что подход к увеличению срока годности гидрогелевых материалов, производимых в ООО «Колетекс», заключается в одновременном воздействии на 2 процесса: понижение микробной обсемененности гидрогелевой композиции до финишной стерилизации, которая связана с использованием легко обсеменяемого сырья (природного полисахарида альгината натрия), и стабилизацию вязкости композиции после стерилизации. Кроме того, повышение стерилизующей дозы с 6 до 15 кГр также может повысить надежность финишной стерилизации, однако при этом нужно в большей степени стабилизировать вязкость стерильной гидрогелевой композиции, которая снижается из-за процессов радиолитического распада биополимеров при их финишной стерилизации. Значение вязкости должно сохраняться на уровне 1,5–2,0 Па·с.

Материалы и методы. Для одновременной стабилизации микробиологических и вязкостных свойств лечебной композиции «Колегель-уро» в ее состав вводили стабилизирующие добавки 0,5 мас. % консерванта Euxyl PE 9010 на основе феноксиэтанола (ФЭ), 0,5 мас. % полиэтиленгликоля (ПЭГ) с молекулярной массой 3000.

Результаты. С помощью методики ускоренного старения гидрогелевой композиции с введенным ФЭ при использовании программного обеспечения, прогнозирующего срок годности композиции, было установлено, что используемый стабилизатор обеспечивает ее стерильность и необходимую вязкость после стерилизации дозой 6 кГр на протяжении 2 лет. При использовании стерилизующей дозы 15 кГр стабилизирующего эффекта 0,5 мас. % ФЭ

недостаточно и в композицию необходимо также вводить дополнительно 0,5 мас. % ПЭГ, что позволяет повысить устойчивость полимерной композиции к радиационной стерилизации, сохраняя при этом вязкость на уровне 1,5–2,0 Па·с.

Заключение. Показано, что дополнительное введение в лечебную композицию «Колегель-уро» 0,5 мас. % ФЭ и 0,5 мас. % ПЭГ позволяет использовать стерилизующую дозу 15кГр и обеспечивает срок годности такой композиции 2 года, что способствует расширению возможностей применения данного лечебного материала в медицине.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 15-29-04847.

П. М. Бычковский¹, Т. Л. Юркович², Н. В. Голуб², С. О. Соломевич², В. Н. Гапоненко¹, И. И. Тагиль¹, Е. Г. Дрепаков¹, В. И. Артюкевич¹

СРАВНЕНИЕ ЦИТОСТАТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ФОРМ ЦИСПЛАТИНА *IN VITRO*

¹УП «Унитехпром БГУ», Минск, Беларусь;

²НИИ ФХП БГУ, Минск, Беларусь

Введение. Цисплател, пролонгированная форма цисдидаминдихлороплатина (II) в виде салфетки, характеризуется высокой противоопухолевой активностью, пониженной токсичностью и применяется при локальной химиотерапии опухолей головного мозга. В настоящей работе путем иммобилизации цисплатина на окисленной бактериальной наноцеллюлозе получена новая пролонгированная форма цитостатика в виде гель-пленки, изучены ее свойства.

Цель исследования. Сравнительное изучение противоопухолевых свойств макромолекулярных соединений цисплатина, полученных путем сорбции цитостатика на окисленной бактериальной, вискозной и хлопковой целлюлозе.

Материалы и методы. Структура и состав пролонгированных форм цисплатина на основе целлюлозы, окисленной 5–40 % растворами оксида азота (IV) в хлороформе, подтверждены методами хроматографического анализа, ИК-спектроскопии, элементного анализа, гравиметрии, сканирующей электронной микроскопии. Исследование цитостатической активности макромолекулярных соединений цисплатина при концентрации активного вещества 0,5–1,0 мкг/г проведено на клеточной линии HeLa (аденокарцинома шейки матки человека) при инкубации в течение 48 ч.

Результаты. Установлено, что в процессе окисления бактериальной целлюлозы в системе оксид азота (IV)–хлороформ происходит не только увеличение содержания карбоксильных групп, но и значительная деструкция макромолекул исходного полисахарида. В результате гель-пленки на основе окисленной бактериальной целлюлозы (ОБЦ) можно условно разделить на 2 группы: без существенного нарушения морфологической структуры волокна и с разрушением нановолокон бактериальной целлюлозы до наночастиц, связанных между собой водородными связями. Чешуйчатое строение нановолокон ОБЦ с содержанием карбоксильных групп в интервале 13,5–23,4 % приводит к высокой скорости гидролиза окисленных образцов

в условиях *in vitro*: гель-пленки полностью деградируют в течение 3 сут. Как результат, цитостатик может высвободиться из гель-пленки ОБЦ не только в виде отдельных молекул, но также молекул, связанных с наночастицами модифицированной целлюлозы. Экспериментальные данные по противоопухолевой активности растворов цисплатина и их макромолекулярных форм свидетельствуют о том, что по критерию торможения пролиферации опухолевых клеток образец ОБЦ–цисплатин близок по активности к нативному цисплатину и примерно в 2 раза активнее цисплатина, включенного в состав окисленной вискозной и хлопковой целлюлозы.

Заключение. Установлена более высокая антипролиферативная активность иммобилизованного на ОБЦ цисплатина в отличие от цисплатина, включенного в состав салфеток на основе окисленной растительной целлюлозы, что связано со структурными особенностями ОБЦ.

Г. Г. Варванина¹, А. В. Смирнова^{1,2}, И. Е. Трубицына¹, Л. В. Винокурова¹, А. С. Гуляев¹, К. К. Носкова¹

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ЭНДОГЕННОГО ИНГИБИТОРА МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 1 (TIMP1) ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ГБУЗ «МКНЦ им. А. С. Логинова ДЗМ», Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Развитие рака головки поджелудочной железы (РПЖ) часто инициируется рецидивирующим течением хронического панкреатита (ХП). Эндогенный ингибитор матриксной металлопротеиназы 1 (TIMP1) определяет интенсивность роста опухолевых образований, миграцию клеток и формирование опорной стромы для новых клонов. Процесс активации факторов развития соединительной ткани на фоне обострений ХП изучен недостаточно и потому требует более пристального внимания.

Цель исследования. Определить концентрацию TIMP1 (нг/мл) в крови больных с РПЖ, ХП с кистами (ХКП) и без кист, группы контроля (К).

Материалы и методы. Кровь больных, страдающих ХП 7–12 лет, с кистами и без, а также с первично диагностированным РПЖ. Выделены сравнимые по количеству подгруппы ($n = 16$): киста, РПЖ, ХП. Белок определяли в плазме венозной крови методом ELISA. Статистический анализ данных проводили после оценки характера распределения данных и расчетов в Statistica 6.0, используя для оценки тест Манна–Уитни для попарных сравнений.

Результаты. При анализе данных установлено, что существует достоверное различие концентраций TIMP1 в группе РПЖ по сравнению с группой К ($p = 0,01$; $\min\text{--}\max$ 1371–3250 нг/мл против 709–2096 нг/мл). При сравнении групп К и ХКП и/или К и ХП статистически значимых различий выявлено не было.

Заключение. На примере малой выборки больных с длительным рецидивирующим течением ХП обнаружена вовлеченность TIMP1 в процесс развития опухоли головки поджелудочной железы. Это требует продолжения изучения роли факторов межклеточного ремоделирования при ХП.

Г.Г. Варванина¹, А.В. Смирнова^{1,2}, И.Е. Трубицына¹,
Л.В. Винокурова¹, А.С. Гуляев¹, К.К. Носкова¹,
А.С. Дорофеев¹, Ж.В. Борунова¹

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 9, ЭНДОГЕННОГО ИНГИБИТОРА МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 1 (TIMP1), ИНГИБИТОРА ТКАНЕЙ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 2 (TIMP2) ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ГБУЗ «МКНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ», Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Ремоделирование соединительной ткани при воспалении поджелудочной железы является ключевым событием для развития опухолевых очагов при раке головки поджелудочной железы (РПЖ).

Цель исследования. Определить концентрацию матриксной металлопротеиназы 9 (ММР9), эндогенного ингибитора матриксной металлопротеиназы 1 (TIMP1) и ингибитора тканей матриксной металлопротеиназы 2 (TIMP2) в крови больных с заболеваниями поджелудочной железы.

Материалы и методы. В исследование включены 72 больных хроническим панкреатитом (ХП) и РПЖ, средний возраст 54 ± 12 лет (46 мужчин и 26 женщин). Для анализа данных больные были разделены на 4 группы: контроль – 13 (без патологий поджелудочной железы), РПЖ – 16, ХП с постнекротическими кистами – 23, ХП без кистозных образований – 37. В сыворотке крови определяли концентрацию ММР9, TIMP1 и TIMP2 (нг/мл) методом ELISA. Статистический анализ данных проводили с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни после оценки характера распределения данных; достоверность различий считали существенной при $p < 0,05$.

Результаты. Выявлено достоверное повышение уровня ММР9 в сыворотке крови больных ХП и РПЖ по сравнению с группой контроля ($p = 0,008$). Также было выявлено значимое различие концентраций TIMP1 ($p = 0,01$), но не для TIMP2 ($p > 0,05$) при сравнении групп контроля и РПЖ. Между группами контроля и ХП (группы с кистами и без) статистически значимых различий выявлено не было.

Заключение. Исследование изменения концентрации ММР9 и тканевых ингибиторов является перспективной темой для дальнейшего изучения хронического воспаления как фактора опухолевого роста.

А.А. Вартанян, Д.А. Хоченков, О.С. Бурова ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ АУТОФАГИЕЙ И ЖЕЛЕЗОМ В ВАСКУЛОГЕННОЙ МИМИКРИИ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Аутофагия, катаболический процесс удаления отработанных органелл, долгоживущих белков и продуктов распада, имеет патологически повышенную активность в опухолевых клетках. Стремительный рост злокачественной опухоли требует значительно большего расхода железа, чем метаболизм нормальных клеток.

Цель исследования. Получение экспериментального подтверждения существования взаимосвязи между аутофагией и железом в васкулогенной мимикрии (ВМ).

Материалы и методы. В работе были использованы 2D- и 3D-культивирование клеток, электрофорез и вестерн-блот, проточная цитофлуориметрия, siRNA-опосредованный нокдаун генов, флуоресцентная микроскопия.

Результаты. О базовом уровне аутофагии судили по экспрессии маркера последней стадии аутофагии – LC-3В и флуоресценции монодансилкадаверина. В клетках меланомы, формирующих сосудистоподобные структуры (СПС) на матрикеле, базовый уровень аутофагии был значительно выше, чем в клетках, не способных участвовать в ВМ. Блокирование аутофагии фармакологическими ингибиторами инициации и терминальной фазы аутофагии ингибировало формирование СПС. Полученные результаты были подтверждены siRNA-опосредованным подавлением экспрессии гена *BECN1*, инициатора аутофагии, и *ATG5*, маркера необратимой стадии аутофагии. При нокдауне гена *BECN1* клетки не теряли способности мигрировать, но рисунок структур, сформированных на матрикеле, заметно отличался от геометрии классических СПС. Клетки меланомы с нокдауном гена *ATG5* меняли форму с веретеноподобной на шаровидную, сохраняли способность мигрировать, формирования СПС не наблюдалось. Низкомолекулярный ингибитор ВМ, ЛХС-1269, заметно снижал базовый уровень аутофагии. Хелатирование железа снижало на 20–25 % экспрессию CD71 и полностью блокировало формирование СПС. В присутствии донора железа клетки меланомы ненормально удлинялись, формировали в 3D-культуре СПС с многочисленными разрывами в сети. Хелатор железа повышал базовый уровень аутофагии в 2 раза. Донор железа не влиял ни на аутофагию, ни на экспрессию CD71.

Заключение. Аутофагия обеспечивает прогрессию опухоли 2 путями: способствует выживанию опухолевых клеток при стрессе и индуцирует частичную трансдифференцировку опухолевых клеток в эндотелиоподобный фенотип. Хелатирование железа блокирует ВМ и повышает аутофагию.

П.И. Васильчиков, А.Д. Перенков, Д.В. Новиков,
С.Г. Фомина, В.В. Новиков

МЕХАНИЗМ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ, ВЫЗЫВАЕМОЙ РЕКОМБИНАНТНЫМ ИММУНОТОКСИНОМ ПРОТИВ МУЦИНА 1

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

Введение. Муцин 1 (MUC1) является перспективной мишенью для таргетной иммунотерапии онкозаболеваний в связи с изменением степени гликозилирования и гиперэкспрессией на поверхности клеток 70–80 % карцином. Ранее нами был получен рекомбинантный иммунотоксин против опухолеассоциированного MUC1 человека, представляющий собой мини-антитело (scFv) против MUC1, слитое с ротавирусным энтеротоксином NSP4, который демонстрировал специфическое взаимодействие с опухолевыми клетками человека линий Colo-205 и MCF-7, гиперэкспрессирующими MUC1, и выраженную цитотоксическую активность.

Цель исследования. Установить механизм клеточной гибели, вызываемой иммунотоксином scFv-NSP4.

Материалы и методы. Иммунотоксин экспрессировали в *E. coli* и очищали с помощью металл-аффинной хроматографии. Культуры клеток Colo-205 (колоректальная аденокарцинома) и MCF-7 (рак молочной железы), предоставленные ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, выращивали по стандартному протоколу. Затем инкубировали в присутствии scFv-NSP4 24 ч. Клетки окрашивали антителами против аннексина V и йодистым пропидием и анализировали методом проточной цитометрии для сравнения количества живых, апоптотических и некротических клеток. Уровни мРНК Bcl-2 и Вах исследовали методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Результаты. В культуре Colo-205 было обнаружено 14 % живых клеток, 50 % раннеапоптотических, 35 % позднеапоптотических, 1 % некротических. В культуре MCF-7 было обнаружено 30 % живых клеток, 56 % раннеапоптотических, 13 % позднеапоптотических, 1 % некротических. Также в обеих культурах клеток было зарегистрировано повышение уровня мРНК Вах относительно мРНК Bcl-2 после инкубации с scFv-NSP4.

Заключение. Под воздействием scFv-NSP4 в культурах раковых клеток Colo-205 и MCF-7 регистрируется апоптоз. Доля клеток, погибших по механизму некроза, незначительна. Таким образом, рекомбинантный иммунотоксин scFv-NSP4 взаимодействует с MUC1 посредством направляющего модуля scFv и индуцирует апоптоз за счет цитотоксического эффекта NSP4. Предположительно индукция апоптоза раковых клеток вызвана взаимодействием NSP4 с $\alpha 1\beta 1$ и $\alpha 2\beta 1$ интегринами на поверхности клеточной мембраны.

А.В. Вахрушев, А.М. Дёмин, В.П. Краснов

СИНТЕЗ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ПРОИЗВОДНОГО RGD-ПЕПТИДА

ИОС УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Введение. Производные RGD-пептида (содержащие последовательность аминокислот L-Arg-Gly-L-Asp) специфически связываются с интегринами $\alpha v\beta 3$ и $\alpha v\beta 5$, находящимися на поверхности опухолевых клеток, что позволяет использовать их в качестве векторов при создании новых препаратов для лечения и диагностики онкологических заболеваний.

Цель исследования. Разработка и оптимизация метода синтеза конъюгата диметилового эфира глицил-N ω -(2,2,4,6,7-пентаметилдигидробензофуран-5-сульфонил)-L-аргинил-глицил-L-аспарагиновой кислоты (производное GRGD-пептида) с флуоресцентным красителем Cy5.5 (Cy5.5), потенциального материала для специфического окрашивания поверхности опухолевых клеток *in vitro*.

Материалы и методы. Синтез осуществляли с использованием методов пептидной химии в растворе путем последовательного наращивания пептидной цепи, исходя из предварительно полученного диметилового эфира L-Asp. В работе использовано активированное производное красителя Cy5.5 (Lumiprobe, Россия). Строение и чистота конечного и промежуточных продуктов подтверждена данными ^1H ЯМР (Bruker Avance 500), элементного анализа (Perkin

Elmer PE 2400), HRMS (Shimadzu LCMS-2010), обращенно-фазовой ВЭЖХ (Agilent 1100, колонка Kromasil 100-5-C18), ИК-спектromетрии (Nicolet 6700 с приставкой НПВО Smart Orbit с алмазным кристаллом), флуориметрии (Cary Eclipse, Varian), УФ-спектromетрии (UV 2401 PC, Shimadzu).

Результаты. В ходе работы оптимизирован синтез производного RGD-пептида, проведен сравнительный анализ эффективности использования конденсирующих реагентов 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)-карбодиимида (EDC), 1-циклогексил-3-(2-морфолиноэтил)-карбодиимида (CMC), O-(бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония тетрафторбората (TBTU) и гексафторфосфата (HBTU) на ключевой стадии синтеза трипептида N $^{\circ}$ -2,2,4,6,7-пентаметилдигидробензофуран-5-сульфонил-L-аргинил-глицил-L-аспарагиновой кислоты (RGD). Показано, что наибольший препаративный выход достигается при использовании TBTU (76 %). Полученное производное RGD-пептида конденсировали с Fmoc-Gly с использованием конденсирующего реагента TBTU. Защитную Fmoc-группу аминогруппы Gly удалили 20 % пиперидином в метаноле и присоединили Cy5.5 с использованием его активированного N-гидроксисукцинимидного производного. Строение и чистота синтезированного конъюгата подтверждены данными ^1H ЯМР, ВЭЖХ, HRMS, флуориметрии, УФ- и ИК-спектроскопии.

Заключение. Разработан и оптимизирован метод синтеза производного GRGD-пептида, содержащего молекулу флуоресцентного красителя Cy5.5, которое может быть использовано в дальнейшем для специфического окрашивания поверхности опухолевых клеток *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Комплексной программы УрО РАН (№ 18-3-3-20 и 18-3-3-13).

Н.А. Верлов, М.А. Зелененко, А.П. Трашков, В.А. Печатникова, М.В. Филатов, Д.В. Новик,

Е.И. Дрогомирецкая

ПЕРОРАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ

МАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ ИНГИБИРУЕТ РАЗВИТИЕ ЛИМФОСАРКОМЫ ПЛИССА И НЕ СНИЖАЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ ЦИСПЛАТИНОМ

НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина,

Ленинградская область, Россия

Введение. Нарушения работы различных органов и систем организма при развитии опухолевого процесса, обусловленные как факторами агрессии растущей опухоли, так и применяющимися методами лечения заболевания, является ключевым критерием, приводящим к изменению тактики противоопухолевой терапии и ухудшению прогноза.

Цель исследования. Изучить влияние масляной кислоты как потенциального средства для поддерживающей терапии на развитие злокачественных опухолей на модели лимфосаркомы Плисса (ЛФСР) при проведении высокодозной химиотерапии.

Материалы и методы. В исследование включены 160 крыс-самцов Wistar с массой тела на момент начала эксперимента 190–230 г. Моделирование опухолевого процесса производили путем подкожной трансплантации всем животным, включенным в исследование, взвеси клеток

ЛФСП в дозе 10^6 клеток/особь в физиологическом растворе (объем введения – 0,5 мл). Животные были разделены на 4 группы: «контроль» – крысы, не получавшие терапию; «масляная кислота» – крысы, получавшие масляную кислоту (внутрижелудочно в дозе 11,5 мг/кг на всем протяжении эксперимента); «цисплатин» – крысы, получавшие противоопухолевую терапию (цисплатин-эбеве 8 мг/кг однократно, через 48 ч от момента трансплантации ЛФСП); «масляная кислота + цисплатин» – крысы, получавшие масляную кислоту совместно с противоопухолевым препаратом. Оценивали продолжительность жизни подопытных животных и динамику роста первичного опухолевого узла.

Результаты. Применение масляной кислоты достоверно способствовало увеличению средней продолжительности жизни животных в среднем на 14 %. При этом наблюдалось клинически значимое торможение роста опухоли (ТРО) на 67 % (10-е сутки) и 60 % (20-е сутки). Включение масляной кислоты в схему терапии ЛФСП цисплатином не уменьшало продолжительность жизни крыс и существенно усиливало ингибирование роста опухолевого узла. ТРО в группе «Масляная кислота + Цисплатин» составляло 99 и 61 % (10-е и 20-е сутки соответственно).

Заключение. В ходе предварительных экспериментов показано, что применение масляной кислоты (в режиме монотерапии и при включении в состав схемы противоопухолевого лечения) приводит к ингибированию роста ЛФСП.

А.Ю. Вигоров¹, Е.Н. Чулаков¹, Д.А. Груздев¹, Г.Л. Левит¹, М.А. Барышникова², З.С. Шпрах, В.П. Краснов¹

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ КОНЬЮГАТОВ ПУРИНА И 2-АМИНОПУРИНА

¹ИОС УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Синтез и изучение производных пурина, представляющих собой аналоги фолиевой кислоты, представляет значительный интерес, поскольку опухолевые клетки отличаются гиперпродукцией фолатных рецепторов, а производные и аналоги фолиевой кислоты характеризуются избирательным накоплением в опухоли. Кроме того, структурные аналоги фолиевой кислоты применяются в терапии туберкулеза и других бактериальных инфекций.

Цель исследования. Синтезировать новые конъюгаты пурина и 2-аминопурина, содержащие фрагмент аминокислоты бензоил-(S)-глутаминовой кислоты, присоединенный напрямую в положение 6 пуринового ядра или через спейсер (остаток этилендиамина), и изучить их противоопухолевую активность в экспериментах *in vitro*.

Материалы и методы. Для получения целевых конъюгатов использована реакция нуклеофильного замещения хлора в 2-амино-6-хлорпурине и 6-хлорпурине 4-аминобензойной кислотой или ее производным с последующей конденсацией с диметилловым эфиром (S)-глутаминовой кислоты и щелочным гидролизом. Состав и строение синтезированных производных N-[пурин-6-ил]-4-аминобензоил]-(S)-глутаминовой кислот установлены на осно-

вании данных ЯМР-спектроскопии, элементного анализа и хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения. Изучение противоопухолевой активности 9 новых конъюгатов пурина и 2-аминопурина проведено на следующих клеточных линиях опухолей человека: карцинома толстой кишки НСТ-116; карцинома предстательной железы РС-3; карцинома легкого А549; аденокарцинома молочной железы МСF-7; Т-клеточный лимфобластный лейкоз Jurkat, полученных из Банка клеточных линий ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, с использованием 3-(4,5-диметилтиазолин-2)-2,5-дифенилтетразолий бромид (МТТ-тест).

Результаты и заключение. Синтезирован ряд новых конъюгатов пурина и 2-аминопурина, содержащих фрагмент аминокислоты бензоил-L-глутаминовой кислоты и представляющих собой аналоги фолиевой кислоты. Противоопухолевая (цитотоксическая) активность синтезированных соединений изучена в экспериментах *in vitro* (МТТ-тест) на клеточных линиях опухолей человека. Установлено, что ни одно из исследованных соединений в концентрации 100 мкМ не вызывало гибели клеток >50 %. Таким образом, изученные соединения не обладают цитотоксической активностью в отношении клеточных линий опухолей человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-13-01077).

Ю.Л. Володина¹, А.С. Тихомиров^{2,3}, Л.Г. Деженкова², Д.Н. Калюжный⁴, В.Б. Цветков⁵, А.Е. Щекотихин^{2,3}, А.А. Штиль^{1,2}

АНТРАФУРАНДИОНЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ КЛАСС ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия;

³РХТУ, Москва, Россия;

⁴ФГБУН «ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва, Россия;

⁵ФГБУН «ИНХС им. А.В. Топчиева РАН», Москва, Россия

Введение. Используемые в клинике производные антрахинона (доксорубин, даунорубин и др.) недостаточно эффективны при лечении опухолей, устойчивых к ряду препаратов. В результате оптимизации структуры гетероциклических производных антрахинона получены соединения, содержащие циклические диамины в боковой цепи (в частности, антрафуранкарбоксамиды), перспективные для создания новых противоопухолевых средств.

Цель исследования. Установить механизмы гибели опухолевых клеток и изучить связь «структура–активность» в ряду антрафуранкарбоксамидов.

Материалы и методы. Изучали цитотоксичность, клеточный цикл и гибель опухолевых клеток различного тканевого происхождения, ингибирование топоизомераз I и II, комплексообразование с ДНК и протеинкиназами *in vitro*, токсичность и противоопухолевую эффективность *in vivo*.

Результаты. Большинство антрафуранкарбоксамидов вызывают апоптоз опухолевых клеток, включая сублинии с нефункционирующим p53 или гиперэкспрессией Р-гликопротеина, резистентные к доксорубину. Производные

образуют комплексы с двухцепочечной ДНК и ингибируют топоизомеразы I и/или II. Лидерное соединение ЛХТА-2034 также ингибирует ряд серин-треониновых протеинкиназ, а его пероральная лекарственная форма эффективна на модели перевивного лейкоза мышей Р-388. Важно, что при сходстве структуры активных соединений выявляются значительные различия их биологических свойств — цитотоксичности, нарушений клеточного цикла и функции топоизомераз, аффинности к ДНК, противоопухолевой эффективности.

Заключение. Возможности химической модификации антрафуранкарбоксамидов позволяют получать серии активных производных антрахинона, характеризующихся многообразием мишеней и механизмов цитотоксичности. Тем не менее алгоритмы направленной оптимизации этих структур по-прежнему в процессе изучения.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ и ДНТ в рамках научного проекта № 17-53-45105 ИНД_а.

М.С. Воронцова¹, Н.Б. Морозова¹, Т.А. Кармакова¹, А.А. Панкратов¹, Р.И. Якубовская¹, В.К. Тищенко², В.М. Петриев², О.А. Сморызанова², Н.М. Больбит³, В.Р. Дуфлот³

ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ КОЛЛАПСИРУЮЩИЙ ПОЛИМЕР, МЕЧЕННЫЙ ¹⁵³САМАРИЕМ, ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ РАДИОНУКЛИДНОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ: ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

¹МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия;

²МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Калужская область, Россия;

³АО НИФХИ им. Л.Я. Карпова, Обнинск, Калужская область, Россия

Введение. Радиофармацевтический препарат (РФП) «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» — термочувствительный коллапсирующий гидрогель на основе поли-N-изопропилакриламида, хелатно меченного самарием-153, разработан для локальной радионуклидной терапии злокачественных опухолей.

Цель исследования. Характеристика медико-биологических свойств «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» по программе доклинических испытаний.

Материалы и методы. Исследование противоопухолевой активности и биораспределения «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» проводили на мышах с подкожно привитыми опухолями (меланомы В16-F1 и саркома S37). Токсикологические исследования выполнены согласно существующим методическим рекомендациям с использованием полного аналога РФП, меченного самарием-152.

Результаты. Однократное внутриопухолевое введение «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» мышам с меланомой В16-F1 в дозах 1 и 0,5 мКи приводит к биологически значимому торможению роста опухоли (ТРО): 55–79 % на протяжении 25 дней наблюдения. На модели саркомы S37 величина ТРО не превышала 62 %. Противоопухолевый эффект не зависел от дозы РФП. В 1-е сутки после введения «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» большая часть активности — до 88 % — удерживает-

ся в опухоли, через 7 дней в ткани В16-F1 определяется до 42 % введенной дозы, в ткани S37 — до 57 %. «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» в незначительных количествах поступает в кровоток, основным органом выведения радиоактивности из организма животных являются почки (0,9 % от введенной дозы). Однократное подкожное и внутримышечное введение «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» мышам и крысам (самцам и самкам) в дозах от 250 до 2000 мг/кг, а также ежедневное (14 дней) подкожное введение препарата в суммарных дозах 500 и 2000 мг/кг удовлетворительно переносилось животными. «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» не оказывал токсического действия на периферическую кровь, печень, почки, состояние системы гемостаза и центральной нервной системы у кроликов. Инкапсулированный в месте введения препарат не вызывал местных патологических реакций. «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» в эквитерапевтической дозе (ЭТД) и дозе 10ЭТД не вызывал анафилактического шока у сенситивизированных морских свинок и не оказывал супрессивного действия на состояние иммунной системы мышей. У мышей «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» в дозах 30ЭТД и 100ЭТД не проявлял цитогенетической и мутагенной активности.

Заключение. Препарат «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» при внутриопухолевом введении способен местно удерживать терапевтическую дозу радиоактивности и не оказывает токсического действия в широком диапазоне доз. «КАРП-ХеМ, ¹⁵³Sm» перспективен для разработки методов локальной радионуклидной терапии солидных злокачественных опухолей.

Л.Л. Высоцкая, А.К. Голенков, Т.А. Митина, Е.В. Трифонова, Е.В. Катаева, Ю.Б. Черных, Е.Ф. Клинушкина, С.Г. Захаров, К.А. Белоусов

АНАЛИЗ 12-ЛЕТНЕЙ ОБЩЕЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ, ПОЛУЧАЮЩИХ ЛЕЧЕНИЕ ИНГИБИТОРАМИ ТИРОЗИНКИНАЗ, В ШИРОКОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

Введение. Высокая эффективность ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) в лечении хронического миелолейкоза (ХМЛ), оцененная по непосредственным результатам лечения, известна. Научно-практический интерес представляет изучение отдаленных результатов лечения ИТК больных ХМЛ в реальной клинической практике.

Цель исследования. Оценка эффективности лечения ИТК 1-й линии (иматинибом) (ИМ) и 2-й линии (нилотинибом (НЛ) и дазатинибом (ДЗ)) неселективной группы пациентов с ХМЛ в реальной клинической практике по отдаленным результатам.

Материалы и методы. В научную оценку включена неселективная группа из 88 пациентов с ХМЛ: 44 пациента с ХМЛ в ранней хронической фазе (РХФ), 44 пациента в поздней хронической фазе (ПХФ), получающих ИТК 1-й и 2-й линий (ИМ, НЛ, ДЗ) в условиях реальной клинической практики. На момент начала заболевания все пациенты получали ИТК 1-й линии — ИМ. Рекомендуемая доза ИМ у больных в РХФ была 400 мг/сут. Однако фактически получаемая средняя суточная доза (ССД) ИМ, определяемая количеством реально принятых капсул в сутки

за первые 6 мес лечения, составила 317,8 мг/сут у больных в РХФ и 346,7 мг у больных в ПХФ. Коррекция рекомендуемых доз ИМ и перевод больных на 2-ю линию ИТК осуществлялись по общепринятым стандартам в связи с непереносимостью и (или) недостаточным цитогенетическим (молекулярным) ответом. Нами проанализирована общая выживаемость (ОВ) через 12 лет от начала лечения ИТК 1-й и 2-й линий, определяемая стандартными статистическими методами.

Результаты. Из 44 пациентов в РХФ к 12 годам лечения ИТК жив 31 (70,5 %) пациент. Из 31 больных в РХФ получают ИМ 23 (74,2 %), 8 (25,8 %) больных переведены на ИТК 2-й линии (НЛ). Умерли из 44 пациентов 13 (29,5 %), из них 6 (13,6 %) по причине прогрессии заболевания. Таким образом, 12-летняя ОВ больных в РХФ составила 70,5 %. Из 44 больных в ПХФ умерли 18 (41 %), из них 15 (34,1 %) по причине прогрессии заболевания. Из 44 пациентов в ПХФ к 12 годам лечения ИМ живы 26 (59 %) пациентов. Из 26 больных в ПХФ получают ИМ 13 (50 %). На ИТК 2-й линии переведены 13 (50 %) больных, из них 5 (38,5 %) получают НЛ, 8 (61,5 %) – ДЗ. Таким образом, 12-летняя ОВ пациентов в ПХФ составила 59 %.

Заключение. Наше исследование показало высокую эффективность ИТК 1-й и 2-й линий (ИМ, НЛ и ДЗ) в лечении ХМЛ по отдаленным результатам лечения в реальной клинической практике. Медиана ОВ больных в РХФ и ПХФ ХМЛ не достигнута.

*М.А. Гафур-Ахунов¹, Н.Р. Шаюсупов¹, Ю.В. Береснева²,
Ф.А. Ибрагимов²*

ОЦЕНКА ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПО СХЕМЕ САФ С ВВЕДЕНИЕМ ИММУНОМОДУЛЯТОРА «БИОКОР– 0,2 Г»

¹Ташкентский городской онкологический диспансер,

Ташкент, Узбекистан;

²ИБОХ АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) – одна из наиболее актуальных проблем в онкологии в связи с высоким уровнем и постоянным ростом заболеваемости. Оценка лекарственного патоморфоза опухоли активно используется в настоящее время, так как является важным показателем эффективности терапии. При использовании различных схем неoadъювантной терапии достигается разный по выраженности эффект в отношении патоморфоза, который зависит от степени злокачественности опухоли и ее гистологического варианта. В Институте биоорганической химии АН РУз разработан иммуномодулятор – препарат «Биокор – 0,2 г» в таблетках. Субстанция «Биокор» представляет собой стандартизованную комбинацию полипептидов сои с молекулярной массой 12,7–79,0 кДа. Биокор – препарат-иммуномодулятор, применяется для комплексного лечения онкологических заболеваний: РМЖ, меланомы, рака прямой кишки, рака эндометрия.

Цель исследования. Оценить патоморфоз при использовании в неoadъювантном режиме полихимиотерапии (ПХТ) у больных с верифицированным РМЖ (стадия T2N0–1M0) по схеме САФ с введением иммуномодулятора препарата «Биокор – 0,2 г» в таблетках.

Материалы и методы. В основу исследования положены сведения из историй болезни, амбулаторных карт диспансерного наблюдения 60 больных (30 – основная группа, 30 – контрольная), получивших лечение в Ташкентском городском онкологическом диспансере (первые клинические испытания). Сравнительное клиническое исследование проводилось у контингента больных женщин, находящихся на стационарном лечении с последующим переводом на амбулаторное лечение. В клиническом испытании участвовали больные в возрасте от 35 до 70 лет с верифицированным РМЖ (стадия T2N0–1M0 в режиме неoadъювантной терапии). В соответствии с утвержденным протоколом пациенткам основной группы была проведена базисная терапия – САФ, и на 3-и сутки назначен «Биокор – 0,2 г» *per os* 4 таблетки в сутки дробно по 2 таблетки утром и вечером между приемами пищи в течение 10 дней. Пациентки контрольной группы получили только базисную терапию САФ. Через 21 день курс лечения был повторен в той же последовательности. Распространенность опухолевого процесса и развитие лекарственного патоморфоза определяли при патогистологическом исследовании операционного материала по схеме, предложенной Г.О. Лавниковой.

Результаты. Более существенные патоморфологические изменения при лечении РМЖ стадии T2N0–1M0 в неoadъювантном режиме были достигнуты при использовании ПХТ по схеме САФ с применением препарата-иммуномодулятора «Биокор – 0,2 г» по сравнению с контрольной группой, где использовалась только ПХТ по схеме САФ. При патоморфозе III–IV степени отмечены фиброз, гибель и дистрофия эпителиальных компонентов опухоли, лимфоидная инфильтрация. В группе, где использовали полихимиотерапии (ПХТ) по схеме САФ с введением препарата-иммуномодулятора «Биокор – 0,2 г» в таблетках, патоморфоз IV степени наблюдался в 20 % случаев, III степени – в 43 %, II степени – в 30 %, I степени – в 7 %. В группе контроля (ПХТ по схеме САФ) патоморфоз IV степени был у 10 % пациенток, III степени – у 27 %, II степени – у 23 %, I степени – у 40 %.

Заключение. Введение препарата «Биокор – 0,2 г» в схему лечения РМЖ существенно снижает распространенность опухолевого процесса и повышает развитие лекарственного патоморфоза.

*М.А. Гафур-Ахунов¹, Н.Р. Шаюсупов¹,
Ю.В. Береснева², Ф.А. Ибрагимов²*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОТЕРАПИИ ПРЕПАРАТОМ «БИОКОР – 0,2 Г» У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹Ташкентский городской онкологический диспансер,

Ташкент, Узбекистан;

²ИБОХ АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) – злокачественное новообразование в области груди, которое представляет серьезную медицинскую и социальную проблему. Среди всех онкологических заболеваний он занимает лидирующие позиции. В Институте биоорганической химии АН РУз разработан иммуномодулятор – препарат «Биокор – 0,2 г» в таблетках. Субстанция «Биокор»

представляет собой стандартизованную комбинацию полипептидов сои с молекулярной массой 12,7–79,0 кДа. Доклинические испытания Биокоора показали, что он обладает противоопухолевой активностью, позволяет бороться с онкологическими заболеваниями через иммунитет. Препарат не только не имеет побочных эффектов, но и способен снизить вредные воздействия других видов лечения (химио- и лучевой терапии). Применяется в сочетании с химио- и лучевой терапией. Применение Биокоора предупреждает распространение метастазов.

Цель исследования. Изучение противоопухолевой эффективности и переносимости препарата «Биокоор» в комбинированном лечении РМЖ (стадия T2N0–1M0 в режиме неoadьювантной терапии).

Материалы и методы. В основу исследования положены сведения из историй болезни, амбулаторных карт диспансерного наблюдения 60 больных (30 – основная группа, 30 – контрольная), получивших лечение в Ташкентском городском онкологическом диспансере (первые клинические испытания). Сравнительное клиническое исследование проводилось у контингента больных женщин, находящихся на стационарном лечении с последующим переводом на амбулаторное лечение. В клиническом испытании участвовали больные в возрасте от 35 до 70 лет с верифицированным РМЖ (стадия T2N0–1M0 в режиме неoadьювантной терапии). В соответствии с утвержденным протоколом пациенткам основной группы была проведена базисная терапия – САФ, и на 3-и сутки назначен «Биокоор – 0,2 г» *per os* 4 таблетки в сутки дробно по 2 таблетки утром и вечером между приемами пищи в течение 10 дней. Пациентки контрольной группы получили только базисную терапию САФ. Через 21 день курс лечения был повторен в той же последовательности.

Результаты. Использование препарата «Биокоор – 0,2 г» в таблетках усиливает противоопухолевый эффект стандартизированной химиотерапии в основной группе по сравнению с контрольной группой. При введении в терапию препарата «Биокоор – 0,2 г» наблюдалось уменьшение объема опухолевых узлов после 2 курсов терапии в основной группе на 74 % против 45 % в контрольной группе. Отмечено также, что размер лимфатических узлов в подмышечной впадине с соответствующей стороны в основной группе на 55 % меньше, чем в контрольной. После 2 курсов терапии у больных в основной группе наблюдалось повышение содержания лейкоцитов на 13 %, снижалась скорость оседания эритроцитов на 26 %, повышалось содержание общего пула Т-лимфоцитов на 23 % по отношению к контрольной группе. Индекс иммунорегуляции в основной группе приближался к нормальным показателям. Отмечено уменьшение курсов химиотерапевтического лечения. Более 50 % пациенток основной группы, принимавших препарат «Биокоор – 0,2 г», были оперированы после 2 курсов химиотерапевтического лечения, в то время как пациентки контрольной группы были оперированы после 4–6 курсов лечения. В результате лечения испытуемым препаратом побочных и неблагоприятных явлений не наблюдалось. Ни одна больная не выбыла из исследования.

Заключение. Необходимо продолжить клинические испытания препарата «Биокоор – 0,2 г» в таблетках с целью

получения рекомендаций для клинического применения как иммуномодулятора в составе комплексной терапии РМЖ.

Г.В. Гиниятуллина, Н.И. Медведева, А.С. Исхаков, О.Б. Казакова

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ N-МЕТИЛПИПЕРАЗИНИЛАМИДА АЗЕПАНОБЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ

УфИХ РАН, Уфа, Республика Башкортостан, Россия

Введение. Пентациклические тритерпеноиды широко распространены в природе и являются эффективными субстратами для синтеза разнообразных биологически активных молекул. Различные типы гетероциклов, содержащих атомы азота, находятся в центре внимания медицинских химиков в мире. Азотсодержащие гетероциклы являются также перспективными и для модификации тритерпеноидов, поскольку атом азота может нести положительный заряд и образовывать водородные связи. Гетероциклические производные имеют несколько ключевых преимуществ по сравнению с их карбоциклическими аналогами, поскольку они, как правило, более стабильны и более устойчивы к метаболической деградации, обладают хорошими ADME-свойствами, могут быть легко получены классическими синтетическими методами. Имеются данные литературы о цитотоксичности гетероциклических производных, аннелированных с циклами А и Е тритерпеноидов. В то же время практически нет информации о синтезе и биологической активности тритерпеноидов, в структуре которых нативный гексациклический карбоцикл заменен на семичленный циклический амин. Ранее мы сообщали о том, что азепанотритерпеновые спирты и их ацилаты обладают противоопухолевой активностью. В настоящей работе мы сообщаем о синтезе и противоопухолевой активности нового азепанотритерпеноида с пиперазинильным фрагментом.

Цель исследования. Синтез и изучение противоопухолевой активности N-метилпиперазиниламида азепанобетулиновой кислоты.

Материалы и методы. N-метилпиперазиниламид азепанобетулиновой кислоты синтезировали в несколько стадий из лупанового тритерпеноида бетулина. Структура соединения установлена с использованием методов ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Противоопухолевая активность *in vitro* (цитотоксичность) изучена в National Cancer Institute (NCI) на клетках 60 линий 9 различных опухолей человека (рака легких, толстой кишки, центральной нервной системы, яичников, почек, предстательной железы, головного мозга, лейкемии, меланомы).

Результаты. N-метилпиперазиниламид бетулоновой кислоты, полученный по описанному нами ранее методу (Биоорган. химия, 2010. С. 416), оксиминировали по положению С3, последующая перегруппировка Бекмана оксима привела к А-азепанону, восстановление которого LiAlH₄ позволило синтезировать N-метилпиперазиниламид азепанобетулиновой кислоты (общий выход в пересчете на бетулин около 20 %). В соответствии с критерием, принятым в NCI (ингибирование роста клеток до 32 % от контроля или их гибель), соединение в концентрации

100 мкМ активно в отношении клеток Leukemia SR и Colon Cancer HT-29.

Заключение. Впервые осуществлен синтез и изучена цитотоксичность *N*-метилпиперазиниламида азепанобетулиновой кислоты.

Авторы благодарят NCI за определение противоопухолевой активности in vitro.

*Е.В. Голуб, В.В. Полькин, Г.Ф. Михайлова,
Т.Г. Шкаврова, В.В. Цепенко, В.С. Медведев*

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АНАЛИЗА НЕСТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ДЛЯ ОЦЕНКИ ПРОГНОЗА ОТДАЛЕННЫХ РЕЦИДИВОВ

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Калужская область, Россия

Введение. Несмотря на терапевтические достижения последнего десятилетия, частота случаев локального рецидива рака слизистой оболочки полости рта (СОПР) по-прежнему достаточно высока. Это связано с тем, что ткани после резекции могут содержать предзлокачественные клетки, гистологическая оценка которых ненадежна. С позиции молекулярно-цитогенетических нарушений эти клетки имеют дисбаланс числа копий генов *EGFR*, *CCND1* и полисомию хромосом 7 и 11 (СЕР7 и СЕР11), что вызывает нестабильность генома. У пациентов с раком СОПР, имеющих эти нарушения, при отсутствии адъювантной терапии в половине случаев развивался отдаленный рецидив.

Цель исследования. Оценить частоту клеток с повышенным числом копий генов *EGFR*, *CCND1* и полисомией СЕР7 и СЕР11 в контрольных и опухолевых образцах СОПР.

Материалы и методы. Исследовали образцы мазков опухоли СОПР различной локализации и стадий 36 пациентов до и после γ -лучевой терапии (19 пациентов) в суммарной очаговой дозе (СОД) до 54 Гр. Контролем служили мазки СОПР 3 здоровых человек. Исследование выполнено методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (I-FISH).

Результаты. В контрольных образцах выявлено 0,5 % клеток с повышенным числом копий только гена *CCND1* и 0,5 % с полисомией СЕР7. В опухолевых образцах до начала лечения частота клеток с повышенной копийностью генов колебалась максимально до 22,0 и 31,0 % для *EGFR* и *CCND1* соответственно. Частота клеток с полисомией СЕР7 и СЕР11 варьировала до 93,0 и 74,5 % соответственно. После облучения в большинстве образцов выявлено увеличение частоты клеток с повышенной копийностью обоих генов. Для полисомии СЕР7 и СЕР11 наблюдался разнонаправленный ответ на γ -лучевую терапию. В 31,6 % образцов рака СОПР обнаружено повышение частоты клеток с полисомией хромосом 7 и 11, а в 36,8 % – снижение.

Заключение. Во всех образцах рака СОПР частота клеток с молекулярно-цитогенетическими нарушениями достоверно ($p < 0,05$) превышала контрольный уровень. Ответ на γ -лучевую терапию может объясняться различной радиочувствительностью и требует индивидуального подхода. При этом наличие высокой частоты клеток с нарушениями

генома после γ -лучевой терапии позволяет выделить группу пациентов с возможным риском прогрессии, метастазов опухоли СОПР и отдаленных рецидивов.

*И.С. Голубева, В.А. Еремина, Н.И. Тихонова,
М.В. Дмитриева, Л.В. Эктова, Н.П. Яворская*
ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ИНДОЛОКАРБАЗОЛА ЛХС 1269 НА РАКЕ ЛЕГКОГО ЛЛС, РЕЖИМЫ И СПОСОБЫ ВВЕДЕНИЯ
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Было продолжено изучение противоопухолевой активности соединения с углеводным остатком ксилозой из класса *N*-гликозидов индокарбазолов – ЛХС-1269.

Цель исследования. Изучение режимов и способов введения соединения ЛХС-1269.

Материалы и методы. Исследования проводили на модели рака легкого Льюис (LLC) в разных режимах применения: ежедневно 5 раз через 24 ч (I), 2 раза через 96 ч (II), однократно (III) и способах введения: подкожно (п/к), *per os* (р/о), внутривенно (в/в), внутрибрюшинно (в/б). В опытах использованы мыши-гибриды BDF1 с массой тела 18–22 г. Критериями эффективности служили торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) опытных мышей по сравнению с нелеченым контролем. Соединение вводили в лекарственной форме с концентрацией действующего вещества 5 мг/мл, в дозах 60, 70, 80, 100, 120, 130, 150 и 200 мг/кг.

Результаты. В дозе 60 мг/кг при введении п/к в режиме I ЛХС-1269 вызывал 78 % ТРО на LLC после окончания лечения, сохраняющееся на уровне 58 % до 20-го дня наблюдения с УПЖ животных 34 %. При п/к введении в режиме II в дозах 100 и 120 мг/кг ЛХС-1269 показал те же эффекты ТРО, что и в дозе 60 мг/кг при введении п/к в режиме I. При введении р/о в режиме I в дозах 130, 150 и 200 мг/кг ЛХС-1269 показал эффект ТРО = 64–52 и 69–61 % продолжительностью до 8-го дня наблюдения после лечения соответственно. Доза 200 мг/кг – без эффекта. Показано, при в/в способе применения наилучший противоопухолевый эффект установлен при I режиме введения ЛХС-1269 в дозе 60 мг/кг. Способ применения п/к оказал высокий противоопухолевый эффект при режиме введения I ЛХС-1269 в дозе 60 мг/кг и при режиме II в дозе 100 мг/кг. Сравнение в/в способа введения в 2 режимах – I и III – в диапазоне доз 60, 70 и 80 мг/кг выявило наилучший противоопухолевый эффект при I режиме (ТРО = 94–51 % в течение 20 дней) в дозе 60 мг/кг. При сравнении в/б способа введения в 2 режимах – I и II – противоопухолевая активность соединения оказалась наиболее высокой в дозе 120 мг/кг в режиме II, ТРО составило 61 % с сохранением активности на уровне 67 % до 20-го дня наблюдения после окончания лечения.

Заключение. Соединение ЛХС-1269 показало высокую противоопухолевую эффективность при разных способах и режимах введения на LLC, которые можно использовать для дальнейших доклинических испытаний.

*И.С. Голубева, О.В. Горюнова, Г.Н. Апрышко,
Р.Б. Пугачева, Н.П. Яворская*

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ ИНДОЛОКАРБАЗОЛА

*ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва, Россия*

Введение. Провели поиск противоопухолевых низкомолекулярных соединений, опирающийся на возможность компьютерного прогнозирования их биологической активности.

Цель исследования. Оценить перспективность создания производных N-гликозидов индолокарбазола, содержащих аминокислотные остатки, как потенциальных противоопухолевых средств.

Материалы и методы. Аминокислотные производные гликозидов индолокарбазола (АПГИК) были синтезированы в лаборатории химического синтеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Исследования проведены на модели рака шейки матки РШМ5. В опытах использованы мыши-самки СВА/Лас с массой тела 18–22 г. Критериями эффективности служили торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) опытных мышей по сравнению с нелеченым контролем.

Результаты. Показано, что в соответствии с компьютерным прогнозом с использованием программы PASS вероятность цитотоксической активности для соединений АПГИК не превышала 30 %. В результате изучения их *in vitro* на клетках опухолей человека соединения не обнаружили цитотоксическую активность, что подтвердилось значением индекса $IC_{50} > 10^{-5}$ М, полученным для всех изученных производных этого ряда. При этом соединения АПГИК проявили противоопухолевую активность *in vivo*, о вероятности до 75 % которой указывал прогноз на основе компьютерного анализа. Из 19 соединений АПГИК, объединенных в 7 групп по строению боковых цепей аминокислот, 11 проявили противоопухолевую активность без гибели мышей с 50–93 % ТРО. После окончания лечения у 2 АПГИК ТРО сохранялось на уровне 50–67 % до 16-го дня, у 3 – до 21-го дня наблюдения с ТРО 59–61 %, у 1 – до 25-го дня с ТРО 54 % и у 2 – с ТРО 52–65 % до 29-го дня наблюдения. УПЖ составляло 16–25 %.

Заключение. Подтверждена предсказанная с использованием программы PASS противоопухолевая активность АПГИК в опытах *in vivo* на мышцах с РШМ5 с отбором 5 лидерных соединений. На основании полученных данных необходимо отобрать 1–2 соединения для углубленного изучения.

*Н.Ф. Гольдшлегер¹, М.А. Лапина¹, А.М. Колесникова¹,
Н.Н. Дремова¹, В.Е. Баулин^{2,3}, А.Ю. Цивадзе²*

КРАУН-СОДЕРЖАЩИЕ ФТАЛОЦИАНИНЫ КАК КОМПОНЕНТЫ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ СОЛЕЙ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ: СВОЙСТВА, МОЛЕКУЛЯРНОЕ СОСТОЯНИЕ И ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ИЗ ГЕЛЯ

*¹ФГБУН ИПХФ РАН, Черногоровка,
Московская область, Россия;*

²ФГБУН ИФХЭ РАН, Москва, Россия;

*³ФГБУН ИФВ РАН, Черногоровка, Московская область,
Россия*

Введение. Лабильные супрамолекулярные ансамбли гелеобразователей как низкомолекулярных, так и полимерных, выступают в качестве превосходных хозяев для внедрения различных гостей, включая наноматериалы. Краун-содержащие фталоцианины (ФЦ) несут в молекуле 2 потенциально активные медико-биологические структуры – макроцикл и краун-фрагменты, присутствие которых на периферии макроцикла обеспечивает растворимость ФЦ в водной среде. Представляемая работа посвящена состоянию ФЦ в микрогетерогенных средах на основе дезоксихолата натрия (ДХН) – представителя семейства солей желчных кислот, образованию с его участием гидрогелей, включая флуоресцентно-активные.

Цель исследования. Образование и свойства низкомолекулярных гидрогелей на основе ДХН с участием окта[(4'-бензо-15-краун-5)-окси]фталоцианината магния ($MgCr_8Pc$) в качестве активного компонента, в том числе состояние $MgCr_8Pc$ и высвобождение его из геля.

Материалы и методы. Изучение поведения $MgCr_8Pc$ в микрогетерогенных средах на основе ДХН проводили в водном растворе или в фосфатном буфере с использованием электронной и флуоресцентной спектроскопии. При формировании геля с введенным ФЦ использовали прямой (смешение компонентов) или диффузный метод.

Результаты. Данные абсорбционной спектроскопии о преимущественно мономерном состоянии $MgCr_8Pc$ в мицелярных растворах ДХН в присутствии NaCl подтверждаются результатами флуоресцентной спектроскопии. Показано образование супрамолекулярных гидрогелей на основе ДХН с включением $MgCr_8Pc$ в качестве активного компонента. Гели формируются при значениях pH и ионной силы, близких к физиологическим. При внешнем воздействии – плавлении геля или ослаблении его силы в присутствии некоторых аминокислот – ФЦ переходит в раствор в состоянии мицеллосвязанного мономера. Отсутствие рефлексов кристаллического ДХН на рентгенограммах ксерогелей $MgCr_8Pc$ /ДХН/NaCl согласуется с формированием геля. Волокна (структурная единица геля) состоят из стержневидных агрегатов микрометровой длины и шириной 100–200 нм. На основании результатов флуоресцентной микроскопии сделан вывод о состоянии $MgCr_8Pc$ в гелях и ксерогелях в форме супрамолекулярных агрегатов мономера ФЦ с ДХН/NaCl.

Заключение. Показано образование супрамолекулярных гидрогелей на основе природных поверхностно-активных веществ (солей желчных кислот) с включением модельного соединения – окта[(4'-бензо-15-краун-5)-окси]фталоцианината магния в качестве активного компонента.

*Работа выполнена по теме гос. задания ФАНО
(№ 0089-20-14-0036) и поддержана Программой
фундаментальных научных исследований
Президиума РАН № 34.*

*Н.Я. Грдина, А.Н. Морозов, В.Д. Розуменко,
Н.Г. Драгунова, О.И. Веселова*

**ОБОСНОВАНИЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ
К ПРИМЕНЕНИЮ ИММУНОТЕРАПИИ
ПРИ ЛЕЧЕНИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ ДОЗАМИ
ВЕРАПАМИЛА ГИДРОХЛОРИДА,
ПОДАВЛЯЮЩИМИ АКТИВНОСТЬ
NMDA-РЕЦЕПТОРОВ И ПРОЯВЛЕНИЯ
ОПУХОЛЬАССОЦИИРОВАННОГО ВОСПАЛЕНИЯ
У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОБЛАСТОМАМИ**

*Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова
НАМН Украины, Киев, Украина*

Введение. Глиобластомы, наиболее злокачественные внутримозговые опухоли, ограничивают продолжительность жизни пациентов в послеоперационном периоде до 1–2 лет. Наряду с традиционными эмпирическими методами лечения глиобластом появляются новые, патогенетически обоснованные методы лечения, одним из которых является метод, основанный на торможении проявлений опухольассоциированного воспаления (ОАВ), которое в послеоперационном периоде способствует появлению рецидивов глиобластом в течение 1-го года после операции. Верапамил является блокатором кальциевых каналов и обладает противовоспалительным и противоопухолевым действием, подавляя активность NMDA-рецепторов и снижая уровень агрегации клеток крови (УАКК – II стадия воспаления) в определенном интервале концентраций. Однако применение препарата в клинических условиях проводится на фоне других лечебных мероприятий, назначаемых пациентам в послеоперационном периоде. Сочетание лечения верапамила гидрохлоридом с химиопрепаратами способствует преодолению резистентности глиобластом к этим препаратам, что известно из источников литературы. В то же время совместное назначение верапамила гидрохлорида с мероприятиями по проведению иммунотерапии пациентов с глиобластомами вызывает некоторые сомнения в их обоснованности.

Цель исследования. Исследование влияния различных концентраций верапамила гидрохлорида на пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови в тесте РБТЛ (реакция бласттрансформации) и УАКК у пациентов с глиобластомами.

Материалы и методы. Исследовали кровь у 53 пациентов с глиобластомами на 7–8-е сутки после операции с добавлением гепарина, который, как известно, не влияет на агрегацию клеток крови. К образцам клеток крови по 200 мл в объеме добавляли по 20 мл 0,25 % раствора верапамила гидрохлорида («Фармак») в разведениях от 10 до 100 000 раз. Проводили реакцию РБТЛ общепринятым методом с добавлением раствора ФГА (фитогемагглютинин, Sigma). УАКК после добавления разведений верапамила гидрохлорида определяли на биосенсоре «Плазмон». Сопоставляли количество лимфобластов (ЛБ) с показателями УАКК методом стандартизации полученных данных.

Результаты. Увеличение количества ЛБ при повышении УАКК под влиянием разведения верапамила в 10 раз может свидетельствовать об отсутствии иммуносупрессии при глиобластомах. Отмечается зависимость количества

ЛБ от УАКК при всех разведениях верапамила гидрохлорида. При больших разведениях (физиологических концентрациях) верапамила лимфопролиферативная функция ЛБ остается повышенной на фоне снижения УАКК. Эти результаты могут свидетельствовать об умеренном иммуностимулирующем действии верапамила.

Заключение. В работе проведено обоснование для проведения патогенетического лечения пациентов с глиобластомами в послеоперационном периоде с помощью блокатора кальциевых каналов верапамила гидрохлорида без комбинации с методами искусственной иммуностимуляции, так как верапамила гидрохлорид обладает патогенетически обоснованным иммуностимулирующим механизмом, связанным с УАКК.

*И.А. Гринева^{1,2}, А.А. Балакина², Т.С. Ступина²,
Б.С. Федоров², А.А. Терентьев^{1,2,3}*

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
ЦИТОТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСА ПЛАТИНЫ (IV)
С ЛИГАНДАМИ – ПРОИЗВОДНЫМИ
ИЗОНИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ**

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

*²ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область,
Россия;*

³МГОУ, Москва, Россия

Введение. Комплексы на основе платины (II) широко используются в лечении опухолевых заболеваний. Одним из основных недостатков препаратов платиновой группы является высокая токсичность для нормальных клеток организма человека. Преимущество комплексов платины (IV) перед комплексами платины (II) заключается в том, что они обладают не только высокой активностью, но и пониженной токсичностью. В ходе работы был получен и исследован новый комплекс платины (IV) ИНК-2, включающий лиганды – производные изоникотиновой кислоты.

Цель исследования. Изучение механизма действия комплекса платины (IV) ИНК-2 на опухолевые клетки различного происхождения.

Материалы и методы. В работе использовали комплекс платины (IV) с лигандами – производными изоникотиновой кислоты (ИНК-2). Эксперименты проводили на клеточных линиях HepG2 (гепатоклеточная карцинома человека), Saso2 (аденокарцинома прямой кишки человека), A-172 (глиобластома человека), PANC-1 (аденокарцинома протоков поджелудочной железы человека), HeLa (аденокарцинома шейки матки человека). Цитотоксичность соединения определяли после 24 и 72 ч действия по методу МТТ-теста. Профиль клеточного цикла изучали методом проточной цитофлуориметрии. Уровень экспрессии генов *p21*, *14-3-3*, *pcna*, *nox* и *sod2* определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием реакционной смеси qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия) после 12 ч действия комплекса в дозе IC₅₀. Иллюстрации клеток, погибших путем апоптоза, были сделаны в флуоресцентном и проходящем свете на микроскопе, предварительно зафиксированные клетки были обработаны красителем DAPI. Накопление активных форм кислорода определяли с использованием красителя DCFDA. Для изучения

накопления белка p53 и деградации белка PARP в клетках использовали метод иммуноблоттинга.

Результаты. Показано, что комплекс ИНК-2 обладает токсичностью для опухолевых клеток всех изученных линий. Наибольшую цитотоксичность исследуемый комплекс проявил на линии A-172 (87 мкМ), а наименьшую — на клетках линии PANC-1 (189 мкМ). Анализ клеточного цикла при действии комплекса ИНК-2 выявил существенное снижение количества клеток в фазах G1 и G2/M, а также накопление клеток в области subG1, что говорит об остановке клеточного цикла и индукции клеточной гибели. В клетках A-172 комплекс ИНК-2 вызывает значительную активацию экспрессии гена остановки клеточного цикла *p21* и проапоптотического гена *poxa*. Установлено, что комплекс платины (IV) ИНК-2 вызывает накопление активных форм кислорода в опухолевых клетках. На клеточной линии A-172 при действии комплекса выявлено накопление белка p53, а также деградация белка PARP.

Заключение. Показано, что комплекс ИНК-2 оказывает цитотоксическое действие на опухолевые клетки разных типов. Цитотоксическое действие комплекса ИНК-2 на клетки A-172 сопровождается выраженным изменением клеточного цикла, накоплением активных форм кислорода и экспрессией генов, участвующих в регуляции пролиферации и клеточной гибели. Показано, что комплекс вызывает клеточную гибель по p53-зависимому механизму.

*Д.А. Гук¹, О.О. Красновская¹, Е.К. Белоглазкина¹,
Д.А. Скворцов¹, А.В. Бачева¹, В.П. Дядченко¹,
М.А. Косарев¹, А.В. Солдатов², Н.В. Зык¹, А.Г. Мажуга^{1,3,4}*

НОВЫЕ ЦИТОТОКСИЧНЫЕ КООРДИНАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ CU (II/I), FE (III/II) КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ

¹Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²Ростовский государственный университет, Ростов-на-Дону, Россия;

³НИТУ «МИСиС», Москва, Россия;

⁴РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. Повышение селективности платиновых препаратов к опухолевым клеткам лишь косвенно решает проблему их общей токсичности, приводящей к развитию тяжелых побочных эффектов. Вследствие этого в настоящее время актуальным направлением в координационной и биомедицинской химии является поиск новых координационных соединений на основе эндогенных металлов, по определению обладающих меньшей общей токсичностью. Такие переходные металлы, как железо, кобальт, цинк и медь, входят в число микроэлементов и являются естественными участниками внутриклеточного метаболизма, что делает целесообразным синтез металлоорганических соединений на их основе и исследование их биологической активности. Как было показано, одним из ключевых достоинств координационных соединений меди в качестве антинеопластических препаратов является широкий спектр возможных механизмов цитотоксической активности.

Цель исследования. Синтез и физико-химические исследования новых редокс-активных координационных

соединений меди на основе производных 2-тиогидантоинов, способных эффективно проникать в опухолевые клетки.

Материалы и методы. Структура органических лигандов подтверждалась спектрами ЯМР ¹H и ¹³C, зарегистрированными на приборах Bruker DPX-300 и Agilent 400 MR, структура координационных соединений — спектрами MALDI, зарегистрированными на приборе Bruker Daltonics Ultraflex (положительные ионы). Степень окисления меди и электрохимические переходы Cu (II/I), Fe (III/II) исследовались методами ЦВА и XANES-спектроскопии. Токсичность по отношению к клеточным линиям опухолей измерялась по методу МТТ. Константы связывания координационных соединений с ДНК и сывороточным альбумином вычислялись по данным флуориметрического титрования на приборе Varian Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer.

Результаты. В настоящей работе были синтезированы 3 серии новых координационных соединений меди с лигандами на основе 2-тиогидантоинов, содержащих при атоме азота N3 имидазолонового цикла дополнительные редокс-активные группировки: ферроценильную, менадионовую и орто-/пара- замещенную аминобензольную соответственно, способных интеркалировать ДНК и инициировать циклические окислительно-восстановительные процессы, ведущие к генерации активных форм кислорода (ROS). Для полученных координационных соединений были установлены зависимости структура—редокс-потенциал—цитотоксичность.

Заключение. Полученные данные подтверждают, что разработанный класс координационных соединений меди описанной структуры может быть использован для разработки перспективных препаратов для терапии злокачественных новообразований. На основе полученных результатов и зависимостей осуществлен выбор соединения-лидера для дальнейшей модификации и оптимизации в качестве перспективного терапевтического агента.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-33-60166).

*Н.Н. Гурина¹, Д.В. Новиков¹, С.Г. Фомина¹, А.В. Алясова²,
М.А. Магомедов³, Р.Г. Пегов³, В.В. Новиков¹*

МОЛЧАНИЕ ГЕНА MUC1 АССОЦИИРОВАНО С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ МРНК FOXR3 И IL2RA В КАРЦИНОМАХ ТОЛСТОЙ КИШКИ

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия;

²ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород, Россия;

³ГБУЗ НО НОКОД, Нижний Новгород, Россия

Введение. Характеристики местного иммунитета (процентное содержание клеток иммунной системы, их фенотип, состояние активации и расположение) в опухолях являются наиболее значимым прогностическим фактором выживаемости больных колоректальным раком (КРР). В то же время прогностическая значимость процентного содержания инфильтрирующих опухоль Т-регуляторных клеток дискутируется в научной литературе. Муцин 1 (MUC1) играет важную роль в модуляции транскрипции регуляторных генов, ассоциированных с инвазивностью, метастазированием, ангиогенезом, пролиферацией и устойчивостью

к гипоксии раковых клеток, и его экспрессия в опухолях больных КРР является неблагоприятным прогностическим показателем.

Цель исследования. Сравнить уровни экспрессии генов *FoxP3* и *IL2Ra*, являющихся маркерами Т-регуляторных клеток, с экспрессией MUC1 в образцах опухолевых очагов больных КРР.

Материалы и методы. Исследовали 58 образцов опухолевых очагов КРР, взятых сразу после резекции опухоли у больных, проходивших лечение в ГБУЗ НО НОКОД. Уровни мРНК MUC1, *FoxP3* и *IL2Ra* определяли методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Результаты. Матричная РНК MUC1 была обнаружена в 76 % (44 из 58), CD25 – в 79 % (46 из 58), *FoxP3* – в 74 % (43 из 58) образцов опухолевых очагов больных КРР. Сравнение уровней мРНК *FoxP3* и *IL2Ra* между MUC1-положительными и MUC1-отрицательными опухолями показал, что при молчании гена *MUC1* регистрировался более высокий уровень экспрессии *FoxP3* и *IL2Ra* ($p = 0,034$).

Заключение. В MUC1-отрицательных карциномах показатели маркеров Т-регуляторных клеток статистически выше, что свидетельствует о сильном иммуносупрессивном микроокружении данных опухолей.

Е. В. Давыдов^{1,2}, Ю. В. Алексеев³, А. В. Иванов⁴

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 1264 НМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ КОЖИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Ветеринарный центр «РосВет», Москва, Россия;

²ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств», Москва, Россия;

³ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия;

⁴ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. В конце 1980-х годов отечественные ученые высказали, а к 1997 г. экспериментально доказали гипотезу о том, что образование синглетного кислорода в ткани возможно только за счет лазерного излучения, которое «попадает» в полосу поглощения молекулярного кислорода. Обнаруженное явление было названо светокислородным эффектом (в отличие от фотодинамического эффекта, где для образования синглетного кислорода требуется фотосенсибилизатор). При этом наиболее эффективным оказалось излучение с длиной волны 1264 ± 5 нм в основной полосе поглощения кислорода. Базально-клеточный рак кожи (БКРК) – относительно частая опухоль как у человека, так и у мелких домашних животных.

Цель исследования. Изучить возможность использования лазерного излучения с длиной волны 1264 нм для лечения БКРК в эксперименте на собаках со спонтанно возникшими опухолями.

Материалы и методы. Исследование проведено на 5 собаках в возрасте от 8 до 13 лет со спонтанно возникшим БКРК. Опухоли имели вид плотных солидных образований, бугристые, с эрозией на поверхности и умеренной экссудацией. Локализация опухолей – области головы, шеи, спины и конечностей. Диаметр опухолей от 0,7 до 3,0 см. В качестве источника излучения использовался лазерный модуль с длиной волны 1264 нм и оптоволокон-

ным выходом излучения с регулируемой до 3 Вт мощностью.

Результаты. Опухоли облучали наружно, при этом плотность мощности была 0,3–1,3 Вт/см² и доза облучения была от 700 до 950 Дж/см² в зависимости от размеров опухоли. Зачастую предварительно опухоль облучали на низкой мощности (700–1000 мВт), а через 1–3 мин переводили на большую мощность, что позволяло избежать дискомфорта у животных, связанного с началом облучения (при отсутствии термического эффекта, но с наличием некоторых преходящих тактильных ощущений). При облучении опухолей большого диаметра (>1 см) использовалась методика облучения нескольких полей диаметром по 1 см с перекрытием соседних полей облучения. После лазерного воздействия на опухоль были видны небольшое изменение сосудистого рисунка, припухлость тканей, затем образовывался струп, который проходил, в зависимости от размеров опухоли, через 7–12 дней, на месте струпа оставалась область ткани с признаками эпителизации. Период наблюдения за животными составлял от 4 до 19 мес, при этом отмечалась полная регрессия опухоли, признаков рецидивирования не обнаружено. Следует отметить, что при размере опухоли >2 см понадобилось несколько сеансов воздействия.

Заключение. Лазер с длиной волны 1264 нм возможно применять для лечения БКРК у животных. Полученные данные следует считать предварительными, которые тем не менее позволяют сделать вывод о перспективах применения светокислородного эффекта в лечении злокачественных опухолей человека.

А. М. Дёмин¹, Т. Р. Низамов², А. Г. Першина³, М. А. Абакумов², В. П. Краснов¹, А. Г. Мажуга^{2,4,5}

СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ Fe₃O₄, МОДИФИЦИРОВАННЫХ рНЛIP, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МАГНИТОКОНТРАСТНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ МРТ-ДИАГНОСТИКИ

¹ИОС УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

²НИТУ «МИСИС», Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия;

⁴МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия;

⁵РХТУ им. Д. И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. рНЛIPs (рН-зависимый встраиваемый пептид) – класс пептидов с рН-зависимой трансмембранной активностью, способных встраиваться в мембрану клетки при понижении рН среды <7. Закисление межклеточного пространства является свойством опухолевых, воспаленных, ишемических и других пораженных тканей. Поэтому рНЛIP успешно может быть использован для нацеливания биологически активных молекул и контрастных меток в закисленные ткани.

Цель исследования. Разработка метода синтеза конъюгата наночастиц на основе Fe₃O₄, синтезированных методом термического разложения и покрытых SiO₂-оболочкой, с рНЛIP с целью получения высокоспецифичных потенциальных магнитоконтрастных препаратов для диагностики опухолей.

Материалы и методы. Синтез осуществлялся с использованием магнитных наночастиц (МНЧ) на основе Fe₃O₄

со средним диаметром 10 и 20 нм, синтезированных методом термического разложения из ацетилацетоната железа, покрытых SiO₂-оболочкой и модифицированных 3-аминопропилсиланом (МНЧ-SiO₂-NH₂). rHLIP приобретен (Wachem, США). Полученные наночастицы охарактеризованы методами ИК-спектроскопии, ТГА, элементного анализа (CHN), СЭМ, ПЭМ.

Результаты. МНЧ-SiO₂-NH₂ модифицировали малеимидным кросс-линкером EMCS, имеющего активированную карбоксильную группу, и затем rHLIP по аналогии с методикой А.М. Demin et al. (2016). Имобилизацию пептида подтверждали при использовании данных ИК-спектроскопии. По данным элементного анализа и ТГА показано, что поверхностная модификация rHLIP протекает более эффективно для МНЧ с диаметром 10 нм в сравнении с МНЧ диаметром 20 нм (4,62 и 3,99 мкмоль пептида в расчете на 1 г МНЧ соответственно). Изучены магнитные свойства полученных материалов.

Заключение. Проведена сравнительная модификация rHLIP наночастиц с различными размерами (10 и 20 нм); показано, что синтезированные материалы могут быть использованы в дальнейшем в качестве магнито-контрастных агентов для проведения опытов *in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (№ 17-14-01316).

*В.П. Дерягина¹, Н.И. Рыжова¹, И.С. Голубева¹,
И.В. Бешлей², Л.А. Савлущинская¹, Т.И. Ширшова²*

ВЛИЯНИЕ СТЕРОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СОПЛОДИЙ *ALLIUM SCHOENOPRASUM L.*, НА РОСТ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЕЙ У МЫШЕЙ

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва, Россия;

²Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар,
Республика Коми, Россия

Введение. К настоящему времени на клеточных культурах опухолевых клеток получены доказательства цитотоксической и антипролиферативной активности стероидных гликозидов (СГ), выделенных из разных видов лука. Однако исследований на животных, подтверждающих противоопухолевое действие СГ, нами не обнаружено.

Цель исследования. Определение компонентного состава СГ, выделенных из соплодий *A. schoenoprasum L.*, и изучение их способности оказывать ингибирующее действие на рост перевиваемой карциномы Эрлиха (КЭ) у мышей.

Материалы и методы. СГ из соплодий *A. schoenoprasum var. major* экстрагировали 70 % водным этанолом. Экстракты упаривали, выпавшие осадки спираноловых гликозидов (СпГ) отделяли центрифугированием. Надосадочную жидкость, содержащую фураностаноловые гликозиды (ФГ), экстрагировали насыщенным водой бутанолом-1. Доля экстрактивных веществ, содержащая СпГ, составила 5,02 %, а ФГ – 3,64 % от массы воздушно-сухого сырья. Опыты проведены на 72 мышках-самцах F1 (СВА/Лас × С57BL/6). Опухолевые клетки (10⁶ клеток) перевивали подкожно в правую паховую область. Мыши 2, 3, 4-й групп за 2 нед до перевивки КЭ и в течение всего опыта (профилактиче-

ский режим) получали перорально водно-спиртовой раствор СпГ (8 % спирта) в дозе соответственно 15 и 30 мг/кг или ФГ в дозе 30 мг/кг. Мыши 5-й, 6-й групп с 4-х суток после инокуляции клеток КЭ и в течение опыта получали соответственно 60 мг/кг СпГ или 60 мг/кг ФГ (лечебный режим).

Результаты. Профилактическое введение мышам СГ как спираноловой природы, действующим веществом которых является дельтонин, так и фураностаноловой природы, основными компонентами которых являются дельтозид и протодиосцин, не сказалось на латентном периоде формирования опухолевых узлов и скорости роста опухоли. Тестирование СпГ в лечебном режиме выявило неустойчивое стимулирование роста КЭ (до 27,5 %, *p* = 0,02) под их действием. Наряду с этим при терапии ФГ в дозе 60 мг/кг прослеживается тенденция ингибирования роста опухолей, определяемого как по объему, так и по массе опухоли.

Заключение. Представляется целесообразным продолжить исследования противоопухолевой активности ФГ с использованием широкого диапазона доз.

*Е.А. Длин¹, С.П. Степанова¹, А.В. Финько¹, Д.А. Скворцов¹,
Е.К. Белоглазкина¹, Н.В. Зык¹, А.Г. Мажуга^{1,2}*

(Z)-4-АРИЛИДЕН-1-АРИЛ-2-(АРИЛСЕЛЕНИЛ)-1Н-ИМИДАЗОЛ-5(4Н)-ОНЫ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИНГИБИТОРЫ АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА

¹Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия;

²РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. Одну из важных проблем современной медицины представляет рак предстательной железы, который является одним из самых распространенных заболеваний среди мужчин средней и старшей возрастной категорий. На сегодняшний день имеется ряд подходов к терапии онкологических заболеваний предстательной железы, среди которых выделяют применение антиандрогенов, таких как энзалутамид (Xtandi, IC₅₀ LNCaP 5,6 ± 1,2 мкм и РС-3 7,1 ± 2,2 мкм) и нилутамид (Anandron). Зачастую антиандрогеновые препараты содержат гидантоиновый или тиогидантоиновый фрагменты. Последние являются привилегированными структурами, модификация которых позволяет получать различные биологически активные вещества. Ранее в нашей лаборатории была синтезирована библиотека S-ариллированных тиогидантоинов, были выявлены соединения-лидеры, которые показали высокую активность на клеточных линиях LNCaP 4,6 ± 0,7 мкм и РС-3 >50 мкм и не проявили токсичности на здоровых клетках легочного эпителия человека. Мы предполагаем, что введение атома селена в структуру молекул позволит совместить противоопухолевую активность полученных нами ранее соединений и антиоксидантные свойства биологически активных селеносодержащих препаратов.

Цель исследования. Разработка синтетических подходов, синтез библиотеки, а также физико-химические и биологические исследования 2-селеногидантоинов.

Материалы и методы. Полученные соединения были синтезированы с использованием коммерчески доступных реагентов. Синтез включал в себя 3 стадии: получение

исходных селеномочевин; конденсация с соответствующими ароматическими альдегидами; С–Se сочетание полученных соединений с рядом ароматических борных кислот в присутствии солей меди (II). Структура всех полученных селеногидантоинов была подтверждена с использованием базовых физико-химических методов (ЯМР-спектроскопия, ИК-спектроскопия и масс-спектроскопия высокого разрешения). Биологическое тестирование осуществляли методом MTS на клеточных линиях LNCaP и/или 22RV1 и PC-3.

Результаты. Нами были разработаны синтетические подходы к получению ранее не описанных продуктов медь-катализируемого сочетания 2-селеногидантоинов с ароматическими борными кислотами. Синтез подразумевал использование коммерчески доступных реагентов. Была получена библиотека соединений. Для целевых (Z)-4-арилден-1-арил-2-(арилселанил)-1Н-имидазол-5(4Н)-онов была определена противоопухолевая активность на клеточных линиях LNCaP и/или 22RV1 и PC-3.

Заключение. В рамках данной работы была получена библиотека арил-селеногидантоинов, которые являются потенциальными биологически активными препаратами.

Работа выполнена при поддержке РФФ, грант № 17-74-10065.

М.В. Дмитриева¹, Т.А. Тимофеева², Л.Л. Николаева^{1,2}, И.И. Краснюк², Т.В. Денисова²

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ДИСПЕРСИИ ТИОСЕНСА ПРИ ЭКСТРУЗИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ФИЛЬТРА

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Введение. Несомненную практическую значимость на этапе разработки липосомальной лекарственной формы (ЛЛФ) представляют характеристика и оценка устойчивости получаемого продукта, причем изучению последней уделено особое внимание. Существенным образом на стабильность липосом влияют способы их получения. Таким образом, весьма актуальным является исследование влияния технологических факторов на различных этапах получения ЛЛФ на показатели стабильности продукта.

Цель исследования. Оценка влияния фильтрующего материала на стабильность дисперсии мультиламеллярных липосом (МЛЛ) тиосенса на стадии экструзии.

Материалы и методы. Свежеприготовленная дисперсия МЛЛ тиосенса (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России). Мембранные фильтры с диаметром пор 0,20–0,22 мкм: нейлоновые (Н) Pall (ООО «Палл Евразия», Россия), полиэфирсульфоновые (ПЭС) Express Plus® (Merck Millipore Ltd., Ирландия), фильтр из сложных эфиров целлюлозы (СЭЦ) (Merck Millipore Ltd., Ирландия), поливинилиденфторидовые (ПВДФ) (Merck Millipore Ltd., Ирландия). Экструдер Lipex™ на 10 мл (Northern Lipids Inc., Lipex Biomembranes, Inc., Канада), наносайзер Nicomp 380 Submicron Particle Sizer (Particle Sizing Systems, США); дзетасайзер Nanoseries Nano-ZS 3600 (Malvern,

Великобритания). Методы: экструзия, метод динамического светорассеяния (метод лазерной дифракции).

Результаты. Для оценки стабильности липосомально-го препарата использовали 3 основных показателя – размер везикул, индекс полидисперсности (ИПД) и дзета (ζ)-потенциал. Размер везикул при пропускании дисперсии МЛЛ тиосенса через Н-фильтр составил 229 ± 10 нм, ПЭС-фильтр – 225 ± 10 нм, СЭЦ-фильтр – 319 ± 10 нм, ПВДФ-фильтр – 213 ± 10 нм; значения ИПД составили 0,217, 0,244, 0,440, 0,208 соответственно; ζ-потенциал – (–26,0) мВ, (–14,7) мВ, (–18,8) мВ, (–15,1) мВ соответственно. Из полученных результатов измерения размеров везикул и ИПД видно, что для измельчения МЛЛ тиосенса наиболее эффективно использование ПВДФ-фильтра. Однако значение ζ-потенциала выше у образца дисперсии, полученной при экструзии с Н-фильтрами.

Заключение. Таким образом, на примере ЛЛФ тиосенса показано, что тип фильтра оказывает влияние на стабильность липосомального препарата, и данный фактор следует учитывать при подборе оптимального режима экструзии.

В.А. Дуванский^{1,2}, М.В. Князев², А.В. Белков^{1,2}

ЭНДОСКОПИЧЕСКАЯ АУТОФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ В ВИЗУАЛИЗАЦИИ ПОВЕРХНОСТНЫХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ

¹ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия;

²ФГАУ ВО РУДН, Москва, Россия

Цель исследования. Изучить возможности эндоскопической аутофлуоресценции (АФ) в визуализации поверхностных эпителиальных новообразований (ПЭН) толстой кишки.

Материалы и методы. ПЭН толстой кишки обнаружены у 269 пациентов. Использовали видеосистему Olympus Lucera CV-260 с функцией аутофлуоресценции AFI. Определяли частоту пурпурного или зеленого аутофлуоресцентного окрашивания ПЭН толстой кишки в зависимости от гистоморфологического строения.

Результаты. ПЭН были разделены на 4 группы: 1-я группа – отрицательные по диспластическим изменениям, 2-я – неопределенная по дисплазии, аденоматозно-гиперпластические неоплазии, 3-я – неинвазивные, все типы аденом с дисплазией I–III степени, 4-я – инвазивные и неинвазивные карциномы. Диагностические возможности аутофлуоресцентного окрашивания эпителиальных образований толстой кишки оценены с помощью следующих показателей. Чувствительность 0,84 показывает, что 84 % эпителиальных образований толстой кишки окрашиваются в пурпурный цвет. Специфичность 0,62 показывает, что в 62 % случаев слизистая толстой кишки без эпителиальных образований (контроль) имеет зеленое АФ-окрашивание. Прогностическая ценность положительного результата – 0,9. Прогностическая ценность отрицательного результата – 0,46. Отношение правдоподобия – +LR-2,21 и –LR-0,25. Из вычисленных показателей видно, что пурпурное АФ-окрашивание эпителиальных образований толстой кишки в 2,21 раза вероятнее, чем в контрольной группе. На основании построения

характеристической кривой (A_{ROC}) графика зависимости чувствительности (Se) от процента ложноположительных результатов (1-Sp) получен интервал AUC 0,7–0,8, что соответствует хорошему качеству теста.

Заключение. Вероятность окрашивания ПЭН толстой кишки в пурпурный цвет при канцероматозных и аденоматозных изменениях выше по сравнению с контрольной группой. Эндоскопическая аутофлуоресценция является эффективным методом в визуализации ПЭН толстой кишки.

В.А. Дуванский^{1,2}, Е.Ф. Шин¹, В.И. Елисеенко¹

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОГНЕСТРЕЛЬНЫХ РАН

¹ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО РУДН, Москва, Россия

Цель исследования. Оценить влияние антимикробной фотодинамической терапии (ФДТ) с микрокапсулированной формой фотодитазина, комплексированного с амфифильными полимерами с гидроксипатитом, на микрофлору экспериментальных огнестрельных ран.

Материалы и методы. Нами проведен эксперимент на 70 нелинейных крысах. Животные были разделены на 4 группы, в контрольной применяли антисептики. В 1-й опытной – ФДТ с 0,5 % водным раствором фотодитазина, во 2-й – ФДТ с 0,5 % фотодитазина, комплексированным с амфифильными полимерами, в форме геля, в 3-й – ФДТ с микрокапсулированной формой 0,1 % фотодитазина, комплексированного с амфифильными полимерами и гидроксипатитом, в виде геля. Использовали параметры 1 Вт/см², 50 Дж/см² (лазерный аппарат «АКТУС-2», длина волны излучения 661 ± 0,03 нм).

Результаты. До лечения отмечали микробную обсемененность $1 \times 10^{9-10}$ КОЕ/мл раневого отделяемого. В контрольной группе на 10-е сутки отмечали микробную обсемененность на уровне 1×10^7 КОЕ/мл. В 1-й группе на 5-е сутки 1×10^6 КОЕ/мл, а на 10-е сутки – не выше 1×10^5 КОЕ/мл. Во 2-й и 3-й группах наблюдалось более выраженное снижение микробной обсемененности: на 3-и сутки – 1×10^6 КОЕ/мл, с четкой тенденцией к снижению уровня, на 5-е сутки наблюдений – до 1×10^5 КОЕ/мл и на 10-е сутки – не выше 1×10^4 КОЕ/мл.

Заключение. Антибактериальная ФДТ с микрокапсулированной формой фотодитазина, комплексированного с амфифильными полимерами и гидроксипатитом оказывает выраженное антимикробное действие, способствует быстрому снижению микробной обсемененности раневой поверхности на 5-е сутки лечения до 1×10^5 КОЕ/мл, что ниже критического уровня.

Р.А. Дуванский¹, Е.Ф. Странадо¹, М.И. Ковалев², В.А. Дуванский^{1,3}, А.М. Ковалева⁴

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ КАК МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ФОНОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

¹ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО РУДН, Москва, Россия;

⁴ГКБ им. Д.Д. Плетнева, Москва, Россия

Цель исследования. Оценить эффективность лазерной фотодинамической терапии (ФДТ) в лечении неопухолевых заболеваний шейки матки.

Материалы и методы. Обследованы 115 женщин. Выявлена следующая патология шейки матки: эктопия – у 63 пациенток, лейкоплакия – у 36, эндометриоз – у 9, плоская кондилома шейки матки – у 7. Обследование больных включало: клиническое, кольпоскопическое, микробиологическое, цитологическое и гистологическое исследования. Флуоресцентное детектирование проводилось методом локальной спектроскопии, использовали спектрально-флуоресцентную диагностическую установку «Спектр-“Кластер”» (ООО «Кластер», ИОФ РАН, Москва). Основную группу составили 57 пациенток, которым проводилась ФДТ (в качестве фотосенсибилизатора (ФС) применялся гель «Радахлорин»). Группу сравнения составили 58 пациенток, у которых использовался диатермохирургический (ДХ) метод лечения. ФДТ с ФС «Радагель» (гель для наружного применения, 0,1 %) проводили с использованием лазерного аппарата ЛАХТА-МИЛОН в непрерывном режиме, с длиной волны на выходе 662 нм, мощностью на выходе – 1 Вт, плотностью – 80–250 Дж/см². ФДТ проводили в I фазу менструального цикла.

Результаты. Эффективность ДХ составила 72,4 %, неполная эпителизация была отмечена у 16 (27,6 %) пациенток, рецидив эктопии – у 12 (20,7 %). Эффективность ФДТ – 89,5 %, частичная эпителизация была отмечена у 6 (10,5 %) пациенток, рецидив заболевания – у 5 (8,8 %) пациенток с эктопией, что, вероятно, было связано с инфицированием половых путей.

Заключение. ФДТ с использованием ФС «радахлорин» эффективна в лечении больных с фоновыми заболеваниями шейки матки.

Р.А. Дуванский¹, Е.Ф. Странадо¹, М.И. Ковалев², В.А. Дуванский^{1,3}, А.М. Ковалева⁴

ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ТОМОГРАФИЯ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

¹ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО РУДН, Москва, Россия;

⁴ГКБ им. Д.Д. Плетнева, Москва, Россия

Цель исследования. Изучить возможности оптической когерентной томографии (ОКТ) как метода оценки неопластических изменений слизистой шейки матки (ШМ).

Материалы и методы. ОКТ-исследования проведены 214 пациенткам с заболеваниями ШМ (102 – с неопухолевыми заболеваниями ШМ и 112 – с дисплазиями). Мы использовали оптический когерентный томограф ОКТ 1300-У (ИПФ РАН, Нижний Новгород). Технические характеристики прибора: длина волны излучения 1300 нм; мощность источника 2–4 мВт; мощность на объекте – 0,75 мВт; пространственное разрешение 10–20 мкм; глубина сканирования 1–2 мм; поперечный диапазон сканирования 1,8 мм; частота сканирования 70–150 Гц. Для

исследования использовали зонд, оснащенный видимым красным пилотом (630 нм 0,1 мВт). Оценку информативности ОКТ проводили, сравнивая интерпретации полученных изображений с результатами гистологических исследований. ОКТ — метод исследования, основанный на измерении отраженного сигнала низкоинтенсивного когерентного света в ИК-диапазоне, используемого в качестве зондирующего излучения для просвечивания биологических тканей. Оптические образы оценивали по яркости, контрастности, характеристике границы, оптической неоднородности, структурности, слоистости и скорости угасания сигнала.

Результаты. Анализ сопоставлений гистологических и томографических изображений у больных с эктопией показал, что яркие участки соответствуют выростам соединительнотканной стромы, темные — заполненным слизью криптам между сосочками эктопии. При ранних неопластических изменениях многослойного плоского эпителия гистотомографические сопоставления показали, что 2-слойное изображение с контрастной границей между слоями является важнейшим оптическим свидетельством доброкачественного состояния слизистой ШМ. Сильное рассеяние назад зондирующего излучения является специфическим физическим свойством биологической ткани в состоянии злокачественной перестройки.

Заключение. Применение оптической когерентной томографии в комплексе обследования пациенток позволяет повысить эффективность выявления неопластических изменений слизистой оболочки ШМ.

А.М. Жумакаева^{1,3}, Д.З. Елешов², К.Д. Рахимов³, С.М. Адекенов²

ПЕРСПЕКТИВЫ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ИНГИБИТОРАМИ ФАРНЕЗИЛПРОТЕИНТРАНСФЕРАЗЫ

¹Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, Казахстан;

²АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Караганда, Казахстан;

³АО «КазМУНО», Алматы, Казахстан

Введение. Мутации гена *RAS* при раке молочной железы (РМЖ) встречаются редко, примерно в 5 % случаев, но повышенные уровни белка *RAS* были идентифицированы в 60–70 % случаев первичного РМЖ человека. Данное открытие послужило основанием считать белок *RAS* перспективной мишенью для прерывания пролиферативного сигнала. Фарнезилрование является важным этапом в преобразовании *RAS*-белка и его способности передавать сигналы от рецептора к ядру клетки. Поэтому были разработаны ингибиторы фарнезилпротеинтрансферазы, которые показали способность специфично блокировать функцию *RAS*-белка и тормозить опухолевый рост.

Цель исследования. На основании данных литературы проанализировать особенности целенаправленного противоопухолевого действия различных ингибиторов фарнезилпротеинтрансферазы при РМЖ.

Материалы и методы. Нами был проведен поиск статей по ключевым словам «ингибиторы фарнезилпротеин-

трансферазы», «ингибиторы фарнезилпротеинтрансферазы в лечении рака молочной железы» в электронных базах данных PubMed, Springer Link, Cochrane Library, eLibrary.ru. Обнаружено 467 статей за последние 10 лет по 1-му ключевому слову и 156 статей по 2-му. Несмотря на то что все препараты являются ингибиторами фарнезилпротеинтрансферазы, выявлены некоторые различия в механизме их противоопухолевого действия.

Результаты. Нами рассмотрены основные ингибиторы фарнезилпротеинтрансферазы, которые исследовались при РМЖ. 1. Типифарниб (Zarnestra, ранее R115777) является непептидомиметическим конкурентным ингибитором фермента фарнезилпротеинтрансферазы. Этот препарат был исследован в неoadъювантном режиме со стандартной химиотерапией АС (адриабластин, циклофосфан) + паклитаксел у пациенток с различными типами РМЖ. Достижение полного патоморфологического ответа (pCR) <35 %. Частота pCR в ER-положительном РМЖ не коррелирует с рецидивом и выживаемостью, как при HER2/neu-положительном или тройном негативном типе. 2. Лонафарниб (SCH66336) ингибирует ранезирование Rheb и сигнализацию mTOR. Исследование EORTC: фаза I исследования лонафарниба (SCH66336) в сочетании с трастузумабом и паклитакселом в HER2/neu-сверхэкспрессирующем РМЖ показало, что препарат можно безопасно комбинировать с полными дозами паклитаксела и трастузумаба, а его противоопухолевая активность наблюдалась у 58 % пациентов. 3. арглабин-производное фарнезилпирофосфата, который в свою очередь является субстратом фарнезилпротеинтрансферазы. Полученное производное способно блокировать митогенный сигнал от H-RAS, K-RAS онкогенных белков, содержащих в своем составе фарнезилловую группу, и вызывать реверсию трансформированных клеток посредством блокады митогенного сигнала. При исследовании в рамках III фазы у пациентов с диссеминированным РМЖ применяли арглабин + CMF, и был выявлен сравнительно высокий процент частичной регрессии (46,6 %) и стабилизации (53,3 %). Кроме этого, в отличие от предыдущих ингибиторов фарнезилпротеинтрансферазы, арглабин малотоксичен, не оказывает угнетающего действия на кроветворение.

Заключение. Таким образом, показано, что ингибиторы фарнезилпротеинтрансферазы оказывают выраженное действие на пролиферацию клеток молочной железы, экспрессирующих H-RAS-белок, и являются перспективными терапевтическими агентами для целенаправленного воздействия.

Т.Н. Заботина, Е.Н. Захарова, О.В. Короткова, А.А. Борунова, Д.В. Табаков, И.В. Паниченко, Р.К. Валиев, М.В. Савостикова, З.Г. Кадагидзе

СРАВНЕНИЕ ИММУНОФЕНОТИПА ТКАНЕВЫХ ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ И В МЕТАСТАЗАХ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования. Оценить количество и структуру лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, у больных раком яичников (РЯ) в первичной опухоли и в метастазах.

Материалы и методы. Исследованы образцы опухолевой ткани первичного очага 39 больных РЯ, полученные интраоперационно, из них у 10 пациенток изучены образцы метастазов, также 3 образца нормальной ткани яичника при профилактической овариоэктомии. Для получения клеточных суспензий проводили фрагментацию ткани опухолей с использованием Medimachine (BD Biosciences). Все полученные образцы подвергались цитоморфологическому контролю. Структуру субпопуляций клеток оценивали по связыванию с моноклональными антителами различной специфичности методом многопараметровой проточной цитометрии.

Результаты. Оценка образцов опухолевых клеток, полученных из первичного опухолевого очага, метастатического очага и ткани нормального яичника, показала, что содержание лимфоидных клеток (TIL) с фенотипом CD45⁺ в полученных суспензиях имеет неправильное распределение и составило 1,6 (1,4–5,8) %, 3,3 (2,3–5,2) % и 0,25 % соответственно. При сравнении уровня линейных популяций лимфоцитов (T-V-NK) обнаружено, что в структуре TIL показатели содержания Т-клеток с фенотипом CD45⁺CD3⁺CD19⁻ в первичном очаге выше уровня этих клеток в метастазе РЯ: 82,4 (71,3–90,4) % и 78,8 (68,8–89,0) %. Также среди лимфоидной фракции CD45⁺клеток число NK-клеток с фенотипом CD45⁺CD3⁻CD16⁺CD56⁺ было выше в ткани первичного очага по сравнению с метастатической опухолью: 8 (3,5–18,0) % и 6,3 (3,8–10,6) % соответственно. Число В-лимфоцитов с фенотипом CD45⁺CD3⁻CD19⁺, напротив, было выше среди TIL в метастатическом очаге по сравнению с первичной опухолью – 3,7 (2,1–11,6) % и 2 (1,1–6,1) % соответственно. Анализ содержания CD4⁺, CD8⁺ и NKT⁺ регуляторных/супрессорных Т-клеток показал, что количество NKT-клеток в опухолевых тканях сопоставимо, при этом содержание CD4⁺, CD8⁺ Т-регуляторных клеток имеет обратную зависимость, в ткани первичной опухоли CD4⁺ показатели выше, а в ткани метастаза преобладают CD8⁺ Трег клетки.

Заключение. Количество и структура лимфоцитов, инфильтрирующих первичную опухоль, метастатический очаг и нормальную ткань яичника, сильно различаются.

Т.Н. Заботина, Е.Н. Захарова, О.В. Короткова, А.А. Борунова, Д.В. Табаков, И.В. Паниченко, Р.К. Валиев, М.В. Савостикова, З.Г. Кадагидзе

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ЛИМФОЦИТОВ, ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ ОПУХОЛЬ, У ПЕРВИЧНЫХ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования. Провести количественный анализ степени инфильтрации лимфоцитами опухолевой ткани у больных раком яичников (РЯ).

Материалы и методы. Оценивали процентное содержание CD45⁺ лимфоцитов (TIL) в клеточных суспензиях, полученных из опухолевой ткани первичных очагов и метастазов 28 больных РЯ. В исследование вошли пациентки с гистологически верифицированным диагнозом, преобладал серозный вариант опухоли, 75,8 % больных IIIA–IIIC стадий, средний возраст составил 56,6 года. Забор опухо-

левой ткани проводили в процессе выполнения хирургического этапа лечения. Клеточные суспензии получали путем фрагментации ткани опухоли с использованием Medimachine (BD Biosciences). Далее осуществляли иммунофлуоресцентное окрашивание клеток с использованием коммерческих моноклональных антител (Beckman Coulter). Количественный анализ лимфоцитов проводили на проточном цитометре FACSCalibur (BD Biosciences). Все полученные суспензии клеток подвергали цитоморфологическому контролю (жидкостная цитология).

Результаты. В зависимости от содержания CD45⁺ TIL сформированы 3 подгруппы пациенток с РЯ. В 1-ю подгруппу вошли больные с уровнем CD45⁺, не превышающим 1 %, во 2-ю подгруппу вошли пациентки с уровнем CD45⁺ от 1,1 до 10 %, 3-ю подгруппу составили больные с уровнем TIL >10,1 %. Процентное содержание TIL в исследуемых образцах первичной опухоли сильно варьировало – от 0,02 до 30,4 %. Наиболее часто (57,1 %) выявлялись больные 2-й подгруппы, при этом число CD45⁺ TIL составило 2,99 %; 32,1 % больных РЯ имели уровень CD45⁺ клеток, не превышающий 1 %, а число CD45⁺ клеток составило 0,35 %, и с меньшей частотой 10,8 % в исследуемой когорте встречались пациентки с уровнем CD45⁺ TIL >10 %, среднее значение составило 18,9 %. Аналогичным образом изучали ткань метастазов. Только в 1 (8,3 %) из 12 образцов ткани содержание TIL было <1 % (0,4 %), остальные пациентки (91,4 %) вошли во 2-ю подгруппу с уровнем TIL 4,2 %. При этом отсутствовали больные с содержанием TIL в метастазах >10 %.

Заключение. Результаты анализа количества лимфоцитов в первичной опухоли и метастазах больных РЯ показали, что в тканях преобладает промежуточный вариант степени инфильтрации TIL, а высокая степень инфильтрации встречается в первичных опухолях, но не в метастазах.

А.А. Занина¹, Н.В. Филатова², А.Б. Еремеев², В.Д. Сень², Б.С. Федоров², А.А. Терентьев^{1,2,3}

ВЛИЯНИЕ N1,N4,2,3-ТЕТРАГИДРОКСИСУКЦИНАМИДА НА ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия;

³НОЦ «Медицинская химия» МГОУ, Черноголовка, Московская область, Россия

Введение. В последние годы в разработке препаратов для лечения онкологических заболеваний большое внимание уделяется классу гидроксамовых кислот, известных как ингибиторы ферментов гистондеацетилазы. Некоторые представители данного класса, такие как вориностат, панобиностат и белиностат, показывают высокую противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo* и, кроме того, одобрены для клинического применения в лечении опухолевых заболеваний. Известно, что молекулы ингибиторов гистондеацетилазы потенциально способны повысить эффективность химиотерапии противоопухолевыми препаратами разных классов. В данной работе представлен новый представитель класса гидроксамовых кислот – N1,N4,2,3-тетрагидрокси-сукцинамид (ТГСА), содержащий 2 гидроксамовые группировки.

Предложено изучение его цитотоксических свойств индивидуально и в комбинации с платиновыми комплексами.

Цель исследования. Исследование влияния ТГСА на жизнеспособность опухолевых и нормальных фибробластоподобных клеток, а также на цитотоксические свойства комплексов платины.

Материалы и методы. Объектом исследования является гидроксамовая производная винной кислоты ТГСА. В качестве платиновых комплексов были выбраны цисплатин и аминнитроксильные комплексы платины (IV) *e*-амин-*d*-(4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил)-*a*, *f*-бис(ацетат)-*b*, *c*-дихлороплатина (IV) и *e*-амин-*d*-(4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил)-*a*, *f*-бис(пентаноат)-*b*, *c*-дихлороплатина (IV). Эксперименты проводили на опухолевых клетках M-HeLa (эпителиоидная карцинома шейки матки человека), а в качестве модели нормальных клеток использовали клетки FetMSC (фибробластоподобные клетки костного мозга раннего эмбриона). Исследование цитотоксичности проводили с помощью МТТ-теста. Определение концентрации IC₅₀ проводили через 24 и 72 ч после нанесения соединений.

Результаты. При 72-часовой экспозиции в диапазоне концентраций от 200 мкМ и выше ТГСА проявляет сильное цитотоксическое действие на опухолевые клетки. Жизнеспособность нормальных фибробластоподобных клеток не нарушается при аналогичных концентрациях ТГСА. Кроме того, выявлено, что ТГСА увеличивает цитотоксические свойства платиновых препаратов.

Заключение. Гидроксамовая кислота ТГСА обладает высокой избирательной токсичностью по отношению к опухолевым клеткам. ТГСА обладает способностью значительно усиливать цитотоксический эффект платиновых комплексов.

Н.А. Зефирова, Н.А. Чернышов, О.Н. Зефирова

НОВЫЕ КОНЬЮГАТЫ КОЛХИЦИНА С АДАМАНТАНОМ: АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ И ЭФФЕКТ НА СЕТЬ МИКРОТРУБОЧЕК КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ A549

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Тубулокластин *N*-(7-адамантил-2-илокси-7-оксогептаноил)-*N*-дезацетилколхицин представляет собой конъюгат колхицина с присоединенным через линкерную цепь адамантановым фрагментом. Это соединение обладает высокой антипролиферативной активностью (IC₅₀ < 10 нМ) по отношению к различным типам опухолевых клеток. Введение тубулокластина (в низких дозах) экспериментальным животным с трансплантированным лимфолейкозом Р-388 приводит к значимому и достоверному увеличению продолжительности жизни животных. Тип действия тубулокластина и его аналога с узловым присоединением адамантана [*N*-(7-адамантил-1-илокси-7-оксогептаноил)-*N*-дезацетилколхицина] *in vitro* отличается от такового для свободного колхицина способностью вызывать образование тубулиновых кластеров необычной морфологии.

Цель исследования. Синтез гомологов *N*-(7-адамантил-1-илокси-7-оксогептаноил)-*N*-дезацетилколхицина с линкером меньшей длины и/или изменением позиции сложноэфирной группы, изучение их цитотоксичности и эффекта

на сеть микротрубочек клеток карциномы легких человека А549.

Материалы и методы. Методом амидирования моноэфиров двухосновных кислот с адамантановыми спиртами *N*-дезацетилколхицином в присутствии *N*-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина синтезирована серия аналогов *N*(7-адамантил-1-илокси-7-оксогептаноил)-*N*-дезацетилколхицина. Определение антипролиферативной активности проведено в стандартном колориметрическом тесте с 3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенил-2*H*-тетразолилбромидом (МТТ) по отношению к культуре клеток карциномы легких человека А549 (ССL-185), а также в эксперименте по прямому подсчету клеток под микроскопом. Эффект на сеть микротрубочек клеток А549 определен иммунофлуоресцентным методом с использованием моноклональных антител мышей к β-тубулину (Sigma, США) и флуоресцентно меченных AlexaFluor488 козьих вторичных антител против иммуноглобулинов мышей (Invitrogen, Германия).

Результаты. Все полученные вещества проявили цитотоксичность в низком наномолярном интервале концентраций и оказались в 3–6 раз более активны, чем колхицин (IC₅₀ = 30 ± 2 нМ), а 2 конъюгата – более активны, чем соединение-лидер (IC₅₀ = 11 ± 1 нМ). Показано, что уменьшение длины линкера в структурах конъюгатов приводит к повышению их цитотоксичности, а позиция сложноэфирной связи не оказывает заметного влияния на активность. Все соединения серии вызывают деполимеризацию тубулина, проявляют сильный кластеризующий эффект и обладают способностью вызывать апоптоз клеток А549.

Заключение. Цитотоксичность 2 аналогов *N*-(7-адамантил-1-илокси-7-оксогептаноил)-*N*-дезацетилколхицина (с меньшей длиной линкера и/или изменением позиции сложноэфирной группы) по отношению к клеткам карциномы легких А549 сравнима с таковой для клинически используемого препарата таксола.

Работы поддержаны грантом РФФИ № 18-03-00524.

Е.С. Иванова¹, В.В. Татарский¹, А.А. Зейфман², О.В. Строганов², В.С. Стройлов², И.Ю. Титов², Ф.Н. Новиков², А.А. Калинина¹, В.Ю. Шульгина², Г.Г. Чиров², А.А. Штиль¹

МЕХАНИЗМЫ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА ПРИ ДЕЙСТВИИ PF-114 – НОВОГО ИНГИБИТОРА ТИРОЗИНКИНАЗЫ BCR-ABL

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

²ООО «Фьюжн Фарма», Москва, Россия

Введение. Резистентность к ингибиторам тирозинкиназы Bcr-Abl 1–2-го поколений – одна из главных проблем при лечении пациентов с хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ). С использованием метода молекулярного моделирования разработан ингибитор Bcr-Abl 3-го поколения PF-114, показавший эффективность в доклинических исследованиях при ХМЛ с наиболее частой мутацией T315I.

Цель исследования. Изучение механизмов гибели клеток ХМЛ при действии PF-114.

Материалы и методы. В качестве модели использована линия K562 с химерной тирозинкиназой Vcr-Abl.

Результаты. Гибель клеток K562 происходит при действии наномолярных или субнаномолярных концентраций PF-114. Для линий Vcr-Abl-отрицательных лейкозов PF-114 значительно менее активен. Гибели клеток K562 предшествует задержка клеточного цикла в фазе G1. Даже кратковременное (2 ч) воздействие PF-114 на клетки K562 приводило к снижению доли клеток с фосфорилированным CrkL – важнейшим субстратом Vcr-Abl. Через 24 ч воздействия регистрировали нарушение фосфорилирования транскрипционных факторов семейства STAT и изменение активности митогенактивируемых протеинкиназ. Апоптоз, вызываемый PF-114, сопровождается активацией каспаз 3 и 9, а также протеолитическим расщеплением поли(АДФ-рибоза)полимеразы.

Заключение. PF-114 преимущественно токсичен для клеток ХМЛ, проявляет высокую специфичность к патогенетически важной внутриклеточной мишени и активирует каскады гибели клеток. Эти результаты, наряду с установленным ранее подавлением мутантных форм Vcr-Abl и благоприятными фармакологическими характеристиками, обусловили возможность проведения I фазы клинического исследования пациентов с Ph⁺ ХМЛ в хронической фазе или фазе акселерации с резистентностью к предшествующей терапии хотя бы одним ингибитором Vcr-Abl 2-го поколения, с непереносимостью одобренных ингибиторов Vcr-Abl или с наличием мутации T315I в гене *Vcr-Abl* (NCT02885766). Предварительные данные говорят об активности препарата в целевой группе пациентов, включая ХМЛ с мутацией T315I, а также о благоприятном профиле безопасности.

Н.И. Игнатова, И.Н. Дружкова, В.В. Дуденкова, М.М. Лукина, Е.В. Загайнова

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ КОЛЛАГЕНА В ОПУХОЛЯХ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА И МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ *IN VITRO*

ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

Введение. Структурирование волокон коллагена, основного компонента матрикса опухолей, ведет к изменению механических свойств опухоли и ее прогрессии. Однако роль стромальных клеток при формировании опухолевого матрикса не до конца установлена.

Цель исследования. Изучение структуры коллагена в образцах колоректального рака (КРР), полученных от пациентов, и разработка трехмерной *in vitro* модели опухоли для понимания роли взаимодействия стромальных и опухолевых клеток в процессе формирования специфической структуры опухолевого матрикса.

Материалы и методы. В работе использованы образцы колоректальной опухоли, полученные от пациентов в ходе операции (первичного очага и метастазов в печень). Эксперименты *in vitro* проводились на культурах клеток КРР человека, также были исследованы клетки нормальных тканей человека (фибробласты) и опухольассоциированные фибробласты. Клетки выращивали в условиях моно- и кокультур. Была разработана трехмерная модель опухоли

на основе коллагенового геля с использованием культур клеток КРР человека и фибробластов. Структуру коллагена исследовали посредством генерации второй гармоники (ГВГ), позволяющей оценить степень анизотропии коллагена (лазерный сканирующий микроскоп LSM-710, Carl Zeiss, Германия, и установки MPT-флекс, GenLab, Германия).

Результаты. Анализ ГВГ-изображений депарафинированных срезов опухолей кишки и метастазов КРР в печень показал, что в опухоли ГВГ-сигнал выше, волокна коллагена имеют большую толщину и протяженность, наблюдается выраженная линейная упорядоченность коллагеновых волокон с преобладанием выделенного направления. На границе опухоли и нормальной ткани сохраняется выраженная линейная упорядоченность, однако направление волокон меняется. В нормальной ткани (слизистая кишки, печень) ГВГ-сигнал ниже, волокна коллагена тоньше и расположены хаотично. Показано, что монокультура опухолевых клеток *in vitro* практически не способна структурировать коллагеновый гель, регистрируется низкий ГВГ-сигнал, структура геля не визуализируется. Монокультура стромальных клеток и кокультура опухолевых и стромальных клеток способны структурировать коллагеновый гель, однако образуемые ими структуры различаются. При совместном культивировании опухолевых и стромальных клеток волокна коллагена собирались в пучки большого диаметра и протяженности, при этом были ориентированы в одном направлении, в то время как в монокультуре стромальных клеток волокна имели меньший диаметр и формировали сеть. Для объективной оценки различий в структуре коллагена были выбраны математические статистические параметры, позволяющие проводить количественный анализ ГВГ-изображений.

Заключение. Установлено, что структура коллагена в опухолях КРР отличается. Волокна коллагена в опухоли и на границе имеют большую толщину и линейную упорядоченность, чем в нормальной ткани слизистой и паренхимы. Разработана трехмерная модель опухоли на основе коллагенового геля, позволяющая проследить динамику структурирования коллагена и оценить его оптические свойства. Установлено, что для эффективного структурирования коллагена необходимо взаимодействие опухолевых и стромальных клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 17-00-0019.

Е.В. Игнатова, И.В. Ярцева, М.В. Дмитриева, З.С. Шпрых

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ИНКАРА В МОДЕЛЯХ ИНЪЕКЦИОННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПОСЛЕ СТЕРИЛИЗУЮЩЕЙ ФИЛЬТРАЦИИ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Инкар – соединение класса гликозилиндокарбазолов, впервые синтезированное в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. По механизму биологического действия соединение относится к ингибиторам протеинкиназы-С и представляет интерес для терапии злокачественных новообразований.

Цель исследования. Оценка пропускающей способности фильтров для стерилизующей фильтрации при разработке инъекционной лекарственной формы (ЛФ) инкара.

Материалы и методы. Образцы моделей ЛФ инкара. Фильтры: нейлоновый (Н); полиэфирсульфоновый (ПЭС); поливинилиденфторидовый (ПВДФ); из сложных эфиров целлюлозы (СЭЦ); поликарбонатный (ПК). Спектрофотометрия.

Результаты исследования. Одним из основных требований к лекарственным препаратам для внутривенного введения является стерильность, которая может достигаться различными методами. При разработке технологии получения ЛФ инкара для стерилизации выбран метод стерилизующей фильтрации. Пропускающую способность фильтров для стерилизующей фильтрации оценивали на 2 моделях ЛФ, включающих коллидон различной молекулярной массы: коллидон 12 PF (Мм = 2500) и коллидон 17 PF (Мм = 9000). Пропускающую способность фильтров оценивали, определяя содержание активного вещества в модели ЛФ до и после фильтрации методом спектрофотометрии. В качестве аналитического сигнала использовано поглощение при длине волны 320 нм. Было показано, что в области от 270 до 400 нм у растворов коллидона 12 PF и коллидона 17 PF соответствующей концентрации поглощение отсутствует, то есть присутствие коллидона не мешает определению основного вещества. На 1-м этапе для проведения стерилизующей фильтрации моделей ЛФ применяли 2 вида фильтров – ПЭС и Н. При сравнении пропускающей способности фильтров показано, что фильтр ПЭС пропускает больше вещества, чем фильтр Н, а пропускающая способность фильтров практически не зависит от молекулярной массы коллидона. Отношение пропускающей способности ПЭС/Н составило 3,5 %. Для дальнейших исследований была выбрана модель, в состав которой входит коллидон 17 PF. На этой модели испытывали пропускающую способность фильтров из разных фильтрующих материалов. Пропускающая способность фильтров, полученная в опыте, составила для Н – 98 %; ПЭС – 97,7 %; ПВДФ – 97,2 %; СЭЦ – 97,4 %; ПК – 97,2 %. Полученные данные свидетельствуют о том, что все испытанные фильтры пропускают не менее 97 % основного вещества, однако минимальные потери инкара отмечены при использовании Н- и ПЭС-фильтров.

Заключение. На основании проведенных исследований в качестве фильтрующего материала в технологии получения модели инъекционной ЛФ инкара были выбраны Н- и ПЭС-фильтры.

В.Н. Капинус, М.А. Каплан, Е.В. Ярославцева-Исаева, И.С. Спиченкова, Н.И. Сокол

**ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ РЕЦИДИВОВ
БАЗАЛЬНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ ПОСЛЕ
ПРОВЕДЕНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ «ФОТОЛОН»**

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Калужская область, Россия

Введение. В онкологической практике накоплен значительный опыт применения различных методов терапии новообразований кожи, однако с учетом частоты,

вариабельности, локализации ни один из методов не является 100 % эффективным для всех форм базально-клеточного рака кожи (БКРК). На эффективность наиболее часто применяемых методов лечения БКРК влияют такие параметры как размер опухоли, локализация новообразования, наличие или отсутствие предшествующего лечения.

Цель исследования. Оценка и изучение факторов риска развития рецидивов БКРК после проведения фотодинамической терапии (ФДТ) с фотосенсибилизатором (ФС) «Фотолон».

Материалы и методы. Для решения поставленной задачи было сформировано 2 группы (методом случайной выборки из всей совокупности больных, которым проводилась ФДТ по поводу БКРК): группа 1, состоящая из 118 пациентов, у которых развились рецидивы заболевания, и группа 2 – 203 пациента, у которых не было клинических и морфологических признаков рецидива БКРК на сроках наблюдения от 6 мес до 5 лет. Для проведения ФДТ использовали ФС фотолон в дозе 1,0–1,2 мг/кг, лазерный аппарат «Латус-2» (662 нм). Проводили дистанционное лазерное облучение опухолевой ткани в дозах 200–300 Дж/см² при плотности мощности 300–400 мВт/см², с формированием одного или нескольких полей облучения. Пациентов оценивали по полу, возрасту, возрастным группам, размерам опухолевых новообразований, по наличию или отсутствию предшествующего лечения, а также по виду предшествующего лечения (лучевая терапия, коагуляции, ФДТ).

Результаты. Исследуемые группы были сопоставимы по полу и возрасту, в группе 1 (с рецидивом после ФДТ) у мужчин и у женщин всех возрастных групп достоверно преобладали опухоли размером >2 см ($\chi = 5,07, p < 0,00001$). Кроме того, в этой же группе преобладали пациенты, которым ранее проводилось лечение, и у этих же пациентов достоверно преобладали опухоли размером >2,0 см ($\chi = 4,85, p < 0,00001$). Также была выявлена следующая закономерность: у больных с диагностированным рецидивом после ФДТ достоверно преобладали опухоли размером >2 см у пациентов с предшествующим лучевым лечением ($\chi = 3,53, p < 0,00002$), коагуляциями ($\chi = 1,68, p < 0,05$), ФДТ ($\chi = 1,97, p < 0,03$).

Заключение. По результатам проведенного исследования можно сделать выводы, что факторами риска развития рецидивов БКРК после проведения ФДТ с ФС «Фотолон» у мужчин и женщин во всех возрастных группах являются: размеры злокачественного новообразования >2 см, предшествующее лечение и в большей степени проведение лучевой терапии, в меньшей степени – коагуляции, ФДТ.

Н.А. Карпов, С.Р. Мефёдова, А.А. Белоглазкина, А.А. Барашкин, М.Е. Кукушкин, А.Г. Мажуга, Е.К. Белоглазкина, Н.В. Зык

**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ
ДИСПИРОПРОИЗВОДНЫХ ДЛЯ ТЕРАПИИ
РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. На сегодняшний день злокачественные новообразования занимают 2-е место среди причин смертности

населения развитых и развивающихся стран. Несмотря на множество вариантов химиотерапии раковых заболеваний, задача разработки эффективной и доступной таргетной терапии остается открытой. В качестве решения данной проблемы нами были предложены новые органические соединения для ингибирования белок-белкового взаимодействия p53–MDM2.

Цель исследования. Синтез аналогов соединения-лигандера диспироиндолиноновой структуры, полученного ранее в лаборатории биологически активных органических соединений МГУ и успешно прошедшего доклинические испытания, и дальнейшее исследование их биологической активности.

Материалы и методы. Все полученные целевые диспирозоединения на основе различных N, O, S-содержащих гетероциклических производных были получены в 2–3 синтетические стадии. Структуры полученных соединений были установлены с помощью комплекса физико-химических методов (ЯМР, ИК, масс-спектрометрия, в случае необходимости – РСА). Биологическая активность синтезируемых ингибиторов была определена в стандартном МТТ-тесте на цитотоксичность на клеточных линиях рака предстательной железы LNCap, PC-3, колоректального рака HCT p53^(+/+), HCT p53^(-/-), рака груди MCF-7, карциномы легких человека A549, а также условно нормальных клеточных линиях эмбриональных почек человека HEK и фибробластов легких VA13.

Результаты. В ходе настоящего исследования были разработаны синтетические подходы к созданию диспиропроизводных на основе N, O, S-содержащих различных гетероциклических производных, а именно 2-тиогидантоинов, гидантоинов, оксазолонов, тиазолидинов и роданинов. Была получена библиотека соединений с различными заместителями, которая была исследована на цитотоксичность на различных клеточных линиях в диапазоне микромолярных концентраций.

Заключение. В рамках данной работы получена библиотека диспиропроизводных на основе гетероциклических соединений различных классов, было проведено ее биотестирование.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 16-33-60166.

Р.В. Карпова¹, Е.В. Бочаров¹, О.А. Бочарова¹, В.Г. Кучеряну², И.В. Казеев¹, М.В. Уткина¹, Е.С. Иноземцева¹
АНТИМУТАГЕННЫЙ ЭФФЕКТ ЖИДКОГО ЭКСТРАКТА МУЛЬТИФИТОАДАПТОГЕНА НА МОДЕЛИ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБНУ НИИОПП, Москва, Россия

Цель исследования. Изучить влияние жидкого экстракта мультифитоадаптогена (МФА) на частоту возникновения спонтанных и индуцированных мутаций в клетках дрожжей *S. cerevisiae*, а также определить вероятный механизм антимутагенного действия препарата.

Материалы и методы. Работа проведена на штамме дрожжей *S. cerevisiae* 2-LMG-3031, полученном для скри-

нинга антимутагенных природных соединений. Штамм имеет генотип *MATa ade2A-248 ura3-160, 188 leu2-3, 112 trp1 rad2::TRP1 hsm3::KanR*. МФА – стандартизованный препарат, включает компоненты 40 растительных водно-спиртовых экстрактов, в том числе адаптогенов женьшеня, элеутерококка, родиолы розовой, а также соединения фенольной природы (флавоноиды, тритерпеновые гликозиды и др.). Клетки дрожжей выращивали на полной питательной среде (YEPD), агаризованной или жидкой. Обработанные мутагеном дрожжевые клетки рассеивали на полную агаризованную среду, в которой в качестве источника углерода использовали этанол (отрицательный контроль – YEPa + etOH). МФА в концентрации 4 % вносили непосредственно в среду роста дрожжевых клеток после мутагенной обработки (YEPa + etOH + 4 % МФА). Для определения частоты спонтанных мутаций устойчивости к канаванину использовали минимальную питательную среду, содержащую 50 мкг/мл (метод упорядоченного посева) или 80 мкг/мл (флуктуационный тест медиан) канаванина. Мутагены: УФ-излучение, азотистая кислота. Учитывали прямые мутации в 5 генах *ADE4-8*, контролирующих биосинтез аденина в так называемой системе «от красного к белому», и прямые мутации устойчивости к канаванину *CAN^S→CAN^R*.

Результаты. При изучении влияния МФА на частоту спонтанных мутаций было показано, что во флуктуационном тесте медиан частота спонтанных мутаций устойчивости к канаванину *CAN^S→CAN^R* в опыте (с МФА) и контроле практически не различалась, то есть МФА не влиял на репликативный мутагенез. В то же время при использовании метода упорядоченного посева добавление в среду культивирования МФА снижало появление устойчивых к канаванину клеток в 6,4 раза, мутаций в локусах *ADE4-8* – более чем в 100 раз (в 5 опытах не было зарегистрировано ни одной мутации), что свидетельствует о влиянии МФА на мутагенез, обусловленный ошибками репарации. Под действием УФ-излучения количество индуцированных мутаций в присутствии МФА снизилось в 3,7 раза, мутагенное действие азотистой кислоты подавлялось МФА в среднем в 33 раза.

Заключение. Антимутагенный эффект МФА показан при снижении уровня спонтанных и индуцированных мутаций в клетках дрожжей *S. cerevisiae*. Воздействие МФА неспецифично в отношении химической природы повреждений. Можно полагать, что антимутагенный эффект МФА связан с тем, что в состав препарата входят в том числе соединения фенольной природы (флавоноиды, фенологликозиды, тритерпеновые гликозиды). В качестве узкобороздочных лигандов последние могут оказывать прямое или опосредованное действие на процессы репарации ДНК.

*М.П. Киселева, Л.М. Борисова, Л.В. Эктова,
В.А. Еремина, Н.И. Тихонова, М.В. Дмитриева,
С.Е. Миронова, Л.А. Медведева*

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ ИНДОЛОКАРБАЗОЛОВ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Известна способность представителей класса N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазолов к взаимодействию с внутриклеточными мишенями и индукции различных путей гибели опухолевых клеток. В связи с этим поиск ингибиторов топоизомераз, циклинзависимых киназ и интеркаляторов ДНК в ряду производных индолокарбазолов остается актуальным для лечения злокачественных опухолей. Данная работа является продолжением исследования противоопухолевой активности синтезированных в лаборатории химического синтеза НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей (НИИ ЭДиТО) оригинальных соединений класса индолокарбазолов, отличающихся структурой агликона и/или углеводного остатка.

Цель исследования. Провести первичное исследование 10 новых углеводсодержащих производных индолокарбазолов на перевиваемых моделях опухолей мышей лимфолейкозе Р-388 и эпидермоидной карциноме легкого Льюиса (LLC) для сравнения противоопухолевых свойств соединений и выявления среди них наиболее активных.

Материалы и методы. В опытах использованы мышгибриды F1 (C57Bl/6 × DBA/2). Р-388 трансплантировали внутрибрюшинно (в/б) самкам, LLC перевивали самцам подкожно в область правой подмышечной впадины. Лечение начинали через 24 ч после перевивки Р-388 и через 48 ч – LLC. Свежеприготовленные лекарственные формы производных индолокарбазолов с концентрацией действующего вещества 2 мг/мл изучались при ежедневном в/б введении в течение 5 дней в дозах 10, 25 и 50 мг/кг (на мышках с Р-388) и в дозах 10, 25, 35, 50 и 75 мг/кг (на мышках с LLC). Критериями оценки противоопухолевого эффекта служили торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) подопытных мышей по сравнению с контрольными.

Результаты. Высокая противоопухолевая активность соединений ЛХС-1325 в дозе 25 мг/кг, ЛХС-1355 и ЛХС-1364 в дозах 50 мг/кг (УПЖ = 147, 127 и 130 % соответственно), установленная на Р-388, позволила изучить их эффективность на LLC. Соединение ЛХС-1325 оказалось неактивным, ЛХС-1364 в дозе 25 мг/кг проявило высокий, но кратковременный противоопухолевый эффект непосредственно после окончания лечения (ТРО = 76 %). При повышении дозы до 50 мг/кг ЛХС-1355 и ЛХС-1364 показали кратковременное противоопухолевое действие сразу после окончания лечения: ТРО = 54 и 65 % соответственно. Однако применение дозы 50 мг/кг вызывало гибель животных.

Заключение. При первичной оценке новых противоопухолевых агентов среди производных N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазолов обнаружена высокая противоопухолевая активность соединения ЛХС-1364 при в/б

введении в дозе 25 мг/кг на перевиваемых опухолях мышей Р-388 (УПЖ = 104 %) и LLC (ТРО = 76 %).

С.Г. Ключков, А.В. Семаков, М.Е. Неганова, С.А. Пухов
СЕСКВИТЕРПЕНОВЫЕ ЛАКТОНЫ В МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ МУЛЬТИТАРГЕТНЫХ СУБСТАНЦИЙ С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ СВОЙСТВАМИ
ФГБУН ИФАВ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия

Природные соединения – неисчерпаемый источник химического разнообразия, который можно сравнить только с современными методами комбинаторной химии. Вторичные метаболиты растений (флавоноиды, алкалоиды, сесквитерпеновые лактоны и т. д.) вызывают активный интерес в связи с их широким спектром биологической активности. Объект нашей работы – сесквитерпеновые лактоны, широко распространенные среди высших растений, особенно среди представителей семейства *Asteraceae*. Биологическая активность, в том числе противоопухолевая, сесквитерпеновых лактонов хорошо известна и документирована. Первоначально считалось, что активность сесквитерпеновых лактонов связана с их способностью к алкилированию SH-групп белков. Теперь становится очевидным, что механизмы их действия сложны и разнообразны, и связаны не только с их алкилирующей способностью.

В настоящем докладе обобщены данные о биологической активности сесквитерпеновых лактонов за последние 20 лет, рассмотрены основные биохимические цели. Рассмотрены соотношение структура–активность, молекулярные механизмы и потенциальное применение. Особый интерес представляют комплексные исследования, в которых взаимодействие сесквитерпеновых лактонов с ферментами и рецепторными структурами наиболее подробно рассматриваются на примере использования сесквитерпеновых лактонов в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов. В ИФАВ РАН ведутся многолетние работы по изучению сесквитерпеновых лактонов растений и разработке на их основе мультитаргетных противоопухолевых препаратов. Ведутся работы по созданию подходов к синтезу оригинальных функционально замещенных аналогов сесквитерпеновых лактонов путем трансформации углеродного скелета. Было получено около 50 скаффолдов лактонов, которые использовали для введения их в реакцию с различными нуклеофилами. Были проведены предварительные эксперименты. Эксперименты по определению антипролиферативной активности в отношении ряда опухолевых клеточных линий показали наличие высокой цитотоксичности (на уровне 10^{-8} М) для ряда соединений. Методами проточной цитометрии было показано, что среди соединений с антипролиферативным действием на уровне 10^{-8} – 10^{-9} М выявлены соединения, активирующие каспазный путь апоптоза. Кроме того, эти соединения не только останавливают клеточный цикл в G2/M фазе, но и влияют на формирование актина цитоскелета клеток. Наиболее активные соединения могут быть предложены для проведения доклинических испытаний и создания на их основе

инновационных гибридных мультитаргетных противоопухолевых препаратов.

*М.И. Ковалев¹, А.М. Ковалева¹, В.А. Олейников²,
А.А. Чистяков², Ю.В. Алексеев³, В.М. Поминальная⁴,
В.И. Вознесенский⁴, Г.К. Ермошин¹, А.О. Гарина¹,
А.Д. Москвичева¹, Н.А. Титова¹*

РАМАНОВСКАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ В ДИАГНОСТИКЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

¹ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

²ФГБУН ИФАВ РАН, Москва, Россия;

³ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия;

⁴ГКБ им. Д.Д. Плетнёва, Москва, Россия

Введение. За 10 лет, с 2005 по 2014 г., заболеваемость раком шейки и тела матки увеличилась в РФ в абсолютных цифрах на 31,8 % – с 30,2 до 39,8 тыс. женщин в год. Летальность пациентов от рака шейки матки (РШМ) на 1-м году после постановки диагноза за 2004–2014 гг. составляла от 16,3 до 20,8 %. Эти данные свидетельствуют о высокой актуальности проблемы ранней диагностики РШМ.

Цель исследования. Повысить эффективность диагностики РШМ с помощью использования Рамановской спектроскопии.

Материалы и методы. Исследование выполнено в Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН на уникальной научной установке «Система зондово-оптической 3D-корреляционной микроскопии». Для возбуждения использовали аргоновый лазер с длиной волны 488 нм, мощность излучения 50 мВт. Исследовали спектральные характеристики тканей шейки матки (ШМ) с верифицированным путем гистологического исследования плоскоклеточным раком. В качестве контроля исследовали ткани интактной ШМ.

Результаты. Выявлены различия в спектральных характеристиках между патологически измененными тканями ШМ в сравнении с тканями без патологических изменений. По мере увеличения длины волны наведенного излучения интенсивность флуоресценции ткани ШМ с плоскоклеточным раком увеличивалась. Интенсивность флуоресценции в ткани ШМ с плоскоклеточным раком была выше, чем в ткани интактной ШМ. Разница в интенсивности флуоресценции составляла от 37 до 151 % (в среднем 129 %).

Заключение. 1. Метод Рамановской спектроскопии может быть использован для диагностики РШМ при обработке биопсийного и операционного материала. 2. Интенсивность флуоресценции в тканях ШМ с плоскоклеточным раком превышает интенсивность флуоресценции в интактных тканях ШМ без патологических изменений в 1,4–2,5 раза.

*А.М. Ковалева¹, М.И. Ковалев¹, И.П. Шилов²,
Ю.В. Алексеев³, В.И. Вознесенский⁴, В.М. Поминальная⁴,
Н.А. Титова¹, А.Д. Москвичева¹, А.О. Гарина¹,
Г.К. Ермошин¹, А.В. Иванов⁵*

ДИАГНОСТИКА РАКА ШЕЙКИ МАТКИ ПО ОЦЕНКЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПРИ ПОМОЩИ СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРИИ

¹ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

²Фрязинский филиал ФГБУН ИРЭ РАН, Фрязино, Московская область, Россия;

³ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия;

⁴ГКБ им. Д.Д. Плетнёва, Москва, Россия;

⁵ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия

Введение. В РФ за 10 лет, с 2005 по 2014 г., индекс заболеваемости раком шейки и тела матки увеличился на 49,2 % (с 39,4 до 58,8 случая на 100 тыс. женщин). Каждая 5-я женщина с вновь установленным диагнозом «рак шейки матки» (РШМ) погибает в течение года после постановки диагноза. Эти данные свидетельствуют о высокой актуальности проблемы разработки доступной методики ранней диагностики РШМ.

Цель исследования. Разработать методику диагностики *in vivo* РШМ с использованием иттербиевых комплексов порфиринов (ИКП) и лазерной спектроскопии.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 90 женщин, которые были разделены на 3 группы. В 1-ю группу вошли женщины с плоскоклеточным РШМ. Диагноз верифицировали при помощи гистологического исследования. Во 2-ю – женщины с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями высокой степени (HSIL). В 3-ю (контрольную) вошли женщины без патологических изменений шейки матки (ШМ). Измеряли уровень люминесценции тканей ШМ после их сенсibilизации ИКП. В качестве носителя ИКП использовали гель «Флюороскан». Для измерения интенсивности люминесценции использовали лазерно-волоконный флуориметр, который позволяет одновременно облучать ткани ШМ лазерным излучением в диапазоне полосы Core и измерять интенсивность люминесценции ИКП в ИК области спектра.

Результаты. Выявлены достоверные ($p < 0,001$) различия между 1, 2 и 3-й группами по уровню люминесценции. Интенсивность люминесценции от тканей ШМ в 1-й группе варьировала от 5 до 9 мВ, во 2-й – от 0,25 до 0,75 мВ, в 3-й – от 0,016 до 0,026 мВ.

Заключение. 1. Методика люминесцентной диагностики позволяет выявлять объективные различия между морфологически нормальными и патологически измененными тканями ШМ. 2. Методика отличается высокой чувствительностью: интенсивность люминесценции при РШМ увеличивается по сравнению с интактной ШМ в десятки раз.

Л. М. Когония, О. А. Королева, Е. В. Маркарова
РАМУЦИРУМАБ В РЕЖИМЕ МОНОТЕРАПИИ
 ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского»,
 Москва, Россия

Цель исследования — изучить безопасность и эффективность рамуцирумаба у больных неоперабельным распространенным раком желудка во 2-й линии терапии после неэффективной 1-й линии химиотерапии (ХТ).

Материал и методы. В ТХО МОНИКИ с 12.2016 по 02.2018 (14 мес) проводилось лечение таргетным препаратом рамуцирумаб у 15 больных с неоперабельным распространенным раком желудка во 2-й линии терапии. Пациенты получили по 6 курсов (12 введений) таргетной терапии препаратом рамуцирумаб 8 мг/кг внутривенно капельно 1 раз в 2 нед в течение 60 мин. После каждого 3 курсов (6 введений) оценивалась эффективность по результатам компьютерной томографии грудной клетки и органов брюшной полости. Терапия в данном режиме продолжалась до прогрессирования заболевания или непереносимости препаратов.

Результаты. В настоящее время (февраль 2018 г.) лечение продолжают 8/15 больных. В процессе применения рамуцирумаба у 11/15 больных отмечаются оптимизация качества жизни, прибавка в весе от 2,5 до 24 кг с начала лечения, улучшение общего состояния и, что важно, оптимистичный настрой на лечение. Полного эффекта не отмечено ни у 1 больного; частичное регрессирование опухоли имеет место у 2 больных и заключается в улучшении эндоскопической картины; стабилизация процесса — у 9 пациентов. Продолжительность терапии у одного из первых больных, получавших рамуцирумаб с февраля 2017 г., превысила 12 мес. В ходе терапии нежелательных явлений не было зарегистрировано. В настоящее время планируется продолжить лечение до 24 введений препарата рамуцирумаб с оценкой динамики процесса после каждого 3-го курса. У больных, продолжающих терапию препаратом рамуцирумаб, контроль над опухолью сохраняется.

Заключение. При выборе и проведении 2-й линии терапии метастатического рака желудка следует учитывать, что заболевание на этой стадии неизлечимо. Именно поэтому основными задачами лечения являются увеличение продолжительности жизни больных и оптимизация качества жизни. В настоящей работе показано, что рамуцирумаб значительно улучшил качество жизни пациентов с метастатическим раком желудка, ранее получавших ХТ без эффекта. Исследование продолжается.

*А. В. Колотаев¹, Д. В. Авдеев¹, М. А. Барышникова^{1,2},
 В. Н. Осипов^{1,2}, Д. С. Хачатрян¹*

**СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ
 СВОЙСТВ НОВЫХ АНАЛОГОВ
 СОМАТОСТАТИНА — ПРОИЗВОДНЫХ
 ТЕТРАПЕПТИДА**

¹НИЦ «Курчатовский институт» — ИРЕА, Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»
 Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Поиск новых высокоспецифичных к соматостатиновым рецепторам препаратов является актуальной задачей. В связи с этим интересно изучить изменение

цитотоксического эффекта при модификации N- и C-концов аналога соматостатина, тетрапептида H-Phe-D-Trp-Lys (ε-Boc)-Thr-OMe — прекурсора цифетрилина.

Цель исследования. Синтез и исследования *in vitro* противоопухолевой активности 15 новых соединений.

Материалы и методы. Исследование проводили на клеточных линиях эндокринных опухолей человека: карциноме легкого A549, карциноме предстательной железы PC-3, T-клеточном лимфобластном лейкозе Jurkat, карциноме толстой кишки HCT-116, аденокарциноме молочной железы MCF-7 в МТТ-тесте. Была изучена цитотоксическая активность 15 соединений, содержащих фрагменты галогензамещенных алифатических кислот, производных тиазолидин-4-карбоновой кислоты, карболина и как свободной, так и защищенных форм DOTA.

Результаты. Из 15 исследуемых соединений активными оказались 12. Соединения АК-42, АК-36, АК-46, АК-22, АНЛ-10, КОА_280 проявили цитотоксический эффект на всех 5 клеточных линиях, используемых в исследовании. Соединения АК-9, АК-10, АК-40, АНЛ-52, КОА_334 эффективны в концентрации 100 мкМ на 4 клеточных линиях; КОА_335 — на 1. Далее была измерена цитотоксичность (ИК₅₀) 11 соединений с выраженной активностью: КОА_280, КОА_335, КОА_334, АНЛ-52, АНЛ-10, АК-22, АК-46, АК-40, АК-10, АК-36, АК-42 в концентрациях от 100 до 1 мкМ. Наиболее выраженную цитотоксичность проявили соединения АК-42 (ИК₅₀ <10 на 5 клеточных линиях), АНЛ-10 (ИК₅₀ <10 на 4 клеточных линиях), АК-46 (ИК₅₀ <10 на 2 клеточных линиях), АНЛ-52 (ИК₅₀ <10 на 1 клеточной линии), КОА_280 (ИК₅₀ <10 на 1 клеточной линии).

Заключение. Из 15 исследованных соединений 5 оказались перспективны для дальнейших исследований их противоопухолевой активности *in vivo*.

*О. В. Корытов¹, Л. И. Корытова¹, Е. А. Маслюкова¹,
 В. П. Сокуренико¹, А. Р. Ахтемзянов¹,
 Н. Д. Олтаржевская², М. А. Коровина²*

**РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
 ОТЕЧЕСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО
 СРЕДСТВА АГДЛ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
 РАДИОИНДУЦИРОВАННОГО ЦИСТИТА**

¹ФГБУ РНЦРХТ им. акад. А. М. Гранова Минздрава России,
 Санкт-Петербург, Россия;

²ООО «Колетекс», Москва, Россия

Введение. Актуальность темы состоит в современной высокой онкологической заболеваемости раком предстательной железы, женской половой сферы (рак шейки матки, рак тела матки), прямой кишки и мочевого пузыря, в комплексе специального лечения которых входит современная лучевая терапия, позволяющая подвести к опухоли малого таза высокие суммарные дозы ионизирующего излучения (75–100 Гр). При этом частота острых лучевых циститов остается высокой (до 80 %), а частота хронических лучевых осложнений, которые могут возникать в период от 3 мес до 20 лет после окончания лучевой терапии, колеблется от 5 до 50 %, что может сказываться на общем результате лечения.

Цель исследования. Создание нового отечественного препарата для лечения радиоиндуцированного цистита.

Материалы и методы. Исследована возможность создания препарата, имеющего биологическую активность полимера основы, анестезирующее, антимикробное действие, способствующее восстановлению местного иммунитета, с пролонгированным лечебным действием для интрапузырных инстилляций в виде «Колетекс-гель-ДНК», который представляется в измененном виде (ингредиенты: колетекс-гель, гиалуронат натрия, лидокаин, диоксидин (АГДЛ)) для предклинических испытаний. Проведены исследования на крысах и кроликах с экспериментальным радиоиндуцированным циститом. Наличие цистита и степень его выраженности подтверждались клиническими, лабораторными и патоморфологическими данными.

Результаты. Оработана и использована модель лучевого цистита у самок и самцов крыс и кроликов. При однократном внутрипузырном введении геля АГДЛ проявлений острой токсичности не получено. Период полувыведения АГДЛ из организма животных составил 5 ч. Внутрипузырное введение АГДЛ по данным ПЭТ-КТ, лабораторных и патанатомических исследований способствует быстрому исчезновению признаков постлучевого цистита по сравнению с не лечеными животными.

Заключение. Создано отечественное медицинское средство для лечения лучевых циститов, не имеющее аналогов в мире, лишенное острой токсичности при внутрипузырном введении, с пролонгированным лечебным действием. Использование АГДЛ позволит обеспечить профилактику развитие острых лучевых циститов при подведении запланированных канцероцидных доз облучения опухолей малого таза без снижения качества жизни, а также эффективно лечить поздние лучевые циститы.

А.И. Котельников¹, А.Ю. Рыбкин¹, Н.С. Горячев¹, А.Ю. Белик¹, П.А. Тараканов¹, А.П. Садков¹, В.С. Романова²
НОВЫЕ ПРИНЦИПЫ СОЗДАНИЯ ТАРГЕТНЫХ ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ СТРУКТУР ФУЛЛЕРЕН–КРАСИТЕЛЬ
¹ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия;

²ФГБУН ИНЭОС РАН, Москва, Россия

С целью получения высокоэффективных таргетных фотодинамических препаратов нового типа разработана методика создания гибридных молекулярных структур краситель–фуллерен–вектор на основе использования патента № RU02462473 С2 совместно с В.С. Романовой (ИНЭОС РАН). Особенностью данной методики синтеза является получение полифункционального производного фуллерена путем поэтапного присоединения к фуллереновому ядру 2 различных функциональных групп. В качестве 1-й функциональной группы может быть присоединена аминокислота или векторная группа, обеспечивающая таргетное взаимодействие соединения с опухолью, а 2-й – триплетно или синглетно возбуждаемый краситель, обеспечивающий эффективное поглощение кванта света в красной области спектра и конвертацию энергии в виде переноса энергии возбуждения или электрона в генерацию активных форм кислорода. Фотохимическая активность такой гибридной структуры примерно в 5,5 раза превышает активность свободного хлорина e_6 за счет поглощения

кванта света хлорином и эффективной передачи возбуждения с красителя на фуллерен, который генерирует активные формы кислорода в 55 раз эффективнее, чем традиционные красители.

Открывается возможность использовать для создания фотодинамических препаратов нового поколения красителей, возбуждаемых не только в триплетное, но и в синглетное состояние. В результате значительно повышается фотодинамическая активность традиционных красителей и расширяются пути поиска новых красителей, удовлетворяющих широкому спектру разносторонних требований, предъявляемых к фотодинамическим препаратам.

При фотодинамическом действии таких гибридных наноструктур в результате эффективного переноса возбуждения с красителя на фуллерен значительно снижается квантовый выход флуоресценции красителя.

В рамках развития методов детектирования таких производных фуллерена и ковалентных диад фуллерен–хлорин e_6 в воде и в биологических объектах разработан метод регистрации таких гибридных структур с помощью методики гигантского комбинационного рассеяния (SERS) и с помощью поверхностно-усиленной флуоресценции (SEF) на подложках и в растворе с серебряными наночастицами.

Было обнаружено, что ковалентные диады фуллерен–хлорин не обладают флуоресценцией, присущей хлорину e_6 , вследствие эффективного переноса электрона или синглетного возбуждения с красителя на ядро фуллерена. Показано, что производные хлорина e_6 и ковалентные диады фуллерен–хлорин, в которых флуоресценция хлорина потушена, при осаждении на серебряных наноподложках обладают близкими по структуре характерными спектрами SERS. В то же время у диад фуллерен–хлорин наблюдается SEF, тогда как у свободного производного хлорина флуоресценция SEF на подложке практически потушена, что согласуется с теорией, предсказывающей обратную зависимость интенсивности флуоресценции SEF от квантового выхода обычной флуоресценции соединений в растворе. В водном растворе концентрационная зависимость интенсивности SEF линейна для исследуемых соединений в диапазоне 0,1–1,0 мкМ, что позволяет их уверенно детектировать в биологических структурах

Полученные гибридные наноструктуры фуллерен–хлорин–гиалуроновая кислота обладают высокой растворимостью в воде и выраженной фотохимической активностью, что позволяет рассматривать их в качестве потенциальных фотосенсибилизаторов. Предлагаемые методики SERS и SEF впервые позволяют исследовать процессы накопления гибридных слабофлуоресцирующих соединений (в том числе и производных фуллерена) в биологических структурах.

Работа выполнена по теме Государственного задания, № гос. регистрации_01201361875, исследования поддержаны Программой Президиума РАН № 1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» и грантом РФФИ № 16-34-01156-мол_а.

В.Ю. Кравцов^{1,2}, С.Б. Оникиенко²,

В.В. Лишенко^{1,2}, Е.О. Чучалин²

ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ PD1-ЗАВИСИМЫХ РЕАКЦИЙ В АССОЦИАЦИЯХ ЛИМФОЦИТОВ С КОМПЛЕКСАМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК

¹ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия;

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Известно, что PD1-рецепторы программируемой клеточной смерти цитотоксических Т-лимфоцитов блокируют противоопухолевый иммунный ответ. Создание ингибиторов PD1-рецепторов стало прорывом в биотерапии рака. Для понимания механизмов их лечебного действия и мониторинга биотерапии рака необходимо изучение PD1-зависимых реакций в лимфоцитарно-опухолевых ассоциациях у онкологических пациентов *in vivo*.

Цель исследования. Иммуноцитохимическое изучение PD1-зависимых реакций в ассоциациях цитотоксических Т-лимфоцитов с комплексами злокачественных клеток в асцитической и плевральной жидкостях при биотерапии рака.

Материалы и методы. Аспирационные биоптаты получены у 5 пациентов с метастазированием опухоли в плевральную и брюшную полости. Аспираты отстаивали в течение часа, осадок переносили на предметные стекла. Иммуноцитохимические исследования PD1-рецепторов, CD3, CD8, гранзима Б и перфорина в лимфоцитах, ассоциированных с комплексами злокачественных клеток, проводили под иммерсией (увеличение 1000) после окрашивания соответствующими первыми моноклональными антителами и адаптированными под них системами визуализации фирмы Abcam.

Результаты. PD1-положительные (PD1⁺) лимфоциты, ассоциированные с комплексами злокачественных клеток, имеют признаки деструкции (апоптоза) в отличие от не ассоциированных PD1⁺ лимфоцитов ($p < 0,0001$). Установлено, что апоптотические PD1⁺ тельца фагоцитируются раковыми клетками. Признаки цитонекроза и апоптоза в злокачественных клетках обнаруживаются только в тех случаях, когда они ассоциированы одновременно и PD1⁻ и PD1⁺ лимфоцитами ($p < 0,05$). При таком варианте онколизиса наблюдаются картины коллективного апоптоза опухолевых и иммунокомпетентных клеток. В лимфоцитах, ассоциированных со злокачественными клетками, проявляется активность гранзима Б и перфорина с трансфекцией гранзима Б в цитоплазму злокачественных клеток. Морфометрические измерения плотности антигена в цитотоксических Т-лимфоцитах установили отрицательную корреляцию между экспрессией гранзима Б и перфорина с одной стороны и экспрессией PD1-рецептора — с другой. Иммуноцитохимические исследования свидетельствуют о том, что активация противоопухолевого иммунного ответа ингибиторами PD1-рецепторов происходит только при выявлении их исходной гиперэкспрессии в цитотоксических Т-лимфоцитах.

Заключение. Иммуноцитохимические исследования PD1-зависимых реакций в ассоциациях Т-цитотоксических лимфоцитов с комплексами злокачественных клеток

позволяют изучать механизмы противоопухолевого иммунного ответа и мониторировать биотерапию злокачественных новообразований у пациентов с метастазированием опухоли в плевральную и брюшную полости.

В.П. Краснов

ДИЗАЙН ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АМИНОКИСЛОТ

ИОС УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Природные аминокислоты разнообразны по строению, коммерчески доступны, обладают высокой оптической чистотой и представляют собой уникальное сырье для создания на их основе новых лекарственных средств. Весьма важным является наличие в структуре этих соединений альфа-аминокислотного остатка, обеспечивающего избирательный транспорт фармакофорных групп.

В ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН разработаны методы синтеза большой группы нитрозоуреидо производных диаминокарбоновых кислот и исследована их противоопухолевая активность. Результатом исследований явилось создание, совместно с НМИЦ им. Н.Н. Блохина Минздрава России, оригинального противоопухолевого препарата лизомустин, клинически используемого в настоящее время для лечения рака легкого и меланомы кожи. Успешно завершено доклиническое изучение препарата ормустин, предназначенного для лечения первичных и метастатических опухолей головного мозга.

Синтезирован ряд пептидоподобных соединений, производных карборанов, представляющих интерес для использования в бор-нейтронозахватной терапии опухолей.

В последнее время разрабатываются методы синтеза конъюгатов пурина с аминокислотами и дипептидами, обладающими различными видами биологической активности.

Модификация магнитных наночастиц на основе магнетита позволила получить материалы, перспективные для диагностики опухолей.

Проведенные исследования показали перспективность использования аминокислот для создания инновационных лекарственных средств.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 14-13-01077).

Н.В. Красногорова¹, Д.В. Новиков¹, С.Г. Фомина¹,

Р.Г. Пегов², М.А. Магомедов², В.В. Новиков¹

СВЯЗЬ МЕЖДУ УРОВНЯМИ МРНК FCγRIIIa, TNF И FOXR3 В ОПУХОЛЯХ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия;

²ГБУЗ НО НОКОД, Нижний Новгород, Россия

Введение. Появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что локальное хроническое воспаление при колоректальном раке (КРР) является независимым мониторинговым показателем. Провоспалительное окружение клеток опухоли формируется клетками врожденного и адаптивного иммунитета, инфильтрующими опухоль. Присутствие в опухоли больных КРР натуральных киллеров, макрофагов и нейтрофилов ассоциировано с благоприятным прогнозом. Обнаружение в опухоли большого количества

активированных T-регуляторных клеток, наоборот, ассоциировано с присутствием регионарных и отдаленных метастазов.

Цель исследования. Исследование ассоциации экспрессии генов *FcyRIIIa*, *FcyRIIIb*, *TNF* и *FOXP3* в опухолях больных КРР с особенностями течения заболевания.

Материалы и методы. В работе использовали образцы опухолей от 58 больных КРР. Определение уровней мРНК исследуемых генов выполняли методом ОТ-ПЦР с детекцией в реальном времени относительно референтных генов. Статистическую обработку данных проводили, используя U-критерий Манна–Уитни, H-критерий Краскела–Уоллиса и коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты. Установлено, что уровень мРНК *FcyRIIIa* положительно коррелировал с уровнем мРНК *FOXP3* ($r = 0,31$, $p = 0,02$) и с уровнем мРНК *TNF* ($r = 0,35$, $p = 0,009$), в то же время связь с уровнем мРНК *FcyRIIIb* не была выявлена. Уровни мРНК *FcyRIIIa* были наиболее высокими в опухолях больных с множественными регионарными метастазами ($p = 0,03$), отнесенных по классификации TNM к категории N2 при размере опухоли T3 и T4.

Заключение. Высокий уровень мРНК *FcyRIIIa* в опухоли связан с прогрессированием КРР.

*Т.М. Кулинич, А.М. Шишкин, А.В. Иванов,
Е.А. Кудинова, В.К. Боженко*

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СВОЙСТВ ПЕПТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ИНГИБИТОРОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЦИКЛИНА D1 И ЦИКЛИНЗАВИСИМЫХ КИНАЗ 4/6

ФГБУ РНЦРР Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Образование комплексов циклин–циклин-зависимая киназа является ключевым механизмом активации (регуляции) процессов клеточной пролиферации. Циклины D-типа, связываясь с циклинзависимыми киназами 4 и 6, индуцируют фосфорилирование белка Rb и стимулируют переход G1-S. Гиперэкспрессия циклина D и CDK4/6 обнаруживается при многих злокачественных новообразованиях различных локализаций.

Цель исследования. Оценка влияния на рост и пролиферацию клеток линий аденокарцином толстой кишки человека HT-29 и HCT-116 2 пептидных последовательностей, ингибирующих взаимодействие циклина D1 и циклинзависимых киназ 4/6 (Seq1 и Seq2).

Материалы и методы. Использованы методы проточной цитофлуориметрии (разные виды окраски) и оценки пролиферации «в реальном времени» (RTCA iCELLigence, США).

Исследованные последовательности представляют собой химерные пептиды, включающие функциональную часть и интернализуемую последовательность (Tat).

Результаты. Было показано, что Seq1 и Seq2 *in vivo* проявляют антипролиферативные свойства, выражающиеся в задержке перехода G1-S, увеличении количества клеток в G-фазе, замедлении процессов пролиферации в отношении клеток культур HT-29 и HCT-116. Внесение в культуральную среду последовательности Seq2 в концентрации 5 мкМ приводило к 30–50 % задержке роста клеточной популяции, при увеличении концентрации до 10 мкМ

наблюдалась полная остановка пролиферации и гибель опухолевых клеток преимущественно по пути апоптоза. Исследования последовательности Seq1 показали наличие антипролиферативных эффектов только при концентрациях >20 мкМ. В экспериментах *in vivo* на модели подкожно трансплантированной опухоли HT-29 было показано, что интраперитонеальное введение последовательностей Seq1 и Seq2 в концентрациях 0,3 мг на мышь с интервалом 1 раз в 3 дня тормозит рост опухолевого узла в 2,2 раза по сравнению с контрольной группой и приводит к увеличению продолжительности жизни животных.

Заключение. Исследуемые пептидные последовательности, ингибирующие взаимодействие циклина D1 и циклин-зависимых киназ 4/6, обладают противоопухолевой активностью в отношении клеток рака толстой кишки человека.

*М.А. Лапина¹, С.И. Норко², Н.Ф. Гольдшлегер¹,
В.Е. Баулин^{3,4}, А.А. Терентьев^{1,2,5}*

НАКОПЛЕНИЕ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ ОКТА-[(4'-БЕНЗО-15-КРАУН-5)-ОКСИ]ФТАЛОЦИАНИНАТА МАГНИЯ В КЛЕТКАХ HELa

*¹ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка,
Московская область, Россия;*

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

³ФГБУН ИФХЭ РАН, Москва, Россия;

*⁴ФГБУН ИФВ РАН, Черноголовка, Московская область,
Россия;*

*⁵НОЦ «Медицинская химия» МГОУ, Черноголовка,
Московская область, Россия*

Введение. В настоящее время фотодинамическая терапия (ФДТ) стала эффективным методом лечения некоторых онкологических заболеваний человека. Метод ФДТ основывается на применении фотосенсибилизаторов (ФС), которые после введения в организм способны накапливаться в опухоли и при лазерном возбуждении продуцировать синглетный кислород и цитотоксические вещества, что приводит к гибели раковых клеток. Фталоцианины (ФЦ) относятся к группе ФС 2-го поколения. Краун-содержащие ФЦ несут в молекуле 2 потенциально активные медико-биологические структуры – краун-фрагменты и макроцикл. Присутствие краун-групп на периферии макроцикла обеспечивает растворимость ФЦ в водной среде. В данной работе в качестве нового потенциального ФДТ-агента используется окта[(4'-бензо-15-краун-5)-окси]фталоцианинат магния ($MgCr_8Pc$) и исследуется его поглощение и локализация в клетках HeLa – аденокарциномы шейки матки человека.

Цель исследования. Оценить токсичность, накопление и локализацию исследуемого соединения $MgCr_8Pc$ в опухолевых клетках HeLa.

Материалы и методы. Изучение накопления и локализацию $MgCr_8Pc$ в клетках HeLa проводили методом флуоресцентной микроскопии на микроскопе Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Германия). Для этого клетки выращивали на покровных стеклах и инкубировали с $MgCr_8Pc$ в течение 24 ч в дозе IC_{50} . Для визуализации ядра клетки использовали краситель DAPI. Накопление $MgCr_8Pc$ в клетках

регистрировали при использовании светофильтра Fset 45 с параметрами возбуждения 540–580 нм. С помощью МТТ-теста была изучена токсичность $MgSr_8Pc$ в клетках HeLa.

Результаты. Результаты по изучению цитотоксичности и флуоресцентной микроскопии показали, что морфология клеток изменяется после 24 ч действия $MgSr_8Pc$ в дозе IC_{50} . Установлено, что $MgSr_8Pc$ локализуется как в ядрах, так и в цитоплазме клеток при данном способе обработки.

Заключение. Таким образом, получены данные по накоплению $MgSr_8Pc$ в клетках HeLa, что позволяет продолжить дальнейшее изучение на опухолевых клетках нового соединения $MgSr_8Pc$ как потенциального ФДТ-агента.

Работа поддержана

Программой фундаментальных научных исследований

Президиума РАН № 34 и РФФИ

(проект № 18-03-00743 А).

*А.А. Липенгольц^{1,2}, А.В. Смирнова^{1,3}, Т.Б. Куракина³,
Е.А. Калабина⁴, Е.С. Воробьева², И.Н. Нечкина¹,
Ю.А. Финогенова⁵, М.А. Абакумов⁵, Е.Ю. Григорьева¹,
И.Н. Шейно²*

ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА ФОТОН-ЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ РАЗЛИЧНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ МОДЕЛЕЙ МЫШЕЙ

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России,
Москва, Россия;

³ГБУЗ «МКНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ», Москва, Россия;

⁴Филиал ФГБУН ИБХ РАН, Пушкино, Московская область,
Россия;

⁵ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»

Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Фотон-захватная терапия (ФЗТ) — новый перспективный метод лучевой терапии злокачественных опухолей. В ФЗТ пространственное распределение дозы определяется пространственным распределением дозоповышающего агента (ДПА).

Цель исследования. Определить зависимость эффективности ФЗТ от пространственного распределения поглощенной дозы в опухоли.

Материалы и методы. Опухолевые модели: Ca-755 и LLC, рентгеновский аппарат 200 кВ, микро-КТ IVIS, гадоптротрол (Gd) и йопромид (I). Облучение Ca-755 в дозе 13 Гр, LLC — 20 Гр. Моделирование дозного распределения при сосудистом поступлении и локализации ДПА в опухоли на модели Ca-755 и в/в способе введения, а внутритканевая локализация — на LLC и и/т введении. Выбор моделей — по данным МРТ, показавшей, что при в/в введении контрастные средства (КС) проникают в Ca-755 и не проникают в LLC, а при и/т введении КС быстро выводятся из Ca-755, но сохраняются в тканях LLC. Пространственное распределение поглощенной дозы в опухоли вычисляли по распределению ДПА. Контроль — группа мышей, облученных в той же дозе, но без введения ДПА.

Результаты. После введения I в 31 % объема опухоли наблюдалась концентрация I, создающая при облучении дозу до 200 Гр, но дополнительный противоопухолевый

эффект для LLC отсутствовал. Для Ca-755 после введения Gd: концентрация Gd в опухоли <1 мг/мл и прогнозируемое увеличение дозы <5 %. Но ФЗТ Ca-755 с введением Gd показала задержку роста опухоли на 6 сут.

Заключение. Наблюдали несоответствие противоопухолевого эффекта ФЗТ пространственному распределению и величине поглощенной дозы, создаваемых ДПА. Это указывает на то, что противоопухолевый эффект ФЗТ обусловлен не только физическим повреждением опухоли ионизирующим излучением, но и иными биологическими механизмами. Данные механизмы более выражены для Ca-755, чем для LLC. Возможно, что локальные всплески поглощенной дозы запускают другие механизмы подавления роста опухоли, которые и играют ведущую роль в создании противоопухолевого эффекта ФЗТ.

В.А. Литвинова^{1,2}, А.С. Тихомиров^{1,2}, А.Е. Щекотихин^{1,2}

НАФТОИНДОЛ-3-КАРБОКСАМИДЫ — НОВЫЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ В РЯДУ АНТРАХИНОНОВ

¹ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия;

²РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. Пиррол- и фуран-конденсированные производные антрахинона обладают высокой противоопухолевой активностью, воздействуя на ряд внутриклеточных ферментов (топоизомеразы 1 и 2, протеинкиназа Auroga B). Соединение-лидер — антрафуран ЛХТА-2034 — прошло доклинические испытания и рекомендовано для проведения клинических исследований.

Цель исследования. Анализ влияния гетероатома и карбонильного фрагмента карбоксамидной группы нафто[2,3-*f*]индол-5,10-дионов на цитотоксическую активность.

Материалы и методы. Нафто[2,3-*f*]индол-3-карбоксамиды были получены конденсацией нафто[2,3-*f*]индол-3-карбоновой кислоты с аминами. Антипролиферативная активность полученных соединений была изучена в МТТ-тесте на линиях опухолевых клеток аденокарциномы поджелудочной железы Саран-1, карциномы кишки НСТ-116, карциномы легкого NCI-H460, острого лимфобластного лейкоза DND-41, острого миелоидного лейкоза HL-60 и хронического миелоидного лейкоза K562.

Результаты. Обнаружено, что замена атома кислорода на азот в гетероциклическом ядре повышает растворимость целевых соединений (более чем в 20 раз). Новые производные нафто[2,3-*f*]индол-3-карбоксамиды подавляют пролиферацию опухолевых клеток в интервале от низких микромолярных до субмикромолярных концентраций. Энантиомерные амиды, содержащие циклический амин в боковой цепи, имеют близкую биологическую активность, в отличие от их биоизостерных аналогов фуранового ряда, у которых наиболее активным оказалось производное (*S*)-3-аминопирролидина (ЛХТА-2034).

Заключение. Новые аналоги противоопухолевого антрафурана ЛХТА-2034 на основе нафто[2,3-*f*]индол-3-карбоксамиды являются перспективными кандидатами для изучения механизма действия и дальнейшего их тестирования *in vivo*.

Химическая часть исследований выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ для молодых ученых МК-2474.2018.3.

*А.А. Лушникова¹, Л.Ф. Морозова¹, А.А. Рудакова¹,
С.М. Андреев², А.В. Балбуцкий¹*

ИНДУКЦИЯ АПОПТОЗА КЛЕТОК РАКА ПОЧКИ КАТИОННЫМИ ПЕПТИДАМИ

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России,
Москва, Россия

Введение. Рак почки (РП) отличается высокой молекулярно-генетической и клинической гетерогенностью, что значительно ухудшает прогноз и ответ на стандартную химиотерапию. Для молекулярно направленной терапии агрессивных опухолей почки перспективны катионные пептиды (КП), взаимодействующие с многофункциональными белками нуклеолином (С23) и нуклеофозмином (В23), которые высоко экспрессированы в большинстве опухолевых клеток, но не в нормальных клетках. Рецепторный С23 рассматривается как основная мишень для молекул КП, обогащенных остатками Arg-Lis.

Цель исследования. Изучение механизмов избирательной цитотоксичности КП на модельной перевиваемой линии Рпоч1-КК светлоклеточного РП с ранее выявленной цитогенетической поликлональностью и мутациями в генах-супрессорах *VHL* и *TP53*.

Материалы и методы. Клетки (Кл) Рпоч1-КК культивировали в полной питательной среде RPMI-1640 с 10 %-ной эмбриональной телячьей сывороткой. Цитотоксичность 5 КП с разной структурой массой 1–2 кДа изучали в стандартных МТТ-тестах и микроскопически, используя флуоресцентно меченный Су5*-КП со структурной формулой $R_8K_4K_2KAC-NH_2$, вносимый с интервалом 2 ч в конечных концентрациях 0,5–1 мкг/мл в микроячейки с 2-суточной культурой Кл Рпоч1-КК. Контроль – морфологически нормальные фибробласты человека линии Н1036. После 2–6 ч инкубации Кл окрашивали DAPI и Хекст 33342. Для подтверждения апоптоза использовали проточную цитофлуориметрию. Экспрессию генов *NCL/NPM* и кодируемых белков С23/В23 анализировали с помощью ОТ-ПЦР, ИГХ-окрашивания стекол с суспензией Кл Рпоч1-К и вестерн-блоттинга.

Результаты. Уровни экспрессии С23/В23 в Кл Рпоч1-КК выше контроля в 7,6 и 4,2 раза соответственно, что подтверждает дифференциальную экспрессию С23/В23 в опухолевых и нормальных Кл. МТТ-тест выявил высокую цитотоксичность изученных КП с разной молекулярной структурой в концентрациях 0,5–4 мкг/мл. Выживаемость клеток в 3-суточной культуре Кл после инкубации с КП снизилась до 12,9–18,4 %, в контрольных лунках – не изменилась, и цитотоксичность КП в отношении фибробластов не выявлена. Результаты вестерн-блоттинга и ОТ-ПЦР показывают, что в основе избирательной цитотоксичности изученных КП лежит конкурентное взаимодействие молекул КП с рецепторными С23 и В23, высоко экспрессированными в опухолевых клетках и регулируемыми ключевые клеточные процессы, в том числе апоптоз, с последующим высвобождением супрессора p53. После инкубации с КП в Кл Рпоч1-КК наблюдалось значительное повышение экспрессии p53 и снижение уровня свободного С23. Показано также, что в апоптоз Кл Рпоч1-КК, индуцированный КП, вовлечены каспазы 3, 8 и 9.

Заключение. На модельной перевиваемой линии Рпоч1-КК показана избирательная цитотоксичность 5 низкомолекулярных КП. В механизм апоптоза вовлечены белки С23, В23 – возможные мишени пептидов, p53 и каспазы 3, 8, 9. Эти КП перспективны для предклинического исследования.

*Е.С. Лылова¹, А.В. Савинова², Л.Р. Тилова²,
Е.М. Жидкова², В.П. Максимова², К.А. Кузин²,
О.А. Власова², К.И. Кирсанов², А.Ю. Портянникова²,
М.Г. Якубовская², Е.А. Лесовая^{2,3}*

ПОИСК ИНГИБИТОРОВ REDD1 И ОЦЕНКА ИХ ВЛИЯНИЯ НА РОСТ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК ЛЕЙКОЗОВ И ЛИМФОМ

¹МИТХТ, Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Россия

Введение. Глюкокортикоиды (ГС) часто применяются в терапии онкологических заболеваний. Однако их использование ограничено возникновением побочных эффектов и развитием резистентности. Биологические эффекты ГС реализуются посредством активации глюкокортикоидного рецептора (GR), который регулирует экспрессию генов путем транс-репрессии, обуславливающей терапевтическое действие ГС, и транс-активации, отвечающей за побочные эффекты. Было показано, что GR-зависимый ген *REDD1* (regulated in development and DNA damage response 1) имеет большое значение в развитии побочных эффектов ГС. Были отобраны потенциальные ингибиторы *REDD1* – антипротозойное средство эметин и ингибитор протеинкиназы CGP-60474.

Цель исследования. Оценка эффектов потенциальных ингибиторов *REDD1* эметина и CGP-60474 на рост и жизнеспособность клеток лимфомы и лейкоза.

Материалы и методы. Потенциальные ингибиторы *REDD1* отбирали с помощью биоинформатического анализа. Их свойства оценивали на клетках острого лимфобластного лейкоза СЕМ и мантийноклеточной лимфомы Granta. Клетки обрабатывали эметином или CGP-60474, затем, спустя 6 ч после обработки веществами, глюкокортикоидом дексаметазоном (Dex) в течение 24–72 ч. Цитотоксический эффект определяли с помощью прямого подсчета клеток. Экспрессию *REDD1* оценивали с помощью количественной ПЦР после обработки клеток ингибиторами *REDD1* в течение 6 ч и последующей обработки Dex в течение 6–24 ч.

Результаты. Эметин и CGP-60474 не снижали цитотоксический эффект Dex на клетки обеих линий, а при определенных дозах мы наблюдали кооперативное цитотоксическое действие глюкокортикоида и тестируемых соединений. В то же время эметин и CGP-60474 подавляли базальный и ГС-индуцированный уровень экспрессии *REDD1*.

Заключение. Эметин и CGP-60474 являются ингибиторами *REDD1* и не снижают цитотоксический эффект ГС. Перспективным является исследование их действия на моделях лейкозов и лимфом для оценки их влияния на развитие побочных эффектов ГС.

Работа поддержана грантом РФФ № 17-75-20124.

Ю.С. Маклыгина¹, Г.М. Юсубалиева²,
И.Д. Романишкин¹, Е.В. Ахлюстина³, А.В. Рябова¹,
В.П. Чехонин², В.Б. Лощенко^{1,3}

СПЕКТРАЛЬНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ ОПУХОЛЬАССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГОВ

¹ФГБУН ИОФ РАН, Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского»
Минздрава России, Москва, Россия;

³Национальный исследовательский ядерный университет
«МИФИ», Москва, Россия

Введение. Различие в метаболических процессах в клетках, которыми непосредственно связывается фотосенсibilизатор (ФС), позволяет спектрально-флуоресцентными методами по различию времени жизни флуоресценции ФС судить о степени его взаимодействия с клеточными компонентами и идентифицировать тем самым тип клеток.

Цель исследования. Выделить среди микроокружения опухоли опухолюассоциированные макрофаги, которые являются привлекательными мишенями, в целях успешного использования потенциала нормальной иммунной системы для терапии.

Материалы и методы. Для исследования кинетики фотолюминесценции ФС был использован измерительный комплекс, основанный на стрик-камере с пикосекундным временным разрешением (15 пс) Hamamatsu C10627–13, сопряженный с полупроводниковым лазером Hamamatsu с длительностью импульса 67 пс и с длиной волны 633 нм. Серия экспериментов была проведена на половозрелых самках крыс с массой тела 200 ± 10 г, у которых моделировали мультиформную глиобластому путем имплантации. В качестве ФС в работе использовали 5-АЛК индуцированный Пп IX в концентрации 100 мг/кг.

Результаты. В результате методом время-разрешенной спектроскопии было установлено 3 компонента времени жизни флуоресценции Пп IX в условиях *in vivo* с характерными средними значениями 6, 1 и 0,2 нс. Каждая из полученных компонент времени жизни флуоресценции характеризуются захватом ФС определенным типом клеток, что связано с различием в их метаболизме и фагоцитозе.

Заключение. Таким образом, в перспективе при односторонней идентификации различных типов клеток по времени жизни флуоресценции ФС, в том числе опухолюассоциированных макрофагов, планируется проведение целевой фотодинамической терапии, направленной на разрушение опухолюассоциированного микроокружения, защищающего клетки опухоли от нормального иммунного ответа.

Работа выполнена в ИОФ РАН в соответствии с госзаданием П. 11. Тема № 01200953447 Биомедицинская физика (рук. В.Б. Лощенко).

В.М. Малинников¹, О.О. Красновская¹, Е.К. Белоглазкина¹,
Д.А. Скворцов¹, А.В. Бачева¹, Н.В. Зык¹, А.Г. Мажуга^{1,2,3}

НОВЫЕ pH-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ТИОМОЧЕВИНЫ КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И ЦИТОСТАТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

¹Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия;

²НИТУ «МИСиС», Москва, Россия;

³РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. В развитых странах по количеству смертельных исходов злокачественные новообразования в настоящее время занимают 2-е место. В последние десятилетия было разработано множество химиотерапевтических агентов различных классов: комплексные соединения платины, производные тетрациклина, аналоги нуклеотидов и другие. Применяемые на настоящий момент в клинической практике цитостатические препараты являются эффективными средствами химиотерапии злокачественных новообразований, при этом, однако, обладают рядом серьезных недостатков: неоптимальным фармакокинетическим профилем, низкой селективностью по отношению к опухолевым клеткам, высокой общей токсичностью. В связи с этим ведется активная работа по созданию систем адресной доставки цитотоксических препаратов в клетки злокачественных новообразований. Таковыми являются пролекарства – неактивные в среде организма производные лекарственного препарата, под действием метаболических процессов переходящие в активную форму. Известно, что злокачественные новообразования обладают рядом особенностей. Так, межклеточное пространство опухолевой ткани имеет $pH = 6,2-7,0$, в то время как в здоровых тканях $pH = 7,2-7,4$. В связи с этим логичным шагом является создание pH-чувствительных пролекарств на основе известных химиотерапевтических агентов.

Цель исследования. Синтез pH-чувствительных диагностических и терапевтических агентов на основе тиомочевина, а также изучение их биологической активности.

Материалы и методы. Структура синтезированных производных тиомочевина установлена методами спектроскопии ЯМР ¹H, масс-спектрометрии высокого разрешения. Спектры флуоресценции зарегистрированы с помощью прибора Varian Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer.

Результаты. В ходе работы был синтезирован ряд производных тиомочевина, способных к циклизации в слабокислой среде. Одно из них представляло собой FRET-пару с $\lambda_{ex} = 350$ нм $\lambda_{em} = 518$ нм, распадающуюся в кислой среде с изменением спектра флуоресценции. Методом флуориметрии была подтверждена гипотеза о способности стерически нагруженных производных тиомочевина к циклизации в кислой среде, а также исследована кинетика данного процесса. Были также получены ковалентные конъюгаты доксорубина и паклитаксела с молекулой-предшественником антиконвульсивного препарата альбуртоина, способные в кислой среде опухолевых клеток высвобождать оба терапевтических агента.

Заключение. В результате работы были получены новые pH-чувствительные диагностические и терапевтические агенты на основе способных к циклизации производных тиомочевина. Данные соединения показали высокую

эффективность *in vitro* и являются перспективными кандидатами для испытаний *in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-33-60166).

Е.В. Маркарова, Л.М. Когоня, Г.А. Сташук, О.А. Королева
ЭФФЕКТИВНОСТЬ АФАТИНИБА В 3-Й ЛИНИИ ТЕРАПИИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО С МУТАЦИЕЙ *EGFR* У 82-ЛЕТНЕЙ ПАЦИЕНТКИ
ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

Цель исследования. Оценить эффективность назначения афатиниба у больной немелкоклеточным раком легкого при наличии в анамнезе 2 линий химиотерапии (ХТ).

Материалы и методы. За период 2016–2017 гг. наблюдались 13 пациентов; у всех больных имело место улучшение общего самочувствия и состояния на фоне проводимой терапии. Наиболее впечатляющий объективно регистрируемый эффект был получен у пациентки 1936 г. р., у которой на 1-м этапе был диагностирован бронхоальвеолярный рак легких с лимфогенным канцероматозом, метастатическим поражением левого надпочечника, печени и костей скелета, кахексией. Исследование на *EGFR*-мутацию на начальном этапе не проводилось. Без эффекта было проведено 2 курса паллиативной ХТ с использованием карбоплатина + этопозида, затем проведено 2 курса паллиативной ХТ с использованием карбоплатина + алимпты. Также проводилась терапия с использованием бисфосфонатов (зомета) и таргетная терапия авастинном (2 введения). Лишь при последующем молекулярно-генетическом исследовании была выявлена *EGFR*-мутация в 19-м экзоне и назначена таргетная терапия препаратом афатиниб в дозе 40 мг/сут.

Результаты. У пациентки 81 года с диагностированной аденокарциномой легких с мутацией *EGFR*, на фоне проводимой таргетной терапии *EGFR*, по результатам контрольного исследования (КТ органов грудной клетки и органов брюшной полости) через 6 мес от начала терапии наблюдалось уменьшение количества полиморфных очагов, зон альвеолярной инфильтрации в обоих легких и регресс дополнительного узлового образования в S6 нижней доли левого легкого, уменьшение количества и размеров очагов в печени. Субъективно – улучшение общего состояния и увеличение массы тела на 8 кг. Период наблюдения составляет 11 мес. Стабилизация достигнутого эффекта.

Заключение. Назначение афатиниба возможно даже пожилым пациентам при наличии *EGFR*-мутации и является эффективным лечением аденокарциномы легких.

М.А. Мартынова, И.М. Бушмакина, Н.А. Шуканова, М.М. Молчан

ВЛИЯНИЕ НАНОЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ПАКЛИТАКСЕЛА НА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ ОПУХОЛИ ЖЕНСКИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ
Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Введение. Паклитаксел занимает особое место среди эффективных противоопухолевых химиопрепаратов. Он

обладает высокой терапевтической активностью при лечении рака молочной железы (РМЖ), яичников, головы и шеи, а также успешно применяется в случае злокачественных новообразований, не поддающихся традиционной химиотерапии, таких как ранее обработанная лимфома, мелкоклеточные раковые заболевания легких, опухоли пищевода, желудочного эндометрия, мочевого пузыря и т. п. Однако паклитаксел имеет крайне низкую растворимость в воде, что затрудняет получение подходящей лекарственной формы. Используемые для инъекций растворы паклитаксела обладают гипераллергенностью за счет комплексного растворителя, а само активное вещество вызывает подавление функции костного мозга, лейкопению, тромбоцитопению, анемию и другие виды токсичности, поэтому можно ожидать, что его липосомальная форма существенно снизит токсичность и аллергенность препарата не в ущерб терапевтической эффективности, что, безусловно, является крайне актуальной задачей.

Цель исследования. Изучение влияния различных форм нанолипосомального паклитаксела на ферментативную активность клеток эпителиальной карциномы шейки матки человека HeLa и клеток РМЖ в первичной культуре.

Материалы и методы. Униламеллярные липосомы, содержащие паклитаксел, получали методом ультразвукового диспергирования с использованием зарядформирующих минорных компонентов. Первичную культуру РМЖ человека вели по разработанному нами ранее методу. Активность ацетилхолинэстеразы в клетках HeLa и РМЖ определяли с использованием реактива Элмана, белок в клеточной суспензии определяли по модифицированному методу Лоури.

Результаты. Установлено, что незаряженные липосомы без паклитаксела (контроль) и включенный в такие липосомы препарат при сравнении с инъекционной формой паклитаксела действовали на ацетилхолинэстеразу клеток HeLa и клеток РМЖ в первичной культуре аналогично. Таким же образом влиял и положительно заряженный нанолипосомальный паклитаксел при использовании в качестве зарядформирующего минорного компонента цетилтриметиламмоний бромида. Паклитаксел, включенный в положительно заряженные липосомы, где заряд формировали включением стеарилэтаноламида, незначительно (до 10 %) ингибировал активность ацетилхолинэстеразы опухолевых клеток. В то же время при инкубации клеток с паклитакселом, включенным в отрицательно заряженные липосомы, содержащие в качестве минорного компонента стеариновую кислоту, наблюдалось ингибирование активности ацетилхолинэстеразы клеток HeLa и РМЖ в первичной культуре до 30 %. При этом следует отметить, что инкубация клеток в течение уже 3 ч с такой формой нанолипосомального паклитаксела приводила к снижению жизнеспособности злокачественных клеток в 2 раза. Возможно, полученные результаты исследования обусловлены тем, что отрицательно заряженный нанолипосомальный паклитаксел, как было показано нами ранее, наиболее эффективно инкорпорирует активное вещество и более стабилен.

Заключение. Паклитаксел, включенный в нанолипосомы с отрицательным зарядом, обладает наибольшим ингибирующим влиянием на жизнеспособность и ферментативную активность опухолевых клеток.

Е.А. Маслюкова, Л.И. Корытова, А.В. Бондаренко, О.В. Корытов, В.И. Сергеев, А.В. Савельева, А.Р. Ахтемзянов
РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ РОЛИ СРЕДНЕГО ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ФГБУ РНЦРХТ им. акад. А.М. Гранова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Целью современных методов лучевой терапии (ЛТ) является повышение терапевтического эффекта за счет улучшения контроля над опухолью и снижения ранней и поздней токсичности. В частности, недостаточно исследованы возможности среднего фракционирования в алгоритме лечения больных местно-распространенным раком молочной железы (МРМЖ) и оценки непосредственного противоопухолевого эффекта.

Цель исследования. Оценить эффективность послеоперационной лучевой терапии (ПОЛТ) у больных МРМЖ в режиме среднего фракционирования.

Материалы и методы. В исследование вошли больные МРМЖ стадии T4N1–3M0 ($n = 488$), радикально прооперированные в объеме радикальной мастэктомии. Из них: 342 пациентки получили ПОЛТ, а у 146 пациенток ПОЛТ в послеоперационном периоде не была выполнена по различным причинам. Пациентки, которым провели ПОЛТ, подразделялись на 2 подгруппы: 1) 168 пациенток – ЛТ в режиме конвенционального облучения, доза за фракцию 2 Гр; 2) 174 пациентки – ЛТ в режиме среднего фракционирования, доза за фракцию 3 Гр.

Результаты. Оценка 3-, 5- и 10-летней общей выживаемости (ОВ) в группах без разделения на различные режимы фракционирования показала следующие результаты. В группе ПОЛТ 3-летняя ОВ составила 78,7 %, 5-летняя – 54,9 %, 10-летняя – 32,9 %. В группе, в которой ПОЛТ по каким-либо причинам не проводилась, 3-, 5- и 10-летняя ОВ составила 77,2, 52,5 и 0 % соответственно. Таким образом, в ретроспективном подгрупповом анализе ОВ отмечена взаимосвязь между увеличением продолжительности жизни и проведением ПОЛТ. Использование среднего фракционирования достоверно не ухудшало ОВ по сравнению с группой обычного фракционирования. Gehan's Wilcoxon Test, $p = 0,53159$. Оценка 3-, 5-летней ОВ в группах показала следующие результаты: в группе ПОЛТ в режиме среднего фракционирования 3-летняя актуальная ОВ составила 78,2 %, 5-летняя – 53 %. В группе ПОЛТ в режиме конвенционального облучения 3- и 5-летняя ОВ составила 79,8 и 56,7 % соответственно ($p > 0,05$).

Заключение. Использование ПОЛТ в режиме среднего фракционирования у больных МРМЖ по сравнению с конвенциональным облучением сопоставимо по показателям выживаемости.

Е.А. Маслюкова, Л.И. Корытова, А.В. Бондаренко, О.В. Корытов, А.В. Савельева, А.Р. Ахтемзянов
ПРОФИЛАКТИКА ЛУЧЕВЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ФГБУ РНЦРХТ им. акад. А.М. Гранова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Близость жизненно важных органов наряду с необходимостью подведения высоких очаговых доз к значительным объемам тканей в случае местно-распространенных опухолей делают проблему возможных реакций и осложнений в здоровых тканях при лечении рака молочной железы (РМЖ) чрезвычайно актуальной.

Цель исследования. Разработка мер профилактики лучевых реакций кожи у больных РМЖ.

Материалы и методы. Для оценки ранних лучевых реакций кожи пациентки ($n = 120$) были рандомизированы в 3 группы: 1-я группа ($n = 40$) – профилактика с помощью «Колетекс-гель-ДНК»; 2-я группа ($n = 40$) – профилактика с помощью «Колетекс-гель с бетулином» (содержание альгината натрия $70,0 \pm 0,7$ мг/г, бетулинсодержащего экстракта бересты $10,0 \pm 0,1$ мг/г); 3-я группа ($n = 40$) – профилактика с использованием пантенола и димексида. Гели «Колетекс» наносили 3 раза в день, один из которых непосредственно после сеанса облучения, один утром и перед сном. Гели использовали, начиная с первого сеанса облучения, и продолжали в течение 2 нед после лучевой терапии.

Результаты. За счет использования гидрогеля с бетулином и деринатом число радиоэпителиитов I степени регистрировалось достоверно реже, чем в группе контроля ($p < 0,05$). При сравнении 2 исследуемых групп значимых различий в их эффективности не выявлено ($p > 0,05$). Однако следует отметить, что при выявлении эпителиитов II степени наилучшие результаты получены в группе с бетулином по сравнению с группой контроля ($p = 0,055$), имеется тенденция, однако статистическая значимость не получена.

Заключение. Гидрогелевый материал «Колегель» с деринатом и бетулином можно и целесообразно применять как элемент сопровождающей терапии при проведении лучевого лечения больных РМЖ, а также в течение 2–4 нед после завершения специальной терапии для профилактики лучевых реакций кожи у больных РМЖ.

О.Н. Метелкина^{1,2}, И.В. Салтыкова¹, Г.Э. Павловская³, Э.Ю. Ямансаров¹, Е.К. Белоглазкина¹, А.Г. Мажуга^{1,2,4}

ЛИГАНДЫ АСИАЛОГЛИКОПРОТЕИНОВОГО РЕЦЕПТОРА, СОДЕРЖАЩИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ДОФАМИНА ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²НИТУ «МИСиС», Москва, Россия;

³Университет Ноттингема, Ноттингем, Великобритания;

⁴РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. Гепатоклеточная карцинома является 3-й по распространенности причиной смерти от рака в мире.

Разработанная нами система адресной доставки противоопухолевых препаратов на основе наночастиц (НЧ) магнетита позволит не только адресно доставлять препарат для лечения заболевания, но и контролировать протекание болезни методом магнитно-резонансной томографии (МРТ). В качестве лекарства был выбран препарат гемцитабин, в данный момент активно применяемый в клинике для лечения гепатоклеточной карциномы.

Цель исследования. Разработка, синтез и исследования *in vitro* наночастиц магнетита для адресной доставки гемцитабина к клеткам гепатоклеточной карциномы. В качестве адресного лиганда был выбран N-ацетилгалактозамин (GalNAc), обладающий высокой афинностью к асиалогликопротеиновому рецептору (ASGP-r), расположенному на поверхности гепатоцитов.

Материалы и методы. Все полученные соединения на основе производных GalNAc были охарактеризованы с помощью комплекса физико-химических методов (ЯМР, масс-спектрометрия высокого разрешения, LCMS). Модифицированные лигандами наночастицы магнетита исследовались методами ПЭМ, термогравиметрии, РФА и ИК-спектроскопии). Для полученных образцов были измерены времена продольной и поперечной релаксации в водном растворе, в агарозном геле, а также в клетках в агарозном геле. Биологическая активность синтезированных наноматериалов была определена в стандартном МТТ-тесте на цитотоксичность на клеточной линии HepG2.

Результаты. В данной работе были синтезированы частицы, ковалентно модифицированные N-ацетилгалактозамин, являющимся вектором к ASGP-рецептору. Для исследования взаимодействия наночастиц с гепатоцитами были разработаны 2 методики синтеза с использованием гидрофильного и гидрофобного линкера, связывающего GalNAc с нитродофамином. Нитродофамин в составе молекулы обеспечил ковалентное связывание органической молекулы с поверхностью оксида железа (II, III). В результате измерений скорости релаксации протонов воды в присутствии модифицированных наночастиц показана возможность использования данных наноматериалов как T2-контрастных агентов для МРТ.

Заключение. В рамках данной работы были получены биосовместимые наночастицы магнетита для тераностики гепатоклеточной карциномы, было произведено их биотестирование, исследование свойств наночастиц как контрастных агентов для МРТ. Наличие специфического лиганда обеспечило накопление контрастного агента в гепатоцитах и увеличило МРТ-контраст опухоли.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 17-14-01316.

В.А. Мисюрин¹, А.Е. Мисюрина², Д.В. Калениченко³, А.А. Рудакова¹, В.В. Тихонова¹, Ю.П. Финашутина¹, Н.А. Лыжко¹, О.В. Солопова¹, Е.Н. Мисюрина⁴, М.А. Барышникова¹, А.В. Мисюрин¹

ЭКСПРЕССИЯ РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНОГО ГЕНА *PRAME* В КОНТЕКСТЕ ИММУНОФЕНОТИПА ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО МГАВМиБи – МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия;

⁴ГКБ № 52, Москва, Россия

Введение. Взаимосвязь уровня экспрессии раково-эмбрионального гена *PRAME* с различными особенностями иммунофенотипа лейкозных клеток неизвестна. Не разрешен вопрос и о причинах экспрессии *PRAME* у данных больных. Активаторами экспрессии могут быть факторы *PHF8* и *NFkB2*, так как в промоторе *PRAME* находятся сайты связывания данных транскрипционных факторов.

Цель работы. Сопоставить экспрессию гена *PRAME* с иммунофенотипическими характеристиками острых лейкозов и активностью генов *PHF8* и *NFkB2*.

Материалы и методы. В исследование был включен 41 первичный больной острым миелоидным лейкозом (соотношение мужчин и женщин 20 : 21, медиана возраста 56 лет (39–67)). Из бластных клеток была выделена мРНК для оценки уровня экспрессии генов *PRAME*, *PHF8* и *NFkB2*. Для исследования связи экспрессии гена *PRAME* с активностью поверхностных маркеров бластных клеток и генов *PHF8* и *NFkB2* применялся регрессионный анализ.

Результаты. Метод пошаговой селекции установил признаки, с которыми уровень экспрессии *PRAME* имел наибольшую связь. Высокий уровень экспрессии *PRAME* связан с меньшим количеством бластных клеток ($p = 0,0021$), меньшим уровнем экспрессии *CD5* ($p = 0,0001$) и *CD13* ($p = 0,0122$) и большим уровнем экспрессии *CD117* ($p = 0,029$) и *CD33* ($p = 0,0048$). Уровень экспрессии *CD56*, *CD2*, *CD11c* и *CD19* имел тенденцию к большим значениям в случае экспрессии *PRAME* ($p > 0,05$ для всех факторов). Активность *PRAME* была связана с меньшим количеством бластных клеток ($p = 0,0006$). Уровень экспрессии *NFkB2* прямо коррелировал с уровнем экспрессии *PRAME* ($p = 0,0369$). Уровень экспрессии *PHF8* был незначимо увеличен у *PRAME*-экспрессирующих больных ($p = 0,27$).

Заключение. Установлено, что активность *PRAME* у больных не зависела от степени зрелости лейкозных клеток. У *PRAME*-экспрессирующих больных наблюдалось меньшее количество лейкозных клеток. Это может объяснить прогностически благоприятное влияние *PRAME* при остром миелоидном лейкозе. Корреляция экспрессии *NFkB2* и *PRAME* подтвердила предположение о том, что активность сигнального пути *NFkB* может быть причиной экспрессии *PRAME* у больных острыми миелоидными лейкозами.

П.А. Михина¹, П.А. Тараканов^{2,3}, В.Е. Пушкарев³,
И.О. Балашова³, Д.В. Мищенко^{2,4}

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФОТОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФТАЛОЦИАНИНОВЫХ АНАЛОГОВ

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область,
Россия;

³ФГБУН ИФАВ РАН, Черноголовка, Московская область,
Россия;

⁴НОЦ «Медицинская химия» МГОУ, Черноголовка, Московская
область, Россия

Введение. Фотодинамическая терапия является быстро развивающимся методом лечения злокачественных новообразований. В настоящее время остро стоит вопрос создания нового поколения фотосенсибилизаторов (ФС), позволяющих расширить области применения данного метода и увеличить его эффективность.

Цель исследования. Сравнительное изучение свойств новых структурных аналогов фталоцианина (Pc) для оценки их перспективности в создании новых ФС.

Материалы и методы. Для изучения фотофизических и фотохимических свойств использовали 2 типа Pc подобных структур: 1) диада, в состав которой входят 2 хромофора – метилфеофорбид и свободный Pc; 2) гетероциклический аналог Pc A₃B типа, содержащий 1,4-дiazепиновый гетероцикл с гидрофильными заместителями. Квантовый выход флуоресценции и генерации синглетного кислорода определяли методом сравнения со стандартом, используя PcZn в качестве стандарта. Флуоресценция и электронные спектры поглощения (ЭСП) регистрировались на спектрофотометрах Varian Cary Eclipse и Agilent Cary 60. Облучение растворов ФС с 1,3-дифенилизобензофураном проводили в нормальных условиях с доступом кислорода на лазерной установке АЛХТ-Эломед.

Результаты. Изучение ЭСП показало, что все новые производные Pc обладают интенсивным поглощением в области 700–710 нм. Изучение диады выявило доминирующее влияние Pc остова на фотофизические и фотохимические свойства. В случае гетероциклического аналога A₃B типа влияние 1,4-дiazепинового гетероцикла сказалось на существенном увеличении теплового пути релаксации возбужденного состояния ФС. Изученные ФС демонстрируют значительное отличие от PcZn в фотохимической и фотофизической активности, что может свидетельствовать о перспективности выбранных путей изменения структуры Pc с целью управления его свойствами. Данные ФС могут найти применение в диагностике и терапии новообразований.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ
(грант № 17-73-10413).*

*Исследования диады выполнены в рамках госзадания
(тема 45.5 «Создание соединений
с заданными физико-химическими свойствами»).*

Д.В. Мищенко^{1,2}, М.Е. Неганова³, Т.Е. Сашенкова¹,
У.Ю. Алаярлова¹, М.В. Макаров⁴

УСИЛЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЕСТНЫХ ЦИТОСТАТИКОВ НОВЫМ ХИМИЧЕСКИМ СОЕДИНЕНИЕМ ИЗ КЛАССА БИСФОСФОНАТОВ

¹ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область,
Россия;

²НОЦ «Медицинская химия» МГОУ, Черноголовка,
Московская область, Россия;

³ФГБУН ИФАВ РАН, Черноголовка, Московская область,
Россия;

⁴ФГБУН ИНЭОС РАН, Москва, Россия

Введение. Поиск новых хемосенсибилизаторов, способных усиливать противоопухолевую и антиметастатическую активность известных цитостатиков, является наиболее актуальной задачей для экспериментальной и клинической онкологии.

Цель исследования. Изучение влияния нового химического соединения из класса бисфосфонатов – МАК-166 на противоопухолевую и антиметастатическую активности известных цитостатиков – циклофосфана и цисплатина на примере опухолей лимфолейкоза P-388 и меланомы В-16, метастазирующей в легкие.

Материалы и методы. Исследования проводились на мышах-гибридах линии BDF1 с массой тела 22–24 г. Определение острой токсичности проводили по стандартному методу в соответствии с ГОСТ ISO 10993-11-2011. Исследование противоопухолевой и антиметастатической активности МАК-166 проводили *in vivo* на модели экспериментальных перевиваемых опухолей лимфолейкоза P-388 и меланомы В-16. Эффективность противоопухолевой терапии оценивали по количеству выживших животных по истечении 60 сут после начала лечения и по уровню торможения роста опухоли (ТРО, %), а эффективность антиметастатической активности – по индексу ингибирования метастазирования (ИИМ, %).

Результаты. Установлено, что соединение МАК-166 относится к классу умеренно токсичных веществ (при внутрибрюшинном однократном введении ЛД₅₀ = 171 мг/кг). Выявлен выраженный хемосенсибилизирующий эффект МАК-166 в его комбинации с циклофосфаном при терапии лимфолейкоза P-388: по завершении эксперимента в живых осталось 83 % животных. Соединение МАК-166 в его комбинации с цисплатином проявляет антиметастатическую активность в терапии меланомы В-16, при этом ИИМ составляет 70 %. При комбинированном введении МАК-166 с цисплатином наблюдается тенденция к снижению роста опухоли меланомы В-16.

Заключение. Таким образом, МАК-166 может быть использован в качестве хемосенсибилизатора циклофосфана и цисплатина. При комбинации исследуемого соединения с этими традиционными противоопухолевыми цитостатиками терапевтические дозы последних могут быть значительно уменьшены, что позволит ослабить их токсические эффекты.

С.Р. Моргунова^{1,2}, А.Ю. Рыбкин¹, А.Ю. Белик¹, П.А. Михайлов³, В.С. Романова⁴, Н.С. Горячев¹, И.И. Пархоменко¹, Н.В. Филатова¹, А.А. Терентьев¹, А.И. Котельников¹

ГИБРИДНЫЕ СТРУКТУРЫ НА ОСНОВЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА И ХЛОРИНА E6 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ

¹ФГБУН ИПХФ РАН, Черногловка, Московская область, Россия;

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

³ФГБУН «ИНХС им. А.В. Топчиева РАН», Москва, Россия;

⁴ФГБУН ИНЭОС РАН, Москва, Россия

Введение. В последние годы предпринимаются активные попытки создания фотодинамических препаратов на основе производных фуллеренов. Данный интерес обусловлен тем, что при возбуждении светом фуллерен благодаря своей уникальной сферической структуре переходит в триплетное состояние с квантовым выходом, близким к единице. Также известно, что его производные являются амфифильными соединениями, обладают выраженными мембранотропными свойствами, способны накапливаться в опухолях и селективно ингибировать ключевые ферменты. Однако нативный фуллерен малоприменим для фотодинамической терапии вследствие его слабого поглощения в красной области спектра. Решить данную проблему можно путем объединения фуллерена с красителем в одну гибридную структуру.

Цель исследования. Отработка методов создания фотосенсибилизаторов на основе аминокислотных производных фуллерена и красителя хлорина е₆, оценка фотофизических свойств и фотодинамической активности полученных гибридных структур.

Материалы и методы. Используемый нами подход состоит в присоединении к фуллерену 2 различных аддендов: один из них, аминокислота, придает фуллерену растворимость в воде, а второй – дополнительные биологические свойства, в том числе антиоксидантные и фотодинамические. На основе использования патента № RU02462473 С2 в ИНЭОС РАН совместно с ИПХФ РАН были созданы 2 гибридные структуры аланин–фуллерен–хлорин и пролин–фуллерен–хлорин. Для данных структур была проведена оценка их фотофизических свойств и фотохимической активности по генерации синглетного кислорода и супероксид анион-радикала в модельных системах.

Результаты и заключение. Для обеих структур был обнаружен значительный сдвиг максимума поглощения в красную область по сравнению со спектром исходного хлорина, что говорит об образовании комплекса с переносом заряда. Показано, что флуоресценция хлорина в гибридных структурах потушена более чем в 35 раз по сравнению со свободным красителем. Обнаружено, что фотохимическая активность данных структур примерно в 2–5 раз превышает активность свободного хлорина. Таким образом, полученные данные говорят о перспективности создания структур фуллерен–хлорин-подобного типа как потенциальных фотосенсибилизаторов. Кроме того, используемая методика синтеза позволяет присоединить к аминокислотам различные таргетные векторы (полипептид, гиалуроновую или фолиевую кислоты) для уве-

личения избирательности накопления подобных структур в опухолях, что позволит создать на их основе фотодинамические препараты таргетного действия.

Исследования поддержаны гос. заданием ФАНО (№ гос. регистрации 01201361875).

Н.Б. Морозова¹, А.А. Панкратов¹, В.Н. Негримовский¹, О.А. Южакова², Е.А. Лукьянец², Р.И. Якубовская¹, В.И. Чиссов¹, А.Д. Каприн¹

ИЗУЧЕНИЕ ФОТОИНДУЦИРОВАННОЙ АКТИВНОСТИ, БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ И БЕЗОПАСНОСТИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА НА ОСНОВЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНО ЗАРЯЖЕННОГО ФТАЛОЦИАНИНА ЦИНКА В СОСТАВЕ ГЕЛЯ

¹МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГУП ГНЦ НИОПИК, Москва, Россия

Цель исследования. Изучение фотоактивности, флуоресцентных свойств и безопасности аппликационной формы фотосенсибилизатора (ФС) холосенс – октакис(N-(2-гидроксиэтил)-N,N-диметиламмониеметил)фталоцианин цинка октахлоорида.

Материалы и методы. Ранее была показана высокая фотоиндуцированная противоопухолевая и антимикробная активность холосенса, однако зафиксирована его длительная циркуляция в коже млекопитающих при внутривенном введении. Для снижения возможных побочных эффектов разработана лекарственная форма для местного применения – водный гель на основе полимера гидроксиэтилцеллюлозы с различным содержанием активного вещества (холосенс, $\lambda_{\text{max}} = 682$ нм): 1 % – для противоопухолевой фотодинамической терапии (ФДТ) и 0,01 % – для антимикробной ФДТ. Эффективность ФДТ оценивали у мышей: с подкожной опухолью LLC ($V = 100$ мм³) и с неинфицированными ранами ($S = 50$ мм²) при местном нанесении на поверхность ($S = 80–90$ мм²) 0,05 мл геля с 1 и 0,01 % содержанием холосенса соответственно. Облучение проводили светодиодным источником с $\lambda = 685 \pm 20$ нм (плотность энергии 90 Дж/см² и 7,5–22,5 Дж/см² соответственно). Оптимальное время аппликации геля на поверхность опухоли или раны – 2 ч. Биораспределение холосенс-геля оценивали методом локальной флуоресцентной спектроскопии по нормированной флуоресценции (ФН) у мышей после нанесения на опухоль или рану. Изучение общетоксических свойств геля проводили на интактных мышках, крысах и морских свинках. Исследовали его кожную токсичность, местно-раздражающее действие, хроническую токсичность и алергизирующее действие с использованием общепринятых методов.

Результаты. Гель с 1,0 % содержанием холосенса при наружном применении неравномерно распределялся в опухолевой ткани LLC и проникал на глубину около 1 мм. Однако противоопухолевая эффективность ФДТ с холосенс-гелем у мышей достигала 70 % в течение 13 сут наблюдения. Фотодинамическое воздействие на неинфицированные раны мышей после нанесения 0,01 % холосенс-геля не влияло на сроки их заживления и не приводило к развитию в ранах спонтанных инфекций даже при использовании

минимальной плотности подводимой энергии 7,5 Дж/см². Изучение биораспределения геля после его местного применения на опухоль или поверхность раны показало, что холосенс в значительном количестве локализовался непосредственно в области его нанесения $\Phi\text{H} = 32,4 \pm 5,1$ усл. ед. (опухоль) и $\Phi\text{H} = 30,6 \pm 4,7$ усл. ед. (рана). В кровотоке, висцеральных органах, удаленных тканях ΦC не регистрировался независимо от использованной концентрации активного вещества в составе геля. При изучении общетоксических свойств установлено, что использование ΦC в составе геля не приводило к развитию в области аппликации патологических местно-тканевых реакций, не оказывало токсического действия на периферическую кровь, печень, почки, органы желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы. холосенс-гель обладал низкой и непродолжительной кожной фототоксичностью.

Заключение. Разработанная лекарственная форма холосенс-гель с содержанием активного вещества 1 и 0,01 % может эффективно использоваться для ФДТ поверхностных опухолей и антимикробной ФДТ инфицированных, долго не заживающих ран.

Я.Г. Муразов, А.А. Кужанов, В.Г. Беспалов

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ХИМИОПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОМПЛЕКСА ПОЛИПРЕНОЛОВ ИЗ ХВОИ *PICEA ABIES (L.)* НА МОДЕЛИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Перспективным направлением профилактики рака предстательной железы (РПЖ) и предопухолевых изменений простаты является химиопрофилактика с использованием малотоксичных средств природного (растительного) происхождения.

Цель исследования. Оценить антиканцерогенные эффекты комплекса полипренолов (КП) высокой степени очистки из хвои ели *Picea abies (L.)* на модели канцерогенеза предстательной железы (ПЖ) у грызунов.

Материалы и методы. Эксперимент был проведен на 82 половозрелых крысах-самцах Wistar. Индукция канцерогенеза ПЖ проводилась с использованием собственной модификации комбинированной модели с сочетанным введением канцерогена N-метил-N-нитрозомочевини и пролонгированного препарата тестостерона, которому предшествовала хирургическая кастрация животных. Было сформировано 3 группы животных: опытная группа ($n = 32$) – животные с экспериментальной патологией получали КП, разведенный в растительном масле; отрицательный контроль ($n = 38$) – животные с патологией получали растительное масло; интактный контроль ($n = 12$) – животные не получали никаких воздействий. Длительность эксперимента составила 56 нед. По окончании эксперимента, а также у забитых в терминальном состоянии животных ПЖ и семенные пузырьки подвергались гистологической обработке с последующим анализом серийных срезов всех отделов ПЖ.

Результаты. В интактном контроле предраковых изменений и РПЖ не обнаружено. По сравнению с группой

негативного контроля, КП достоверно уменьшал общую частоту простатической интраэпителиальной неоплазии (ПИН) на 31,7 %, множественность ПИН – на 48,4 %, частоту ПИН в дорсолатеральном отделе ПЖ – на 29,2 %, частоту ПИН в вентральном отделе ПЖ – на 26,4 %; КП также достоверно уменьшал общую частоту РПЖ на 30,2 %, множественность РПЖ на крысу из группы – на 63,4 %, множественность РПЖ на крысу-опухоленосителя РПЖ – на 30,6 %, частоту РПЖ в дорсолатеральном отделе предстательной железы – на 34,7 %. Установлена также тенденция к снижению частоты метастатического РПЖ на 11,7 % в группе с введением КП.

Заключение. Перспективно дальнейшее изучение КП в клинических исследованиях по профилактике РПЖ у мужчин с повышенным риском развития данной онкопатологии.

Г.Я. Надысев^{1,2}, А.С. Тихомиров^{1,2}, Л.Г. Деженкова¹, Д.Н. Калюжный³, А.Е. Шекотихин^{1,2,3}

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ГЕЛИОМИЦИНА, ИНГИБИРУЮЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЙ РОСТ

¹ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия;

²РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия;

³ФГБУН «ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва, Россия

Введение. Гелиомицин в тестах *in vitro* способен блокировать пролиферацию опухолевых клеток, а также обладает антибактериальной и противовирусной активностью.

Цель исследования. Синтез новых производных гелиомицина, изучение их антипролиферативных свойств, связи структура–активность, а также механизма ингибирования этими соединениями опухолевого роста.

Материалы и методы. Аминометилированием по методу Манниха получены новые производные гелиомицина, и проведен скрининг их биологических свойств. Исследования антипролиферативной активности соединений проводились на клетках L1210 (лейкемия мыши), НСТ-116 (аденокарцинома кишечника) и ее резистентной сублинии НСТ-116-p53ko, K562 (хроническая миелогенная лейкемия) и ее сублинии K562/4, а также НМЕС-1 (дермальные эндотелиальные клетки). Определение IC_{50} осуществлялось с помощью МТТ-теста. Исследование связывания новых производных с ДНК выполнено спектрофотометрическим методом.

Результаты. Результаты исследований антипролиферативной активности производных гелиомицина показали, что они ингибируют пролиферацию опухолевых клеток в интервале от низких субмикромольных до микромольных концентраций, а большинство из них оказались способны преодолевать 2 различных механизма лекарственной резистентности опухолевых клеток. Так, производные гелиомицина инициируют апоптоз опухолевых клеток, экспрессирующих Р-гликопротеин (сублиния K562/4), а также с делецией гена *p53* (сублиния НСТ-116-p53KO). Изменения в спектрах поглощения ДНК при титровании производным LСТА-2544 указывают на его способность связываться с дуплексом.

Заключение. Введение 4-аминометильной группы в структуру гелиомицина улучшает растворимость

полученных производных в водных средах. Кроме того, аминотетильный заместитель с дополнительной аминоруппой существенно увеличивает аффинность производного гелиомицина к дуплексу ДНК.

О.Е. Насакин, В.В. Давыдова, М.А. Марьясов, Е.С. Илларионова, А.В. Еремкин, В.П. Шевердов, П.И. Федоров
НОВАЯ ФАРМАКОФОРНАЯ ГРУППИРОВКА В СИНТЕЗЕ ЛЕКАРСТВ-ЦИТОСТАТИКОВ
 ФГБОУ ВО ЧГУ им. И.Н. Ульянова, Чебоксары, Республика Чувашия, Россия

Введение. Известно, что каждый 3-й мужчина и каждая 4-я женщина из живущих на Земле в течение жизни заболеют раком (так, только в 2017 г. >17 млн заболели и 8 млн человек умерли). В связи с этим проблема этих заболеваний – вопрос выживания человечества в целом на планете.

Цель исследования. Существующие на сегодня лекарства имеют различные фармакофорные группы, треть из них алкилирующие. Их объединяет то, что они чрезвычайно токсичны, многие канцеро- и тератогенны. Мы предлагаем аналоги природных соединений, содержащих цианогруппы (их синтезируют более 3000 растений), – цианогенные гликозиды. Целью нашего исследования является создание цианоалкилаторов.

Материалы и методы. В качестве цианирующего агента наиболее удобным является хорошо изученный нами тетрацианоэтилен (ТЦЭ). Испытания цитостатической активности проводили в Национальном институте онкологии (NCI) (штат Мэриленд, США) на 66 чистых линиях клеток рака.

Результаты. ТЦЭ легко и быстро взаимодействует с разнообразными органическими соединениями и часто с высокими и количественными выходами позволяет получать полицианоорганические (часто с тетрацианоэтиленом) соединения. Таким образом, нами впервые получены цианосубстанции – аналоги природных: трициановинильные производные замещенных *p*-ментан-8-олов и *o*-цименолов, 3-((*R*-гидразогидразоно)метил)циклобутан-1,1,2,2-тетракарбонитрилы, 3((2*R*-гидразоно)метил)-6-метилциклогес-4-ен-1,1,2,2-тетракарбонитрилы, 1,1,2,2-тетрацианоциклопентаны, 1,3,5-триарил-2,4-диазапентан-1,4-диены, трицианобициклоимины, цианопираны и цианотетрагидропиридины. Испытания антипролиферативной активности соединений в концентрации 10^{-5} моль по программе One-Dose Screen проведены на клетках, полученных из опухолей легких, толстой кишки, мозга, яичников, почек, предстательной железы, молочной железы, а также лейкемии и меланомы человека. Среднее значение ингибирования данных линий составляет 88,4 %, максимальное – 95,4 % (SR).

Заключение. Полицианоорганические фрагменты в органических молекулах являются принципиально новыми фармакофорами в химии лекарств-цитостатиков.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-13-10029.

О.Е. Насакин, В.В. Давыдова, М.А. Марьясов, Е.С. Илларионова, А.В. Еремкин, В.П. Шевердов, П.И. Федоров
НАНОТРУБКИ И НАНОАЛМАЗЫ – ПЕРЕНОСЧИКИ ЦИАНООРГАНИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ
 ФГБОУ ВО ЧГУ им. И.Н. Ульянова, Чебоксары, Республика Чувашия, Россия

Введение. Наша группа в Чувашском государственном университете занимается созданием принципиально новых противоопухолевых препаратов алкилирующего действия – цианоалкилирующих соединений. Существующие алкилаторы разрушают ДНК и здоровых клеток, угнетают работу ряда органов человека. Прототипами создаваемых препаратов являются цианоалкилирующие соединения.

Цель исследования. Создание цианосодержащих (полицианосодержащих) субстанций, иммобилизованных на углеродных нанотрубках (НТ) и наноалмазах (НА) с целью снижения нагрузки.

Материалы и методы. В качестве цианирующего агента наиболее удобным является хорошо изученный нами тетрацианоэтилен (ТЦЭ). В качестве наноносителей использовали коммерчески доступные НТ и НА. Испытания цитостатической активности проводили в Национальном институте онкологии (NCI) (штат Мэриленд, США) на 66 чистых линиях клеток рака.

Результаты. Углеродные наноструктуры (УН) НТ и НА являются одними из основных претендентов на роль «идеальных» носителей для систем доставки лекарственных веществ (ЛВ), биологически активных веществ (БАВ), так как их поверхность можно направленно функционализировать для ковалентной или адсорбционной иммобилизации БАВ и ЛВ. Они могут пассивно проникать через мембраны различных типов клеток. Закрепление препаратов составляет 6–10 % от массы носителей. Испытания на чистых линиях клеток опухолей проводили в NCI (США), некоторых образцов – в НОЦ фармацевтики Казанского федерального университета. Были испытаны следующие субстанции: замещенные 1,1,2,2-тетрацианоциклобутаны, 1,1,2,2-тетрацианоциклогексены, 1,1,2,2-тетрацианоциклопентаны, 1,3,5-триарил-2,4-диазапентан-1,4-диены, трицианобициклоимины, цианопираны и цианотетрагидропиридины, трициановиниловые эфиры природных спиртов. Результаты испытаний показывают, что при иммобилизации 5–8 % на поверхности УН (снижение концентрации действующих веществ в 20 раз) активность субстанций увеличивается в 3 раза.

Заключение. Закрепление субстанций цитостатиков на УН – чрезвычайно перспективный прием, позволяющий снизить стоимость курсов лечения в 20 раз с пролонгированным увеличением эффективности цианоорганических субстанций.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-13-10029.

М.Е. Неганова, А.В. Семаков, Е.Ф. Шевцова, С.Г. Клочков
СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АНАЛОГОВ ПРИРОДНЫХ АЛАНТОЛАКТОНОВ С ТРАНСФОРМИРОВАННЫМ УГЛЕРОДНЫМ СКЕЛЕТОМ С ЦЕЛЬЮ ПОИСКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ
ФГБУН ИФАВ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия

Введение. По данным ВОЗ, с каждым годом увеличивается смертность от онкологических заболеваний. Сложность подбора способов адекватного лечения в данном случае определяется большим разнообразием патогенеза и этиологии опухолей, их развитием и симптоматикой. Поэтому в настоящее время поиск новых эффективных лекарственных препаратов для фармакологической коррекции онкологических заболеваний остается особо актуальной проблемой. Окислительный стресс и активация перекисного окисления играют важную роль в механизме элиминации опухолевых клеток, инициируя их гибель по механизму апоптоза. Для сесквитерпеновых лактонов характерен широкий спектр биологической активности, в том числе способность модулировать окислительно-восстановительные процессы в клетке.

Цель исследования. Синтез и изучение биологической активности аналогов природных алантолактонов с трансформированным углеродным скелетом, включая исследование влияния тестируемых соединений на процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) гомогената мозга крыс, с целью поиска потенциальных противоопухолевых агентов с проапоптотическим механизмом действия.

Материалы и методы. В качестве исходных сесквитерпеновых лактонов для синтеза их аналогов использовали аланто- и изоалантолактоны, выделенные из растения девясила высокий (*Inula helenium L.*). Применяли методы кислотной изомеризации, перелактонизации, введения новых функциональных групп. Для приготовления гомогената мозга крыс в биологических экспериментах использовали самцов нелинейных беспородных крыс с массой тела 200–220 г. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с решениями комиссии по биоэтике ИФАВ РАН. Работа выполнялась на оборудовании Центра коллективного пользования ИФАВ РАН. Для оценки действия исследуемых веществ на ПОЛ гомогената мозга крыс, спонтанное и инициируемое ионами Fe (II), был применен модифицированный вариант ТБК-теста в плащечном формате. Измерения оптической плотности проводили на плащечном ридере Victor 3 (Perkin Elmer, Германия) при 540 нм.

Результаты. В ходе данной работы был синтезирован ряд аналогов природных алантолактонов с трансформированным углеродным скелетом (>30 соединений), включая соединения с диеноновой системой, перегруппированные эремофиланолиды и другие. При изучении влияния тестируемых соединений на ПОЛ гомогената мозга крыс, инициируемое ионами Fe (II), было показано, что лактоны SL-1, SL-7, SL-33 и SL-56a проявляют прооксидантный эффект, стимулируя ПОЛ более чем на 20 % относительно контроля. Схожая картина наблюдалась и при спонтанном ПОЛ. Активация окислительных процессов может рассматриваться как один

из механизмов цитотоксического действия эффективных онколитиков.

Заключение. Таким образом, исследованные сесквитерпеновые лактоны, проявляющие прооксидантную, проапоптотическую активность, могут быть использованы в качестве основы для создания потенциальных противоопухолевых препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-73-10461.

М.В. Нехорошев, Р.Г. Геворгиз, С.Н. Железнова
СПИРУЛИНА – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ
ФГБУН ИМБИ, Севастополь, Крым, Россия

Введение. Спирулина – один из самых распространенных объектов современной альготехнологии. Ежегодно в различных странах мира получают урожай спирулины, исчисляемый тоннами. Особый интерес биомасса спирулины представляет как источник ряда биологически активных соединений. Так, показано, что при ежедневном употреблении 1 г сухой спирулины в течение 12 мес у больных раком гортани наблюдалась 45 % регрессия опухоли. Высокий терапевтический эффект, вероятно, связан с наличием таких соединений, как фикобилипротеины и каротиноиды.

Цель исследования. Разработка технологии получения порошка с высоким содержанием фикобилипротеинов, а также комплекса каротиноидов, состоящего из миксоксантофилла и осцилоксантина.

Материалы и методы. Цианобактерии *Arthrospira (Spirulina) platensis* культивировали в интенсивном квазинепрерывном режиме на питательной среде Заррука. Спирулину выращивали в фотобиореакторе типа «бассейн», глубина суспензии 10–12 см, рабочий объем суспензии 550 л. Источник освещения – лампы ДРЛ700, которые на поверхности суспензии давали 7 клк (28 Вт/м²). Для извлечения фикобилипротеинов использовали метод горячей экстракции. Для получения комплекса каротиноидов липидный экстракт разбавляли водой и выдерживали 3 сут при $t = 5^\circ\text{C}$. После образования комплекса каротиноидов на границе фаз полученный комплекс фильтровали и промывали хлороформом. Каротиноиды идентифицировали методами HPLC, NMR и масс-спектрометрии.

Результаты. По результатам наших экспериментов была получена биомасса спирулины с 15 % содержанием фикобилипротеинов. При извлечении фикобилипротеинов был получен порошок синего цвета, содержащий 18 % С-фикоцианина. Выделенный нами каротиноидный комплекс состоял только из миксоксантофилла, осцилоксантина и белка. В комплексе миксоксантофилл и осцилоксантин находятся в соотношении 7 : 3. По данным японских исследователей, из 55 видов природных каротиноидов миксоксантофилл и осцилоксантин входят в лидирующую группу каротиноидов с высокой цитотоксичностью по отношению к клеткам Raji.

Заключение. Разработанные нами методы позволяют в промышленных масштабах на базе существующих предприятий по производству спирулины получать продукты с высоким содержанием соединений, обладающих

противоопухолевым действием: фикоцианин и комплекс миксоксантофилла и осцилоксантина.

*Л. Н. Николаевич¹, И. В. Руденкова¹, В. А. Гайдукевич²,
В. А. Книжников²*

**ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ
ЦИКЛОДИПЕПТИДА PRO–PHE
НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ
КЛОНОГЕННЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК *IN VITRO***

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь;
²ИФОХ НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Введение. Клоногенные клетки опухоли обладают неограниченной пролиферативной способностью и высокой степенью выживаемости, за счет чего возможно повторное развитие опухоли. Поэтому исследование ответа клоногенных клеток на противоопухолевые препараты является перспективным направлением в поиске новых способов лечения онкологических заболеваний.

Цель исследования. Изучение цитотоксического действия циклодипептида Pro–Phe на клоногенные опухолевые клетки *in vitro*.

Материалы и методы. Исследования выполнены на клеточных линиях С6 (глиома крысы), HeLa (карцинома шейки матки человека), K562 (хроническая миелоидная лейкемия) и диплоидных клетках FL (амнион человека). Изучены цитотоксические эффекты цикло Pro–Phe в дозах 5, 50, 500, 1000, 5000 мкг методом МТТ-теста. Ингибирующую активность субстанции циклодипептида Pro–Phe проверяли на экспериментальной модели опухолевых и диплоидных клеток перевиваемых линий С6 и FL в дозах 50, 500, 5000 мкг/мл, а также на клоногенных опухолевых клетках С6к/к и FLк/к в аналогичных дозах. Цикло-Pro–Phe вводили в монослойную культуру клеток на 24 ч. После инкубации подсчитывали количество клеток в камере Горяева. Ингибирующую активность рассчитывали по формуле: $IA = (K - O) / K \times 100 \%$.

Результаты. Результаты исследований показали, что циклодипептид Pro–Phe характеризуется низкой степенью цитотоксичности. Индекс токсичности составляет 20–25 % при дозе 1000 мкг/мл. Обнаружено, что циклодипептид Pro–Phe не оказывает цитотоксического действия на диплоидные клетки амниона человека линии FL. На модели клоногенных клеток линии С6к/к показано, что цитотоксический эффект циклодипептида Pro–Phe наиболее выражен в дозе 1000 мкг/мл. Наибольшую чувствительность проявили клоногенные клетки С6к/к. Выживаемость клоногенных и неклоногенных клеток линии С6 составила 40 и 50 % соответственно.

Заключение. Результаты исследований показали, что по мере увеличения дозы цикло-Pro–Phe наблюдается подавление пролиферации опухолевых клоногенных клеток и увеличение частоты их гибели по механизму апоптоза. Модель клоногенных клеток может использоваться в качестве тест-системы *in vitro* для оценки цитотоксических, ингибирующих, антипролиферативных и апоптотических эффектов циклодипептидов на опухолевые клоногенные клетки.

С. И. Никулицкий, Е. Г. Тырсина

**ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ VEGF-R1
В КАЧЕСТВЕ МИШЕНИ
ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ**

*ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»
Минздрава России, Москва, Россия*

Введение. Преимуществом таргетной противоопухолевой терапии является избирательность токсического действия на злокачественные клетки с минимальным повреждением нормальных клеток, что предопределяет поиск новых различий между ними. Одним из кандидатов на эту роль может служить рецептор фактора роста эндотелия сосудов I типа (VEGF-R1), который присутствует в большинстве опухолевых клеток, но не представлен в нормальных. Причем, как выяснилось, активация VEGF-R1 усиливает такие проявления злокачественности, как инвазия, миграция, метастазирование и выживаемость опухолевых клеток.

Цель исследования. В свете вышеизложенного мы решили проверить следующие положения: действительно ли экспрессия VEGF-R1 характерна исключительно для опухолевых клеток; присутствует ли рецептор в клеточном ядре, что свидетельствовало бы о его функциональной активности; и, наконец, имеется ли связь между количеством VEGF-R1 и степенью агрессивности неопластических клеток. Для ответа на эти вопросы мы оценили содержание рецептора в нормальных и опухолевых клетках человека, а также при помощи разработанного нами подхода к иммунофлуоресцентной детекции белков в нативных клеточных ядрах на проточном цитометре определили уровень VEGF-R1 в ядрах клеток, различающихся по степени злокачественности.

Материалы и методы. Исследования проводили на 2 линиях опухолевых клеток – A431 (карцинома вульвы) и BRO (высококлеточная меланома). Контролем служила линия нормальных постнатальных фибробластов человека (ПФЧ). Локализацию и оценку содержания рецептора определяли при помощи иммуноцитохимического окрашивания (ИЦХ) и проточной цитофлуориметрии (FC). В ходе FC уровень VEGF-R1 в клетках и ядрах оценивали по величине ΔMFI – разности средней интенсивности флуоресценции между опытными и контрольными образцами.

Результаты. По данным иммуноцитохимического исследования VEGF-R1 визуализировался внутриклеточно и в опухолевых, и в нормальных клетках, однако интенсивность окраски в обеих злокачественных линиях была выше. Для выявления рецептора в ядре препараты перед фиксацией обрабатывали 0,05 % раствором тритона X-100, что значительно уменьшало долю цитозольного VEGF-R1. В результате было выявлено наличие рецептора в ядрах исключительно опухолевых клеток. Результаты ИЦХ были подтверждены и дополнены количественными данными FC. Эксперименты с интактными клетками показали практически полное отсутствие VEGF-R1 на цитоплазматической мембране как в опухолевых клетках A431 ($\Delta MFI = 21,4$) и BRO ($\Delta MFI = 14,4$), так и в нормальных ПФЧ ($\Delta MFI = 15,8$). В пермеабелизованных клетках рецептор регистрировали во всех 3 линиях, но в нормальных внутриклеточное

содержание VEGF-R1 оказалось в среднем в 3 раза ниже, чем в клетках обеих опухолевых линий (BRO – Δ MFI = 425; A431 – Δ MFI = 302; ПФЧ – Δ MFI = 123). Далее на проточном цитометре при помощи разработанной нами методики экстракции интактных ядер был измерен уровень ядерного VEGF-R1. Полученные данные свидетельствовали о высоком ядерном содержании рецептора в опухолевых клетках и практически полном его отсутствии в ядрах нормальных (ПФЧ – Δ MFI = 12,7). Причем было отмечено, что в наиболее злокачественных клетках BRO количество ядерного VEGF-R1 оказалось выше такового для A431 в 1,75 раза (BRO – Δ MFI = 300; A431 – Δ MFI = 172).

Заключение. Доказана внутриклеточная, но не поверхностная локализация VEGF-R1, что указывает на интраклеточный механизм стимуляции рецептора и подтверждает неэффективность применения моноклональных антител для его ингибирования. Данные о наличии VEGF-R1 в ядрах исключительно опухолевых клеток и обнаруженная нами прямая связь между количеством ядерного рецептора и агрессивностью опухолевой клетки позволяют рассматривать содержание VEGF-R1 в ядре в качестве нового прогностического маркера в онкологии и, главное, подтверждают справедливость его выбора в качестве новой молекулярной мишени для терапии новообразований.

*В.К. Новоторцев, В.Е. Филатов, М.Е. Кукушкин,
А.Г. Мажуга, Е.К. Белоглазкина, Н.В. Зык*

РАЗРАБОТКА НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ – ПРОИЗВОДНЫХ ДИСПИРО- И СПИРОИНДОЛИНОВ

*Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия*

Введение. В последнее время для успешной терапии раковых заболеваний требуются новые методы лечения опухолей. Одним из таких методов является применение непептидных низкомолекулярных препаратов, действующих на клеточные белки p53 и MDM2. Белок p53 является опухолевым супрессором и играет важную роль в жизненном цикле клетки – в активном состоянии он останавливает клеточный цикл и репликацию ДНК и запускает апоптоз клетки. MDM2 выполняет функцию эндогенного ингибитора p53. Низкомолекулярный ингибитор связывается с MDM2, за счет чего высвобождается белок p53, действие которого приводит к гибели клетки и разрушению опухоли. Таким образом, блокирование взаимодействия p53 и MDM2 является перспективным направлением в терапии раковых заболеваний. Так, большинство синтезируемых соединений-ингибиторов MDM2 в своей структуре содержат спироиндолиновый фрагмент, за счет которого они эффективно препятствуют взаимодействию p53 с MDM2.

Цель исследования. Оптимизация и разработка новых методов синтеза 2 структурных типов диспиро- и спироиндолинов в целях их последующего фармакологического тестирования и определения оптимальных структурных параметров данных соединений.

Материалы и методы. Были разработаны методы получения диспироиндолинов путем 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием продукта взаимодействия

изатинов с тиогидантоинами – производными 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, и азометин-илидов с образованием соединений, в структуре которых имеется жесткий каркас из 3 спиро-сочлененных гетероциклов, в основе которых лежит спироиндолиновое ядро. Также разработаны методы получения спироиндолинов по реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием (3-имино)индолин-2-онов и азометин-илидов с образованием соединений, также содержащих спироиндолиновый фрагмент и имеющих 2 спиро-сочлененных цикла. Структура получаемых соединений была подтверждена с использованием физико-химических методов, таких как ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения и рентгено-структурный анализ.

Результаты. Предложен универсальный метод синтеза исследуемых структурных типов диспиро- и спироиндолинов. На клеточных линиях LNCap, PC-3, HCT-116^(+/+) и HCT-116^(-/-) исследована цитотоксичность полученных соединений и определены предварительные соединения-лидеры. Был получен монокристалл одного из исследуемых диспироиндолинов, благодаря чему однозначно установлена структура данного соединения.

Заключение. По полученным в ходе работы результатам было установлено, что исследуемые классы спиро- и диспироиндолинов проявляют хорошую афинность к сайту связывания белков p53/MDM2, что дает возможность судить о перспективности проводимых исследований.

*Работа выполнена
при поддержке гранта РФФИ
№ 16-33-60166.*

*С.Б. Оникиенко¹, В.А. Черешнев², А.В. Земляной¹,
В.Ю. Кравцов^{1,3}, Н.В. Бычкова³, В.В. Лищенко^{1,3},
И.В. Гужова⁴, Б.А. Маргулис⁴*

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ РАКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКИХ, ЛАЗЕРНЫХ И ЯДЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

*¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,
Санкт-Петербург, Россия;*

²ИИФ УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

*³ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России,
Санкт-Петербург, Россия;*

⁴ФГБУН ИНЦ РАН, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Известно, что ингибиторы блокирующих противоопухолевый иммунный ответ PD1 и Tim-3 рецепторов Т-лимфоцитов повышают эффективность виротерапии рака. БТШ70 и пробиотик *Streptococcus salivarius* являются блокаторами PD1 и Tim-3 рецепторов. Низкомолекулярные производные бактериальных липополисахаридов (ЛПС), лазерное облучение кожи в зоне введения онколитических вирусов и лучевая терапия также повышают эффективность иммуновиротерапии рака.

Цель исследования. Разработать технологию персонализированной терапии рака на основе онколитического вируса Сендай (SeV), БТШ70, пробиотика *Streptococcus salivarius*, производных бактериальных ЛПС и радиофармпрепаратов под контролем индивидуальных показателей пациента в ходе лечения.

Материалы и методы. При отсутствии гиперэкспрессии PD1 и Tim-3⁺ рецепторов Т-лимфоцитов еженедельно внутривенно вводили СеВ в облученные ИК-лазером участки ($n = 12$). При гиперэкспрессии PD-1⁺ предварительно внутривенно вводили БТШ70 (0,05 мг/кг). При сохранении гиперэкспрессии PD1 дополнительно применяли *Streptococcus salivarius*, а при повышении экспрессии Tim-3 дополнительно вводили нетоксичные производные продигозана (0,01 мг/кг), полученные при его обработке пучком электронов (заявка на патент РФ № 2017119461). При развитии резистентности к проводимой терапии дополнительно применяли радиофармпрепараты (¹¹C-холин, ¹¹C-метионин). Критерии эффективности виротерапии – регрессия опухоли, выраженность цитопатических изменений в раковых клетках, уровень гранзима и перфорина в Т-лимфоцитах.

Результаты. Методом проточной цитометрии установлено, что введение БТШ70 опухоленосителям снижало число CD8⁺PD-1⁺ клеток в крови в 1,8–2,7 раза; CD8⁺PD-1⁺TIM-3⁺ клеток в 7,4–10,5 раза ($p < 0,05$). Методом иммуноцитохимии выявлено, что БТШ70 увеличивал количество лимфоцитов без PD1-рецепторов в опухолевом инфильтрате более чем в 3 раза, в них повышался уровень гранзима и перфорина, активировались иммунные механизмы гибели опухолевых клеток. В контрольной группе (применение СеВ без учета индивидуальных показателей пациента) частичный регресс опухоли получен у 7 из 77 пациентов. При персонализированной иммуновиротерапии частичный регресс опухоли выявлен в 32 (50,8 %) из 63 случаев. После циторедуктивного хирургического лечения рака полный ответ на персонализированную терапию получен у 7 пациентов (9 %).

Заключение. Персонализированная терапия рака на основе СеВ, БТШ70, пробиотика *Streptococcus salivarius*, производных бактериальных ЛПС и лучевых технологий с учетом динамики индивидуальных показателей пациента позволяет существенно повысить эффективность лечения.

О.Л. Орлова, М.А. Дмитриева, Л.Л. Николаева, И.Д. Гулякин, А.П. Полозкова, Н.А. Оборотова, Ю.В. Родионова

ВЫБОР РЕЖИМА ЛИОФИЛИЗАЦИИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ДИСПЕРСИИ ЦИФЕТРИЛИНА

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. В лаборатории разработки лекарственных форм создана липосомальная лекарственная форма (ЛЛФ) отечественного аналога соматостатина – цифетрилина. Хранение ЛЛФ в жидком виде сопряжено с рядом проблем, наиболее существенными из которых являются окисление и гидролиз липосомальных фосфолипидов, а также ряд физических изменений (агрегация, слияние и др.) в липосомальной дисперсии. Поэтому для повышения устойчивости в процессе хранения предложена стабилизация ЛЛФ цифетрилина посредством сублимационной сушки.

Цель исследования. Выбор оптимального режима лиофилизации ЛЛФ цифетрилина.

Материалы и методы. Сублимационная сушка Edwards Minifast DO. 2 (Ergo Electronic S. p. A., Италия), ЛЛФ цифетрилина (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России). Выбор режима сублимационной сушки ЛЛФ цифетрилина проводили на основании сравнительного анализа 2 способов лиофилизации – с «медленным» и «быстрым» замораживанием. При «медленном» замораживании использовали постепенное (ступенчатое) понижение температуры полок в камере сушки, при «быстром» – стремительное. Данные режимы лиофилизации сравнивали путем оценки качества полученных лиофилизатов по внешнему виду, регидратируемости, размеру везикул и уровню включения.

Результаты. В ходе анализа полученных данных установлено, что способ замораживания не влияет на показатели качества конечного продукта и оба режима позволяют получить равноценные образцы ЛЛФ-лио цифетрилина. По внешнему виду полученные лиофилизаты представляли собой сухую пористую массу белого цвета, которая легко регидратировалась с образованием липосомальной дисперсии белого цвета. В обоих случаях включение цифетрилина в липосомы находилось на уровне 97 %, а средний диаметр липосом составил около 170 нм. Но поскольку режим с «быстрой» стадией замораживания требует меньших затрат времени и электрической энергии, он предложен для получения лиофилизата ЛЛФ цифетрилина.

Заключение. В ходе ряда экспериментов выбран оптимальный режим лиофилизации ЛЛФ цифетрилина, позволивший получить качественный продукт «цифетрилин липосомальный, лиофилизат для приготовления дисперсии для инъекций 6 мг» и заложить его на хранение с целью проведения комплекса химико-фармацевтических исследований.

Л.А. Островская¹, Д.Б. Корман¹, А.К. Грехова¹, Н.В. Блюхтерова¹, М.М. Фомина¹, В.А. Рыкова¹, А.Н. Осипов², К.А. Абзаева³

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИАКРИЛАТА ЗОЛОТА

¹ФГБУН ИБФХ РАН, Москва, Россия;

²ФГБУН ИХФ РАН, Москва, Россия;

³ИНЦ СО РАН, Иркутск, Россия

Введение. Изучение золотосодержащих соединений в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов признано одним из весьма перспективных направлений медико-биологических исследований в области онкологии. Ранее нами была впервые обнаружена значительная противоопухолевая активность препарата полиакрилата золота (аурумакрил), относящегося к новому для онкологии классу соединений – металлополиакрилатам.

Цель исследования. Изучение ростигибирующей и цитотоксической активности аурумакрила.

Материалы и методы. Противоопухолевый эффект аурумакрила (20 мг/кг, в/б, 5-кратно) оценивался *in vivo* на моделях карциномы легких Льюис, аденокарциномы Акатол и аденокарциномы Са-755, цитотоксический эффект – *in vitro* в культуре клеток карциномы молочной железы человека MCF-7. Исследование *in vitro* включало оценку выживаемости клеток при воздействии аурумакрила

(0,001–1 мг/мл в течение 24 ч) в тесте с трипановым синим и изучение его влияния на кинетику клеточной пролиферации иммуноцитохимическим методом с использованием маркера клеточного деления – белка Ki-67. Доля апоптотических клеток оценивалась с помощью ДНК-связывающего флуоресцентного красителя YO-PRO.

Результаты. Установлено, что аурумакрил на 70–90 % ингибирует развитие солидных опухолей мышей и вызывает гибель 70 % клеток MCF-7 (1 мг/мл, инкубация 24 ч). Запуск раннего апоптоза в опухолевых клетках наблюдается через 1 ч после воздействия препарата (1 мг/мл). Кинетика пролиферации выжившей фракции опухолевых клеток под влиянием аурумакрила претерпевает значительные изменения, выражающиеся в преимущественном накоплении клеток (93 %) в фазе пролиферативного покоя G₀ и в значительном уменьшении (7 %) доли делящихся клеток, что свидетельствует об утрате клетками выжившей фракции репродуктивной способности.

Заключение. Значительная ростингибирующая активность аурумакрила на моделях солидных опухолей животных *in vivo* и высокий цитотоксический эффект препарата в отношении клеток опухоли человека *in vitro* свидетельствуют о целесообразности углубленного доклинического изучения противоопухолевых свойств и механизма действия полиакрилата золота.

*В.С. Павлов^{1,2}, А.А. Балакина², В.А. Мумятова²,
Т.А. Раевская², С.А. Гончарова², А.А. Терентьев^{1,2,3}*

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В КЛЕТКАХ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫХ ШТАММОВ ЛЕЙКОЗА P-388 МЫШЕЙ

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия;

³МГОУ, Москва, Россия

Введение. Одной из проблем в терапии онкологических заболеваний является развитие лекарственной устойчивости (ЛУ) и множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) опухолей. Механизмы возникновения ЛУ, а также подходы к ее преодолению могут быть связаны с изменением регуляции антиоксидантной системы. Изучение функционирования антиоксидантной системы (АОС) опухолевых клеток и ее роли в механизмах развития резистентности к противоопухолевым агентам – важная актуальная задача как для создания новых лекарственных препаратов, так и для подбора наиболее эффективных терапевтических режимов лечения онкологических заболеваний.

Цель исследования. Изучить активность ферментов супероксиддисмутазы и каталазы, концентрацию восстановленного глутатиона и экспрессию генов ферментов глутатионовой АОС в клетках ЛУ штаммов лейкоза P-388 мышей в норме и при действии противоопухолевых соединений.

Материалы и методы. Исследование проводилось на ряде ЛУ штаммов лейкоза P-388 мышей: P-388/руб, P-388/цф, P-388/сPt, резистентных к рубомицину, циклофосфану и цисплатину соответственно, при этом штамм P-388/руб обладал генотипом и фенотипом МЛУ. Актив-

ность супероксиддисмутазы определяли по ингибированию фотохимического восстановления нитросинего тетразолия. Метод определения активности каталазы основан на образовании формальдегида из метилового спирта в присутствии пероксида водорода с последующим окрашиванием продукта реакции красителем пурпалд. Концентрацию восстановленного глутатиона определяли, используя качественную реакцию с 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой, в результате которой образуется окрашенный в желтый цвет тионитрофенильный анион. Экспрессию генов в клетках определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I.

Результаты. Показано, что все исследованные штаммы существенно не различались по активности супероксиддисмутазы и каталазы. Введение животным с ЛУ штаммами препаратов, к которым резистентны опухолевые клетки, не вызвало значительных изменений в активности ферментов АОС. Введение животным со штаммом P-388/сPt терапевтической дозы доксорубина индуцировало снижение активности каталазы и супероксиддисмутазы по сравнению с контролем. Аналогичный результат получен на штамме P-388/руб при введении терапевтических доз циклофосфана. Выявлено, что штаммы, устойчивые к цисплатину и циклофосфану, существенно отличались от исходного штамма по содержанию восстановленного глутатиона. Показано, что концентрация восстановленного глутатиона в клетках штамма P388/цф значительно уменьшается при введении терапевтического препарата. В клетках штамма, устойчивого к циклофосфану, выявлен значительно более высокий уровень экспрессии ряда генов глутатионовой АОС по сравнению с исходным штаммом.

Заключение. Использование на ЛУ штаммах соединений, к которым выработана устойчивость, не оказывало значительного влияния на АОС клеток. Применение соединений, не являющихся индукторами ЛУ, сопровождалось снижением активности ферментов АОС. Выявленное снижение активности ферментов при действии противоопухолевых препаратов может приводить к накоплению активных форм кислорода в опухолевых клетках и окислительному стрессу. ЛУ штамма P388/цф может быть обусловлена высоким уровнем активности глутатионовой АОС в клетках.

А.А. Панов, А.Ю. Симонов, С.Н. Лавренов, А.С. Тренин
**НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ТРИИНДОЛИЛМЕТИЛИЯ
СО СНИЖЕННОЙ ТОКСИЧНОСТЬЮ**
ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия

Введение. Производные трииндолилметилия известны своей антибактериальной, противогрибковой и противоопухолевой активностью. Ранее изучавшиеся соединения отличались малой селективностью действия и высокой токсичностью.

Цель исследования. С целью изучения связи структура–активность нами были синтезированы и протестированы на биологическую активность >35 новых производных, содержащих в своей структуре малеимидный фрагмент. Среди производных малеимида имеются активные ингибиторы протеинкиназ (например, ребеккамицин), которые

используются в качестве противоопухолевых препаратов. Полученные таким образом гибридные антибиотики могут значительно отличаться от исходных соединений по биодоступности или токсичности.

Материалы и методы. Полученные соединения тестировались на токсичность в отношении здоровых клеточных линий НЕК293, а также контролировалась антибактериальная и противогрибковая активность. В настоящее время проводится изучение цитотоксичности новых соединений в отношении культур опухолевых клеток НСТ-116 и К562.

Результаты. Тестирование *in vitro* показало, что введение малеимидного фрагмента значительно снижает токсичность производных трииндолилметилиа, причем антибактериальная и противогрибковая активность снижается в меньшей степени.

Заключение. С помощью модификации структуры ранее изученных соединений, имеющих противоопухолевую активность, получена серия новых веществ, обладающих различной биологической активностью, — новых потенциальных цитотоксических препаратов.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ (проект № 16-15-10300).

Э.Р. Переверзева, В.А. Голибродо, М.И. Трещалин, А.Н. Тевяшова, И.Д. Трещалин

ИЗУЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА ОЛИВАМИД НА КРОЛИКАХ

ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия

Введение. Блокирование низкомолекулярными ингибиторами мишеней, жизненно важных для опухолевого роста, является на сегодня самым рациональным подходом к химиотерапии онкологических заболеваний. Белок Sp1 — широко известный транскрипционный фактор, влияющий на клеточный рост, дифференциацию и апоптоз, — играет критическую роль в пролиферации клеток и метастазировании различных видов опухолей. В ФГБНУ «НИИНА» разработан оригинальный противоопухолевый препарат оливаמיד — производное антибиотика группы ауреоловой кислоты, ингибитор транскрипционного фактора Sp1.

Цель исследования. Оценка токсических свойств препарата оливаמיד в хроническом эксперименте на кроликах.

Материалы и методы. В эксперименте использовано 36 кроликов породы «Советская шиншилла», самцов и самок. Для исследования в качестве суммарных доз были выбраны дозы 0,28 мг/кг (однократная МПД для кроликов) и 0,63 мг/кг (однократная ЛД₅₀ для кроликов), пересчитанные с учетом коэффициента кумуляции препарата. МПД и ЛД₅₀ для кроликов были получены путем пересчета с МПД и ЛД₅₀ для крыс с учетом коэффициента поверхности тела. Препарат в лекарственной форме вводили внутривенно ежедневно в течение 15 дней. Токсические реакции оценивали во время введения препарата и в течение 30 дней после курса. Параметры исследования: изменение массы тела, массовые коэффициенты внутренних органов, ЭКГ, клинический и биохимический анализ крови, клинический анализ мочи, патоморфологическое исследование органов и тканей.

Результаты. На всем протяжении эксперимента гибели животных не наблюдалось, отклонений в состоянии и поведении не отмечалось. Гематологические показатели у всех подопытных животных не отличались от контроля. На 1-е сутки после окончания курса введений препарата в высокой дозе и у самцов, и у самок выявлено повышение активности аспарагиновой трансминазы (АСТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ), уровня общего билирубина (Б), креатинина (К) и мочевины (М). Применение препарата в низкой дозе приводило к повышению активности АСТ, содержания М и К. У животных, получавших препарат в высокой дозе, повышенный уровень АСТ и М сохранялся до 30 сут после окончания курса введений. У животных, получавших препарат в МПД, все биохимические показатели к концу наблюдения не отличались от контроля. При исследовании мочи на 1-е сутки после окончания курса введений отмечено появление белка и уробилиногена, увеличение удельного веса. На 30-е сутки после отмены препарата у кроликов, получавших препарат в ЛД₅₀, сохранялось повышенное содержание уробилиногена. Показатели клинического анализа мочи у животных, получавших препарат в МПД, на 30-е сутки после курса не отличались от контроля. Патоморфологическое исследование показало, что при ежедневном внутривенном введении в течение 15 дней в обеих изученных дозах оливаמיד оказывает повреждающее действие на структуру печени и почек кроликов, которое выражается как в дистрофических, так и в деструктивных изменениях клеток паренхимы органов. В печени преобладают явления вакуольной дистрофии, в почках — некротические процессы. Степень выраженности патологических изменений зависит от величины примененной дозы.

Заключение. Выявленные клинико-лабораторными и патоморфологическими методами признаки гепато- и нефротоксичности зависят от величины примененной дозы препарата и являются обратимыми. Это позволяет заключить, что препарат может быть передан на дальнейшие этапы доклинического изучения.

Э.Р. Переверзева, М.И. Трещалин, А.Н. Тевяшова, В.А. Голибродо, И.Д. Трещалин

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ОЛИВАМИД В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ

ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия

Введение. Эффективность лечения злокачественных опухолей во многом зависит от развития современной фармацевтики, позволяющей использовать новые технологические подходы к созданию препаратов. В ФГБНУ «НИИНА» разработан оригинальный метод химической трансформации оливомицина и получен новый полусинтетический противоопухолевый препарат оливаמיד с улучшенными химиотерапевтическими свойствами.

Цель исследования. Изучение хронической токсичности препарата оливаמיד на крысах.

Материалы и методы. Исследование проведено на 60 крысах Wistar, самцах и самках. Препарат вводили внутривенно ежедневно в течение 15 дней с интервалом 24 ч в разовых дозах 0,037 и 0,08 мг/кг, суммарно

составляющих МПД и ЛД₅₀ соответственно. Период наблюдения – 30 сут после прекращения введений препарата. Параметры исследования: изменение массы тела, массовые коэффициенты внутренних органов, ЭКГ, клинический и биохимический анализ крови, суточный диурез и клинический анализ мочи, патоморфологическое исследование органов и тканей.

Результаты. Препарат, введенный в обеих изученных дозах, гибели животных не вызывал и не оказывал влияния на их состояние и поведение. Динамика прироста массы тела подопытных животных практически не отличалась от контроля. При гематологическом исследовании у животных всех подопытных групп на всех сроках наблюдения отличий от контроля не выявлено. На 1-е сутки после окончания курса введений препарата в высокой дозе у всех животных выявлено повышение активности аланиновой трансаминазы (АЛТ) и щелочной фосфатазы, уровня общего билирубина, креатинина (К) и мочевины (М). Применение препарата в низкой дозе приводило к повышению активности АЛТ, содержания М и К. У животных, получавших препарат в ЛД₅₀, повышенный уровень АЛТ и М сохранялся до 30 сут после курса. У животных, получавших препарат в МПД, все биохимические показатели к концу наблюдения не отличались от контроля. При исследовании мочи у самцов и самок, получавших препарат в высокой дозе, выявлено повышение уровня уробилиногена, белка и удельного веса, появление кетоновых тел. В группах крыс, получавших препарат в низкой дозе, отмечено повышение уровня белка и удельного веса мочи. На 30-е сутки после окончания курса введений препарата различий между подопытными и контрольными группами не выявлено. Патоморфологическое исследование показало, что оливамид оказывает повреждающее действие на структуру печени и почек крыс, которое выражается как в дистрофических, так и в деструктивных изменениях клеток паренхимы органов. Характер морфологических изменений не зависит от пола животных.

Заключение. Проведенные исследования показали, что лимитирующими видами токсичности препарата являются гепато- и нефротоксичность, признаки которых были выявлены как клинико-лабораторными, так и патоморфологическими методами. Зависимость глубины повреждений от величины примененной дозы и обратимость токсического действия позволяют рекомендовать препарат для дальнейших этапов доклинического изучения.

Н. П. Путиа

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОСУПРЕССИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ В ПРОЦЕССЕ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ У БОЛЬНЫХ САРКОМАМИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»

Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Хемокины представляют собой группу небольших структурно связанных белков, которые играют фундаментальную роль в развитии, гомеостазе и функционировании иммунной системы, а также оказывают влияние на клетки центральной нервной системы и эндотелиаль-

ные клетки, участвующие в ангиогенезе. Было показано, что опухольассоциированные Т-регуляторные лимфоциты (Treg) экспрессируют белки CCR4, CCR10, Neuropilin-1 (CD304) и VEGFR-2 и могут привлекаться опухолевыми клетками с помощью лигандов CCL22, VEGF-A и CCL28 на их поверхности, что способствует образованию иммунотолерантного микроокружения и развитию внутриопухолевого ангиогенеза.

Цель исследования. Изучение субпопуляции опухольассоциированных Treg, циркулирующих в периферической крови, и механизмов их мобилизации опухолью у больных саркомами мягких тканей (СМТ).

Материалы и методы. В исследование было включено 35 больных III–IV стадии СМТ, получавших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России с 2013 по 2017 г. Критерии включения: 1) возраст старше 18 лет; 2) гистологически верифицированный диагноз СМТ; 3) отсутствие острых инфекционных заболеваний, аутоиммунных заболеваний в период обострения; 4) свободный период от приема глюкокортикоидов или других иммунодепрессантов не менее 10 дней. Гистологическая верификация позволила распределить пациентов следующим образом: синовиальная саркома – 11 больных, липосаркома – 11, лейомиосаркома – 5, миксофибросаркома – 1, внескелетная хондросаркома – 2, светлоклеточная саркома – 2, веретенноклеточная саркома – 2 и фибросаркома – 1. Больные были разделены на 2 группы. В 1-й группе забор образцов периферической крови производился во время прогрессирования опухолевого процесса ($n = 29$), во 2-й группе – при стабилизации заболевания ($n = 16$). У 19 больных проведен анализ субпопуляционного состава лимфоцитов и экспрессии хемокиновых рецепторов на поверхности Treg: CCR4, CCR10, VEGFR-2 и Neuropilin-1 (CD304) при прогрессировании заболевания, у 10 больных в обоих случаях и у 6 пациентов только в период стабилизации (проточный цитофлуориметр BD FACSCanto™ II, моноклональные антитела BD Biosciences и BioLegend, США). Сравнительный анализ показателей этих 2 групп проводился с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при значении $p \leq 0,05$. Статистическая обработка данных проводилась с использованием IBM SPSS Statistics 19.0 и Microsoft Excel 2010. Кроме того, в работе использовали супернатанты клеточных культур СМТ ($n = 21$), в которых методом непрямого иммуоферментного анализа в «сэндвич»-варианте (тест-системы Bender MedSystems, Австрия, и R&D, США) определяли иммуносупрессирующий белок CCL2 из семейства класса CC-хемокинов и сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF-A. Контролем служили супернатанты культуры нормальных фибробластов кожи человека. Связь между хемокиновыми рецепторами и их лигандами (CCR4 и CCL2, VEGFR-2 и Neuropilin-1 и VEGF-A) изучали с помощью корреляционного анализа по Спирмену.

Результаты. У больных СМТ при прогрессировании заболевания в периферической крови выявлено статистически значимое увеличение содержания CCR4⁺Treg ($p \leq 0,001$), CCR10⁺Treg ($p \leq 0,001$), CD304⁺Treg ($p = 0,021$) на фоне повышения относительного числа Treg $8,90 \pm 0,92$ %

($p \leq 0,075$) и снижения абсолютного числа NK-клеток ($p \leq 0,031$). Также обнаружена прямая корреляция высокой силы между продукцией опухолевыми клетками прогрессирующих СМТ уровня VEGF-A, CCL2 и экспрессией на Treg CD304⁺ ($r = 0,93$, $p = 0,001$), VEGFR-2⁺ ($r = 0,88$, $p = 0,007$), CCR4⁺ ($r = 0,81$, $p = 0,024$), что косвенно свидетельствует об уклонении опухоли от иммунного контроля на этапе клинически регистрируемого прогрессирования заболевания.

Заключение. Определение экспрессии хемокиновых рецепторов на Treg методом проточной цитометрии у больных СМТ можно рассматривать как лабораторный тест для выявления лиц с высоким риском прогрессирования заболевания и для мониторинга эффективности лечения.

*Е.А. Плотникова¹, Н.Б. Морозова¹, В.О. Страмова¹,
А.А. Панкратов¹, П.В. Островерхов², М.А. Грин²,
Р.И. Якубовская¹*

РАЗРАБОТКА МИЦЕЛЛЯРНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА БАКТЕРИОХЛОРИНОВОГО РЯДА И ИЗУЧЕНИЕ ЕЕ СВОЙСТВ

¹ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия;

²МИТХТ, Москва, Россия

Введение. Наиболее перспективными из разрабатываемых в настоящее время фотосенсибилизаторов (ФС) являются производные бактериохлоринов, обладающие интенсивным поглощением в дальнем красном и ближнем инфракрасном диапазонах (740–850 нм). Одним из главных недостатков данных ФС является их ограниченная растворимость в водных растворах, что актуализирует поиск систем солюбилизации красителей с целью получения лекарственных форм, предназначенных для внутривенного введения.

Цель исследования. Разработка лекарственной формы, изучение биораспределения, фотоиндуцированной противоопухолевой активности и потенциального токсического действия метилового эфира *O*-пропилдоксим-*N*-пропоксикарбиопурпуринимида.

Материалы и методы. Для солюбилизации метилового эфира *O*-пропилдоксим-*N*-пропоксикарбиопурпуринимида в качестве соразтворителей использовали Kolliphor ELP, Эмуксол 268, Poloxamer 407, Pluronic 188 и оценивали растворимость, стабильность при хранении и облучении, размер полученных частиц. Изучение распределения ФС в органах и тканях, а также оценку эффективности фотодинамического действия красителя проводили на мышах F1 с подкожно привитой саркомой S37. Биораспределение метилового эфира *O*-пропилдоксим-*N*-пропоксикарбиопурпуринимида оценивали *ex vivo* методом локальной флуоресцентной спектроскопии по нормированной флуоресценции. Сеанс фотодинамической терапии (ФДТ) проводили на 6–7-й день роста опухоли S37, облучая ее светодиодным источником ($\lambda = 810 \pm 21$ нм, плотность энергии 150 Дж/см²) при варьировании дозы ФС (2,5; 5; 7,5 мг/кг) и интервала между введением и облучением (15 и 30 мин). Противоопухолевый эффект оценивали по объему опухоли, торможению роста опухоли

(ТРО) и критерию излеченности (КИ). Острую токсичность ФС изучали на мышах по общепринятой методике.

Результаты. Сравнительный анализ показал, что субстанция в составе мицеллярной эмульсии на основе Kolliphor ELP имеет преимущество перед остальными: обладает интенсивной полосой поглощения при 800 ± 2 нм, характеризуется малым размером частиц и остается стабильной при хранении и облучении. ФС в составе мицеллярной эмульсии быстро накапливается (в течение 15 мин) в опухолевой ткани саркомы S37, сохраняется на достаточно высоком уровне в течение 2 ч (6,8–7,3 усл. ед.), а затем выводится, и через 24 ч регистрируются только фоновые значения. Из кожи краситель полностью элиминирует в течение суток. Максимальная величина флуоресцентной контрастности между опухолью и кожей составила $2,4 \pm 0,1$ усл. ед. Метилловый эфир *O*-пропилдоксим-*N*-пропоксикарбиопурпуринимида выводится из печени, почек, селезенки на 82–90 % в течение 24 ч, а остаточные количества в этих органах регистрируются до 6 сут. ФДТ с использованием мицеллярной формы ФС (доза 5 мг/кг, интервал между введением и облучением 15 мин) у мышей с саркомой S37 приводила к полной регрессии первичного опухолевого узла у 100 % животных при отсутствии рецидива опухоли в течение 90 сут после лечения. При изучении общетоксических свойств установлено, что краситель не оказывал токсического действия на животных при его использовании в дозах, превышающих расчетную терапевтическую дозу для человека в 62 раза.

Заключение. Таким образом, разработанная мицеллярная форма метилового эфира *O*-пропилдоксим-*N*-пропоксикарбиопурпуринимида на основе Kolliphor ELP является перспективной водорастворимой формой ФС, характеризуется стабильностью, высокой противоопухолевой эффективностью и низким токсическим потенциалом.

*Д.А. Панкратова¹, А.А. Лушикова¹, А.А. Рудакова¹,
Л.Ф. Морозова¹, О.С. Бурова¹, С.М. Андреев²,
М.А. Барышникова²*

МЕХАНИЗМ ГИБЕЛИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫХ КУЛЬТУРАХ, ИНДУЦИРОВАННЫЙ КАТИОННЫМИ ПЕПТИДАМИ

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

Введение. Молекулярно-направленная терапия злокачественных опухолей препаратами с избирательной токсичностью — актуальная проблема онкологии. В качестве противоопухолевых агентов перспективны низкомолекулярные катионные пептиды (КП), возможными мишенями которых служат шаперонные белки С23 и В23, регулирующие ключевые клеточные процессы. Дифференциальная экспрессия С23/В23, особенно рецепторных молекул С23, в опухолевых и нормальных клетках создает предпосылки для избирательной цитотоксичности КП, а также для их клинического применения.

Цель исследования. Изучение гибели опухолевых клеток, индуцированной КП с разной структурой и зарядом молекул, на модельных клеточных линиях (КЛ).

Материалы и методы. Использовали перевиваемые КЛ меланомы кожи – melIS, melH; глиобластомы – Glb-Sh, Glb-17; рака яичников – CrovCel; рака молочной железы с множественной лекарственной устойчивостью – HBL-100/Dox; гепатокарциномы – Huh7; гепатобластомы – HepG2, рака поджелудочной железы – Panc1, MiaPaCan2, AsPc1, CaPa2; и контроль – фибробласты линии H1036. Цитотоксичность 5 КП, обогащенных Arg/Lys, изучали в МТТ-тестах; механизмы цитотоксичности – с помощью проточной цитометрии, ОТ-ПЦР, ИГХ, вестерн-блоттинга с использованием коммерческих антител к C23/B23/p53; флуоресцентно меченный Cy5*-КП R₈K₄K₂KAC-NH₂ применяли для микроскопического контроля процесса.

Результаты. Показана высокая селективная цитотоксичность изученных КП: выживаемость клеток в МТТ-тестах после 2–3-суточной инкубации опухолевых КЛ с КП составила, в зависимости от КЛ, 8–25 %, а в контроле не изменилась. Окрашивание инкубированных с КП клеток DAPI и Höchst выявило апоптоз, подтвержденный методом проточной цитофлуориметрии. ОТ-ПЦР, блоттинг и ИГХ-анализ выявили гиперэкспрессию генов *NCL/NPM* и белков C23/B23 во всех опухолевых КЛ. Например, после 3-суточной инкубации КЛ melIS с КП уровень C23 упал наиболее резко, а p53 – вырос до 2,5 раза; до инкубации соответственные уровни были в ~ 8,5 раза выше и в ~ 2,8 раза ниже контрольных. Возможный механизм избирательной токсичности КП во всех исследованных КЛ включает взаимодействие (+)-кластеров молекул КП с (–)-доменами рецепторного C23, конкурентное связывание КП с избытком C23/B23 после транспорта в клетки, с последующей активацией супрессора p53 и каспаз 3, 8, 9 и дальнейшим апоптозом.

Заключение. Показано, что изученные КП с разной молекулярной структурой индуцируют гибель опухолевых клеток из различных модельных линий в результате активации каспаз 3, 8 и 9 и апоптоза. Эти КП отобраны для дальнейшего исследования *in vivo*.

Г.А. Посытанова¹, В.Н. Осипов², Ю.П. Семочкина¹, О.В. Высоцкая¹, Д.С. Хачатрян²

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ЛИНЕЙНЫХ ПЕПТИДОВ – АНАЛОГОВ СОМАТОСТАТИНА

¹НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия;

²НИЦ «Курчатовский институт» – ИРЕА, Москва, Россия

Цель исследования. Выявление новых пептидов – линейных аналогов соматостатина, способных избирательно связываться с опухолевыми клетками, и изучение механизма их действия.

Материалы и методы. Пептиды синтезировали с помощью классических методов пептидной химии в жидкой фазе. Связывание пептидов с клетками и анализ клеточного цикла исследовали с помощью проточной цитофлуориметрии. Уровень цАМФ в клетках определяли с помощью конкурентного иммуоферментного анализа. Определение теломеразной активности в экстрактах из клеток проводили с помощью метода TRAP. Цитостатическую активность пептидов исследовали с помощью МТТ-теста.

Результаты и Заключение. Обнаружено, что пентапептид CIF и тетрапептиды TP-OMe и TP-ONH₂ способны специфически связываться с рецепторами соматостатина и ингибировать синтез цАМФ аденилатциклазой в клетках нейробластомы человека линии IMR-32 в концентрации 10 мкМ. Наибольшая специфичность связывания показана для CIF. Тетрапептиды не проявляли цитостатической активности в концентрациях до 50 мкМ, в отличие от CIF. Преинкубация клеток с пептидами в течение 24 ч не влияла на теломеразную активность.

Работа выполнена при финансовой поддержке НИЦ КИ (внутренний грант, приказ № 1030 от 05.07.2017).

Т.Р. Приходченко¹, Н.П. Актюева¹, Е.С. Немирова², А.Р. Гизатуллин¹, Н.И. Шкондина¹

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ (*KALANCHOE DAIGREMONTIANA*, *ALOE ARBORESCENS*) НА КЛЕТКАХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

¹ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия;

²МГОУ, Москва, Россия

Введение. Множественная миелома (ММ) составляет около 1 % всех злокачественных новообразований и чуть более 10 % гемобластозов, поэтому поиск новых методов ее лечения является весьма актуальным. Проявление побочных эффектов при использовании химических препаратов, оперативных методов, а также необходимость длительной (иногда годами) коррекции патологического процесса – все это заставляет врачей обратить внимание на возможности традиционной медицины. Лекарственные растения могут быть эффективны в профилактике рецидивов онкологических заболеваний, во многих случаях только фитотерапия позволяет избежать осложнений, вызванных применением химиопрепаратов. Растительные средства обладают способностью выводить токсические вещества и продукты обмена благодаря диуретическому действию, повышению антиоксидантной функции печени, стабилизации клеточных мембран. Поэтому поиск растительных экстрактов, обладающих противоопухолевой активностью, важен для онкомедицины.

Цель исследования. Оценить противоопухолевую активность экстрактов *Kalanchoe daigremontiana*, *Aloe arborescens* на клетках ММ (линия 8226). Изучить влияние растительных экстрактов каланхоэ и алоэ на метаболизм опухолевых клеток ММ.

Материалы и методы. Исследования выполнены на клеточной линии ММ 8226. Эта линия характеризуется выраженной экспрессией мРНК *IGF-1* и мРНК *IGF-2* и всех их рецепторов. Определение жизнеспособности клеток проводили флуоресцентным методом, с помощью Alamar reagent assay. Были исследованы следующие концентрации растительных экстрактов: для каланхоэ – 0,45 мг белка, для алоэ – 0,16 мг. В качестве контроля использовали доксорубин (7×10^{-4} М). Аддитивный эффект экстрактов каланхоэ и алоэ определяли в комбинации доксорубина с растительными экстрактами. Для определения митохондриального мембранного потенциала использовался флуориметрический метод с помощью красителя JC-1. Уровень

общего глутатиона определяли флуоресцентным методом с помощью *o*-фталевого альдегида.

Результаты. Предварительная инкубация клеток ММ с растительными экстрактами каланхоэ (*Kalanchoe daigremontiana*) и алоэ (*Aloe arborescens*) понижала жизнеспособность опухолевых клеток на 16 и 45 % соответственно. Для сравнения: доксорубин понижал выживаемость клеток на 40 %. Экстракт каланхоэ в комбинации с доксорубином уменьшал жизнеспособность клеток на 28 %, а алоэ – на 52 %. Комбинация растительных экстрактов с доксорубином показала аддитивный синергизм действия, при этом экстракт алоэ демонстрировал более значительный противоопухолевый эффект. Растительные экстракты каланхоэ и алоэ значительно понижали митохондриальный мембранный потенциал – экстракт каланхоэ в 2 раза, а экстракт алоэ в 8 раз. Уровень внутриклеточного глутатиона также понижался под действием экстракта каланхоэ на 25 %, а под действием алоэ – на 63 %. Эти данные указывают на то, что растительные экстракты каланхоэ и алоэ влияют на метаболизм опухолевых клеток и уменьшают их выживаемость, при этом экстракт алоэ является наиболее эффективным.

Заключение. Результаты проведенных экспериментов показали, что растительные экстракты *Kalanchoe daigremontiana* и *Aloe arborescens* обладают противоопухолевой активностью.

В.А. Пурцхванидзе, Ю.Г. Симаков

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ОТДАЛЕННЫХ МЕТАСТАЗОВ

Медицинский центр высоких технологий «ЛазерВита», Москва, Россия

Введение. В последнее время изучение механизмов действия фотодинамической терапии (ФДТ) показало, что помимо прямого цитотоксического действия на опухолевые клетки ФДТ имеет антивазкулярный и иммуностимулирующий эффект. Иммунный ответ после ФДТ распространяется не только на область первичного очага опухоли, но и на метастазы. После проведения ФДТ клетки злокачественной опухоли погибают, и из них выделяется комплекс «некротормонов», или аутонозодов, которые мы можем назвать продуктом распада опухоли после ФДТ, или ПРОФДТ. ПРОФДТ, действуя на выжившие после проведенной терапии раковые клетки, приводит к их некрозу и апоптозу. Считается, что в этом процессе важную роль играют цитокины, лейкоциты и Т-лимфоциты. В экспериментах на животных было показано, что облучение при ФДТ первичного очага прививкой опухоли у крыс приводило также к исчезновению очагов метастазов. Клинический случай регрессии опухоли в необлученных очагах ангиосаркомы наблюдался, если только 1 очаг опухоли был облучен с помощью ФДТ.

Цель исследования. Оценить воздействие ФДТ и ПРОФДТ на выжившие клетки опухоли и отдаленные метастазы.

Материалы и методы. В наших исследованиях за последние 5 лет мы изучили 8 клинических случаев подавления неразрушенной части опухоли и метастазов после ФДТ. Все пациенты проходили многократные курсы ФДТ (5–10 курсов). В качестве фотосенсибилизатора применялись препараты фотодитазин и радахлорин. Доза препара-

та составляла от 1 до 2 мг/кг массы тела пациента. Доза энергии составляла от 250 до 400 Дж/см².

Результаты. Нами было пролечено 8 пациентов (4 женщины и 4 мужчины). Средний возраст – 41 ± 12,5 года. Из них 3 пациента с диагнозом «рабдомиосаркома», 2 – с диагнозом «рак молочной железы» и 2 пациента с диагнозом «меланома». У 1 пациента был диагноз «ПРК голени». Число повторов сеансов ФДТ – 5–10. У всех пациентов наблюдался распад метастазов, что подтверждалось результатами цитологического исследования, иммунограммы крови, УЗИ и КТ.

Заключение. Таким образом, можно говорить о том, что ФДТ активирует противоопухолевый иммунитет больного, а ПРОФДТ приводит к некрозу и апоптозу выживших клеток. Также вероятно, что в клетках существует аутонозодная память и клетки передают информацию другим пораженным клеткам о проведенной ФДТ. ПРОФДТ открывает путь борьбы с раком и позволяет создать новый тип «вакцины» от рака. ПРОФДТ требует дальнейшего изучения и нуждается в многочисленных экспериментах.

О.Ф. Рабинович, И.М. Рабинович, Е.С. Абрамова

ПРИМЕНЕНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С ОСЛОЖНЕННЫМИ ФОРМАМИ КРАСНОГО ПЛОСКОГО ЛИШАЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА

ФГБУ ЦНИИСиЧЛХ Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Красный плоский лишай (*lichen ruber planus*, КПЛ) – один из наиболее часто встречаемых дерматозов с проявлениями на слизистой оболочке рта (СОР) и кожи. Являясь хроническим воспалительно-деструктивным заболеванием, характеризуется упорным течением, наличием осложненных форм (эрозивно-язвенной и буллезной), которые при определенных условиях могут трансформироваться в рак.

Цель исследования. Повышение эффективности комплексного лечения больных с осложненными формами КПЛ СОР с применением фотодинамической терапии (ФДТ).

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели в отделении заболеваний слизистой оболочки рта ФГБУ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России было проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование 27 пациентов с эрозивно-язвенной и буллезной формами КПЛ (16 женщин и 11 мужчин) в возрасте от 30 до 70 лет. Пациенты были распределены на 2 группы: 1-ю (контрольную) из 7 пациентов, которых лечили традиционными методами, включающими местное и общее назначение препаратов; и 2-ю (основную) из 20 пациентов, которым на фоне традиционных методов лечения применяли ФДТ. Наблюдение за пациентами проводилось в течение 1,5–2,0 лет. В обеих группах общее лечение заключалось в применении иммунокорректирующей терапии и витаминотерапии. При присоединении вторичной инфекции пациентам назначали противомикробные и антимикотические препараты, а также пре- и пробиотики для улучшения микробиотенноза полости рта. Назначали также кортикостероидные препараты (преднизолон, дексаметазон и др.). Пациентам 2-й группы в дополнение к стандартной схеме лечения назначалась ФДТ, которая применялась в условиях

стационара под контролем лечащего врача и врача-анестезиолога методом внутривенного капельного введения фотодитазина.

Результаты. Критерием эффективности лечения пациентов основной и контрольной групп с осложненными формами КПЛ СОР считали исчезновение жалоб, неприятных субъективных ощущений (боль, чувство дискомфорта СОР), уменьшение или исчезновение очага поражения, сокращение сроков эпителизации и количества рецидивов в течение года. Для оценки эффективности комплексного лечения пациенты были разделены на 4 категории: 1 – полное выздоровление; 2 – значительное улучшение; 3 – улучшение; 4 – без эффекта. Наилучший эффект и значительное улучшение были достигнуты во 2-й группе у 77 %, улучшение – у 30 %, полное выздоровление наблюдалось у 15 % по сравнению с группой контроля, где значительное улучшение составляло 45 %, улучшение – 20 %, полное выздоровление – у 10 %, что, по нашему мнению, подтверждает эффективность включения ФДТ в комплексную терапию больных с осложненными формами КПЛ СОР. Заметная доля пациентов (7,5 %) основной группы без выраженного отклика на лечение, даже с учетом ФДТ, обусловлена наличием буллезной формы КПЛ СОР.

Заключение. Включение ФДТ в схему лечения пациентов с осложненными формами КПЛ СОР в сочетании со стандартными схемами является патогенетически обоснованным и позволяет значительно повысить эффективность комплексной терапии, что выражается в увеличении длительности ремиссии и уменьшении количества рецидивов.

А.А. Раджабов, Г.И. Исмаилов, В.М. Маушев
АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В КОМПЛЕКСНОЙ ПОДГОТОВКЕ ГНОЙНЫХ РАН К ПЛАСТИЧЕСКИМ ОПЕРАЦИЯМ
 ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия

Введение. При обширных длительно не заживающих и хронических ранах восстановление кожных покровов является основополагающим, конечным этапом в закрытии раневого дефекта.

Цель исследования. Улучшить подготовку гнойных ран различного генеза к пластическим операциям путем применения лазерного излучения.

Материалы и методы. Было проведено обследование и лечение 169 больных с гнойно-некротическими ранами различной локализации и генеза, которые были разделены на 4 группы. В 1-й группе (контрольной) у 40 больных выполняли традиционную хирургическую обработку гнойных очагов мягких тканей, которая включала вскрытие, иссечение нежизнеспособных тканей обычными инструментами с последующим местным лечением ран повязками с антисептиками. Во 2-й группе у 39 больных иссечение нежизнеспособных тканей выполняли полупроводниковым лазерным аппаратом «Аткус 15» (длина волны 0,81 мкм), после чего продолжали местное лечение аналогично больным 1-й группы. В 3-й группе 43 больным после выполнения некрэктомии с применением высокоэнергетического лазера на следующие сутки после операции выполняли фотодинамическую терапию (ФДТ) с фотосенсибилизатором

хлоринового ряда «Фотодитазин». Вначале на рану наносили 0,5 % гель-пенетратор фотодитазина из расчета 1 мл на 10 см². После 90-минутной экспозиции проводили сеанс засвечивания раны излучением лазерного аппарата «Аткус-10» с длиной волны 661 ± 0,3 нм при плотности мощности 0,5–1,0 Вт/см² в непрерывном режиме, с плотностью энергии 25–30 Дж/см². В 4-й группе 47 пациентам после некрэктомии и ФДТ выполнили сеансы НО-терапии аппаратом «Плазон».

Результаты. Средние сроки готовности ран к выполнению пластических операций во 2-й группе составили 5,3 ± 0,3 сут, в 3-й группе – 4,6 ± 0,4 сут, в то время как в 1-й (контрольной) группе – 9,6 ± 0,9 дня. Сорока девяти больным выполнена аутодермопластика дерматомным методом, 120 больным на рану наложили вторичные швы. После выполнения аутодермопластики приживление ауто-трансплантатов составило >90 %.

Заключение. Использование высокоэнергетического лазерного излучения и лазерной ФДТ в комплексной подготовке гнойных ран к пластическим операциям позволяет сократить сроки лечения больных с обширными гнойно-некротическими ранами различного генеза.

И.В. Решетов, И.В. Гусев, М.А. Шедрина, Н.С. Сукорцева, И.И. Быков, Ю.С. Курочкина, К.Р. Горихов

РАЗРАБОТКА БИОПОЛИМЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГУЛЯЦИИ АТИПИЧНОЙ РЕПАРАЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ, ПРИВОДЯЩИХ К ОБЪЕМНОМУ ЗАМЕЩЕНИЮ ДЕФЕКТОВ ПОЛОСТЕЙ ТЕЛА (ПРИБРЕТЕННЫЕ ОБШИРНЫЕ ДЕФОРМАЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ)

ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Введение. В работе был использован полимерный препарат, в который был помещен химиопрепарат цисплатин, с помощью которого достигается высокий местный захват противоопухолевого лекарственного средства для проведения эффективной локальной химиотерапии.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования было выбрано оригинальное лекарственное средство цисплатин-лэнс (ОАО «Верофарм», Россия). Основа полимерной композиции – полисахарид альгинат натрия с молекулярной массой 143 кДа; концентрация альгината натрия в композиции – 6 %; вязкость полимерной композиции после стерилизации при скорости сдвига 12 с⁻¹ – η = 6500 сР. Лекарственное средство цисплатин было помещено в 3 образца полимерной композиции с разной концентрацией химиопрепарата, которая была определена на основе отечественных и международных данных литературы. Образец № 1 – 0,4 мг в 1 мл, образец № 2 – 0,2 мг в 1 мл, образец № 3 – 0,1 мг в 1 мл. Эксперименты по биосовместимости проводились на самках мышей 20–25 г, возраст 14 нед. Животных содержали в виварии на стандартном рационе в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993–2–2009. Мыши были разделены на 12 групп по 3.

Результаты. В группах с I по IX животные переносили введение хорошо. Изменений общего состояния и поведения

экспериментальных мышей в опытных группах не зафиксировано. Потери в массе тела отсутствовали. По данным патолого-анатомического вскрытия не удалось обнаружить видимых изменений в печени, селезенке, почках, сердце, легких, надпочечниках. Статистически значимых отклонений в массе внутренних органов после применения исследуемых образцов препаратов в дозах 0,4; 0,2 и 0,1 мг не зафиксировано. В группах X, XI, XII при применении исследуемых образцов препарата в дозах 0,4 и 0,2 мг через 12 ч – двигательная активность и реакция на внешние раздражители были резко снижены. Еще через 12 ч была зафиксирована смерть экспериментальных мышей групп X, XI, XII. По данным патолого-анатомического вскрытия обнаружались: некротические изменения печени, что может указывать на гепатотоксичность препарата при внутрибрюшинном введении.

Заключение. На основании полученных данных можно говорить о том, что образцы исследуемых препаратов № 1 и 2 не оказывают токсического влияния на организм экспериментальных мышей при подкожном и внутрибрюшинном введении. При введении исследуемого препарата № 3 подкожно также токсических влияний не отмечалось, однако при внутрибрюшинном введении все экспериментальные животные исследуемых групп погибли. Таким образом, данные пилотного исследования следует расценивать как положительный результат и использовать их в дальнейшем исследовании локального воздействия препарата на опухолевые клетки.

Работа проведена в рамках гранта РФФИ № 15-29-04-8470ФИ_М.

*Г.С. Решитко¹, Д.О. Шкиль¹, Э.Ю. Ямансаров¹,
И.В. Салтыкова¹, Е.В. Дейнека², Е.К. Белоглазкина¹,
Н.В. Зык¹, А.Г. Мажуга^{1,3,4}*

СИНТЕЗ НОВОГО ТРИВАЛЕНТНОГО ЛИГАНДА ASGP-РЕЦЕПТОРА НА ОСНОВЕ N-АЦЕТИЛГАЛАКТОЗАМИНА

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, Россия;

³НИТУ «МИСиС», Москва, Россия;

⁴РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. Среди всех злокачественных опухолей человека гепатоклеточная карцинома (ГКК) является одной из наиболее распространенных. Ее развитие связано в первую очередь с гепатоцитами, которые экспрессируют на своей поверхности специфический белок – асиалогликопротеиновый рецептор (ASGP-R), участвующий в процессах метаболизма и способный к селективному распознаванию остатков моносахаридов. Для адресной доставки противоопухолевых препаратов в гепатоциты наиболее перспективным считается метод создания низкомолекулярных конъюгатов ASGP-R, для которых разработаны многочисленные мультивалентные лиганды с терминальными остатками моносахаридов. Однако многостадийность и высокая стоимость полного синтеза не позволяет использовать их в полной мере в лечебной практике социально значимых заболеваний. В связи с этим актуальной научной проблемой является разработка и получение

новых лигандов ASGP-R с использованием современных и эффективных методов синтеза.

Цель исследования. Синтез нового тривалентного лиганда на основе трис(гидроксиметил)аминометана и N-ацетилгалактозамина с использованием методов и подходов клик-химии.

Материалы и методы. Структура лиганда установлена методами спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C регистрировали на приборе Bruker DPX-300 и Agilent 400 MR. Масс-спектры высокого разрешения регистрировали на приборе Thermo Scientific Orbitrap Elite методом электрораспылительной ионизации (ESI).

Результаты. В настоящей работе была предложена оптимизированная схема синтеза перспективного лиганда ASGP-R, включающая 6 стадий и 3 основных этапа. Первоначально осуществили постановку Вос-защиты аминогруппы трис (гидроксиметил) аминометана, что было необходимо для селективного проведения этерификации гидроксильных групп без участия -NH₂ в качестве конкурирующего нуклеофила. Далее методом карбодимидной этерификации был получен предшественник лиганда – сложный эфир N-Вос-трис(гидроксиметил) аминометана и 5-гексиновой кислоты. Взаимодействием пентаацетата β-D-галактозамина с TMSN₃ в присутствии FeCl₃ с последующим снятием ацетоксильных групп с помощью MeONa в MeOH был получен N-ацетил-1-азидо-β-D-галактозамин, который далее ввели в реакцию 1,3-диполярного азид-алкинового циклоприсоединения с синтезированным ранее сложным эфиром. Взаимодействие азидогруппы углевода с терминальными тройными связями линкера в условиях катализа йодида меди (I) (метод клик-химии) позволило селективно осуществить синтез целевого лиганда.

Заключение. В результате проделанной работы на основании оригинальной схемы синтеза получен перспективный тканеспецифический тривалентный лиганд ASGP-R. При его создании использован новый тип сочленения углеводных остатков с разветвленной ТРИС-платформой через ароматические 1,2,3-триазольные циклы. Ранее нами было показано, что для лигандов близких структурных типов наблюдается высокая способность к взаимодействию с ASGP-R ($K_d 7,6 \times 10^{-10}$). Полученное соединение представляет большой интерес для дальнейшего тестирования биологических свойств *in vitro* и *in vivo*.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, гранты № 17-74-10204 и № 17-74-30012.

Д.И. Ржевский^{1,3}, И.Н. Кравченко¹, Е.С. Садовникова¹,
Е.А. Рассказова¹, Н.И. Новикова¹, Г.А. Слащева¹,
В.И. Владимиров¹, С.Г. Семушина¹, Э.Р. Шайхутдинова¹,
И.А. Пахомова¹, Е.А. Калабина¹, П.А. Руденко¹,
Д.В. Зинченко¹, А.П. Богачук², В.М. Литкин², А.Н. Мурашев^{1,3}

**ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ,
АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКИМ И ПРОТЕКТОРНЫМ
ДЕЙСТВИЕМ НА ОСНОВЕ ФРАГМЕНТА ФАКТОРА
ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ЛЕЙКОЦИТОВ**

¹Филиал ФГБУН ИБХ РАН, Пушкино,

Московская область, Россия;

²ФГБУН ИБХ РАН, Москва, Россия;

³Пушинский научный центр РАН, Пушкино,

Московская область, Россия

Введение. Рост числа онкологических заболеваний является стимулом к поиску новых противоопухолевых препаратов. Одним из направлений в этой области являются исследования пептидных препаратов, поскольку они обладают высокой селективностью действия, минимальными побочными эффектами, растворимостью в водных средах, низкой токсичностью, отсутствием иммуногенности, малой молекулярной массой. Одним из таких перспективных соединений является выделенный из культуральной среды клеток линии HL-60, обработанных ретиноевой кислотой, фактор дифференцировки HLDF (Human Leukemia Differentiation Factor).

Цель исследования. Проведение доклинических испытаний безопасности лекарственного средства пептидной природы, обладающего противоопухолевым, антиметастатическим и протекторным действием, предназначенного для лечения онкологических заболеваний.

Материалы и методы. Эксперименты были проведены на самцах и самках аутбредных крыс Wistar, мышах ICR и C57Bl/6. Животные SPF-статуса были получены из питомника лабораторных животных «Пушино» ФИБХ РАН. Все процедуры с животными в исследовании были рассмотрены и утверждены институтской комиссией по уходу и использованию животных на предмет соответствия этическим требованиям. Введение исследуемого препарата осуществлялось подкожно в предполагаемой терапевтической дозе для человека и 10-кратной терапевтической дозе, с учетом межвидового коэффициента пересчета.

Результаты. Проведены исследования острой, субхронической, репродуктивной токсичности, мутагенных, иммунотоксических и алергизирующих свойств препарата. В результате исследований было показано отсутствие у тестируемого препарата в диапазоне терапевтических доз общетоксического действия при однократном, а также многократном подкожном введении в течение 28 дней; отрицательного действия в отношении репродуктивной системы на стадии прогенеза (формирования мужских и женских гамет), нарушений полового поведения и транспорта продуктов зачатия; алергизирующего действия, выявляемого по способности индуцировать реакцию гиперчувствительности замедленного типа и вероятности развития псевдоаллергической реакции в ответ на введение Кон А; токсичности для иммунной системы, определяемой

по влиянию препарата на клеточный и гуморальный иммунный ответ, оценке фагоцитарной и бактерицидной активности фагоцитирующих клеток; мутагенных свойств в микроядерном тесте на эритроцитах костного мозга.

Заключение. Проведенные исследования продемонстрировали отсутствие у тестируемого препарата токсического действия в терапевтических дозах при данном способе введения.

Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации, государственный контракт № 14. N08.11.0111.

В.М. Ржевников¹, Л.Е. Голубовская¹, З.С. Смирнова²,
В.Н. Толкачев², Т.А. Федотчева³, Н.Л. Шимановский³

**СТЕРОИДНЫЙ ГЕСТАГЕН
КАК ХЕМОСЕНСИБИЛИЗАТОР
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ**

¹ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России,

Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»

Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Множественная лекарственная устойчивость является важнейшей причиной снижения эффективности применяемой в онкологии химиотерапии. Использование веществ-хемосенсибилизаторов позволяет повысить реактивность опухолевых клеток к тому или иному противоопухолевому препарату.

Цель исследования. В развитие исследования потенциала противоопухолевого действия нового гестагена бутерола (Бут), показавшего высокую активность на модели рака шейки матки (патент РФ 2292209), проведено изучение его способности к хемосенсибилизации опухолевых клеток к различным типам препаратов: алкалоиду винкристину, антибиотику доксорубину и ингибитору топоизомеразы этопозиду.

Материалы и методы. Бут – 3-бутират 17 α -ацетокси-6-метилпрегна-4,6-диен-3 β -ол-20-она – был синтезирован региоселективным восстановлением ацетата мегестрола боргидридом натрия с последующей этерификацией. Для оценки его ХС действия *in vivo* использовали мышей линии DBA2 с привитым лимфолейкозом P388, активность определяли по показателю торможения роста опухолей (ТРО). Аналогичное действие Бут *in vitro* изучено на клетках рака молочной железы MCF-7 сравнением цитостатических эффектов доксорубина и этопозиды с таковыми для комбинаций этих препаратов с Бут.

Результаты. В опытах на мышах Бут усиливает эффект винкристина с 37 до 53 % (по ТРО). На клеточной культуре MCF-7 наибольший эффект наблюдался в экспериментах с доксорубином – усиление цитостатического действия с 47,6 (доксорубин) до 66,4 % (Бут + доксорубин). В аналогичных опытах с этопозидом активность цитостатика возрастала с 66,9 до 80,2 %. Установлено ингибирующее влияние Бут на экспрессию белков факторов резистентности, при этом оно наиболее выражено для белка VCRP-1 – подавление экспрессии соответствующей мРНК в 65 раз, тогда как для Pgp экспрессия мРНК снижалась в 3,8 раза.

Заключение. Сочетание противоопухолевой активности со способностью усиливать эффект известных онкопрепаратов создает перспективу применения Бут для лечения гормонозависимых опухолей.

*А.А. Рудакова, В.А. Мисюрин, А.В. Пономарев,
О.С. Бурова, М.А. Барышников*

ВОЗМОЖНОСТЬ МОДЕЛИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ МАРКЕРОВ PD-L1 И PD-L2 НА ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

Введение. В настоящее время для лечения рака применяются следующие подходы: химиотерапия, таргетная терапия и иммунотерапия. Комбинирование данных подходов может давать новые терапевтические эффекты. Однако перед составлением комбинаций требуются тщательные лабораторные исследования.

Цель исследования. Оценить влияние лекарственных форм аранозы – лиофилизата для приготовления раствора для инъекций и липосомальной, а также цисплатина, паклитаксела и дабрафениба в монорежиме или в комбинации на изменение уровня экспрессии мРНК и белков PD-L1 и PD-L2 в клеточных линиях меланомы.

Материалы и методы. Исследования проводили на клеточных линиях меланомы человека, полученных из опухолевого материала больных, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Оценивали экспрессию PD-L1 и PD-L2 на клетках без препаратов. Затем клетки инкубировали с аранозой-лио, липосомальной аранозой, цисплатином, паклитакселом и дабрафенибом в концентрации IC_{50} , которая была рассчитана в МТТ-тесте. Препараты добавляли как в монорежиме, так и в комбинации. Уровень экспрессии генов PD-L1 и PD-L2 оценивали методом ПЦР-РВ. В реакции иммунофлуоресценции оценивали экспрессию белков PD-L1 и PD-L2. Данные анализировали методами корреляционного анализа и медианного теста.

Результаты. Уровень экспрессии гена PD-L2 прямо коррелировал со степенью дифференцировки клеток (коэффициент Пирсона 0,937, $p < 0,15$). Активность гена PD-L1 и белков PD-L1 и PD-L2 не связана со степенью дифференцировки, а также не зависит от наличия мутаций гена TP53. PD-L2 экспрессируется на меньшем уровне в клеточных линиях, имеющих мутации BRAF ($p = 0,0117$). Интересно, что мутации в TP53 наблюдаются при наличии мутаций гена BRAF (коэффициент Пирсона 1, $p < 0,15$). Араноза-лио привела к увеличению уровня экспрессии гена PD-L1 ($p = 0,23$), а липосомальная араноза статистически значимо увеличивает уровень экспрессии белка PD-L1 ($p = 0,037$). Инкубация с цисплатином в комбинации с паклитакселом также увеличивает уровень экспрессии белка PD-L1 ($p = 0,037$). Дабрафениб, цисплатин и паклитаксел в монорежиме не оказывают влияния на экспрессию белка PD-L1. Уровень экспрессии гена и белка PD-L2 снижается под действием любого препарата, но статистически незначимо ($p = 0,6$).

Заключение. При лечении больных меланомой может быть эффективно использование ингибиторов PD1 в сочетании с химиопрепаратами.

*С.В. Саакян¹, А.Ю. Цыганков¹, Н.И. Моисеева²,
А.Ф. Карамышева², М.Г. Жильцова¹, С.С. Тадевосян¹*

ПЕРВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ ОПЫТ СОЗДАНИЯ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ И ОЦЕНКИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РЕТИНОБЛАСТОМЫ

¹ФГБУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца»

Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Культивирование клеток ретинобластомы *in vitro* является значимым методом изучения их свойств, в том числе за счет возможности получения аналогичной нативной опухолевой массы.

Цель исследования. Попытка создания первичной клеточной культуры ретинобластомы и оценка ее лекарственной устойчивости к химиопрепаратам.

Материалы и методы. В исследование вошли 19 пациентов в возрасте 6–64 мес ($27,9 \pm 17,4$). У 6 (31,6 %) пациентов отмечено билатеральное поражение, у 13 (68,4 %) – монологатеральное. У 18 (94,7 %) пациентов выявлена ретинобластома группы E. Во всех случаях выполнена энуклеация, при этом в 94,7 % случаев определена низкодифференцированная ретинобластома. Взяты образцы опухолевой ткани для получения клеточной культуры с последующим исследованием лекарственной устойчивости (МТТ-тест).

Результаты. В 4 случаях удалось получить переживающие адгезивные первичные культуры ретинобластомы. Проведена цитологическая верификация полученных культур. При билатеральном поражении первичные культуры были получены чаще (4/6), тогда как при монологатеральном поражении клетки не приживались (0/13) ($p = 0,003$). Статистически значимой взаимосвязи с возрастом пациентов ($p = 0,33$) и наличием кальцинатов в опухоли по данным ультразвукового исследования ($p = 0,26$) не выявлено. Проведенный МТТ-тест показал отсутствие различий в чувствительности клеточных культур к ириноктану и ифосфамиду. Выраженные отличия в устойчивости между культурами получены только для оксалиплатина и аскорбиновой кислоты.

Заключение. В работе описан первый в РФ опыт получения клеточной культуры ретинобластомы и оценки химиочувствительности к различным препаратам. Проведение МТТ-теста с оценкой лекарственной устойчивости может быть использовано как в клинической практике для уточнения режима химиотерапии зарегистрированными препаратами, так и для разработки новых подходов к лечению ретинобластомы при оценке резистентности опухолевых клеток *in vivo* на животных моделях.

М.А. Салмова¹, Д.А. Бондаренко¹, Г.А. Слащева¹,
С.Г. Семушина¹, И.А. Пахомова¹, Л.А. Скобцова¹,
Е.А. Калабина¹, П.А. Руденко¹, А.Н. Мурашев^{1,2}

ИСПЫТАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ОБРАБОТАННЫХ СИНТЕТИЧЕСКИМ РЕТИНОИДОМ CD437 АУТОЛОГИЧНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

¹Филиал ИБХ РАН, Пушкино, Московская область, Россия;

²Пушинский научный центр РАН, Пушкино, Московская область, Россия

Введение. В последние 30 лет неуклонно растет число диагностированных случаев онкологических заболеваний. Такая тенденция побуждает исследовать новые вещества и подходы, оказывающие противоопухолевый эффект. Одним из направлений являются исследования по созданию противоопухолевых вакцин, поскольку они обладают высокой селективностью действия. Вариацией такого подхода является терапия аутологичными опухолевыми клетками, и для увеличения иммунного ответа организма опухолевые клетки подвергаются различным обработкам. Нами был исследован вариант обработки веществом CD437, синтетическим аналогом ретиноевой кислоты.

Цель исследования. Проведение пилотного испытания эффективности противоопухолевой вакцины на основе аутологичных опухолевых клеток, обработанных веществом CD437.

Материалы и методы. Эксперименты были проведены на самцах и самках мышей C57Bl/6. Животные SPF-статуса были получены из питомника лабораторных животных «Пушино» ФИБХ РАН. Все процедуры с животными в исследовании были рассмотрены и утверждены институтской комиссией по уходу и использованию животных на предмет соответствия этическим требованиям. Обработка опухолевых клеток (меланома, линия B16) осуществлялась в условиях *in vitro*. В качестве контроля использовался носитель – ДМСО. Введение нативных и/или обработанных опухолевых клеток осуществлялось подкожно латерально в количестве 1 млн.

Результаты. В результате исследований было показано, что одновременное введение животным нативных и обработанных опухолевых клеток замедляет темпы развития новообразований. Отмечена значительная зависимость эффективности вакцины от пола. Эффект торможения роста опухоли значительно сильнее выражен у самцов (57,3 %), в отличие от самок (15,6 %).

Заключение. Проведенное исследование продемонстрировало перспективность применения вещества CD437 в создании эффективной противоопухолевой клеточной вакцины. Необходимы дальнейшие исследования для увеличения эффективности препарата.

С.А. Сасов, Д.А. Хоченков, Т.А. Алиева, Е.Н. Бедрина,
Н.Н. Тотоева, В.Н. Толкачев

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ДИМЕРНОГО МАКРОЦИКЛИЧЕСКОГО ТАНИНА ХАМЕНЕРИНА I

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Полифенольные соединения растительного происхождения являются перспективным источником для скрининга соединений, проявляющих потенциальную антиангиогенную и противоопухолевую активность.

Цель исследования. Изучение активности димерного макроциклического танина (ДМТ), выделенного из соцветий или побегов *Chamerion angustifolium* (L.).

Материалы и методы. Для оценки антиангиогенной активности применяли методы изучения миграционной активности и дифференциации эндотелиальных клеток мыши (SV-EC-4-10) и человека (HUVEC, Lonza) на субстрате матригель (Corning). Антиангиогенная активность ДМТ *in vivo* была изучена на гистологических срезах аденокарциномы Льюис после внутрибрюшинного введения иммуногистохимическим методом с использованием антител к CD31 и VEGF (Abcam), а также проявочной Envision+ (Dako).

Результаты. При изучении миграционной активности клеток методом «заживления раны» было показано, что культивирование эндотелиальных клеток в присутствии ДМТ в концентрации 10 мкг/мл снижает их миграционную активность в 2 раза по сравнению с контрольными группами (прирост клеток 43 ± 4 % против 95 ± 3 % в контрольной группе). Добавление ДМТ в концентрации 1 мкг/мл не оказывало выраженного действия на миграцию эндотелиальных клеток. При изучении дифференциации эндотелиальных клеток в сосудоподобные структуры (СПС) на субстрате матригель было показано, что добавление ДМТ в концентрации 10 мкг/мл снижает площадь СПС, что выражается в уменьшении общей длины на 37 ± 4 % и количества узлов на 51 ± 7 % ветвления микротрубочек по сравнению с контролем. При изучении антиангиогенной активности *in vivo* на аденокарциноме было показано, что введение мышам ДМТ вызывает снижение числа микрососудов в ткани опухоли: общее число микрососудов снижалось в 2 раза (11 ± 4) по сравнению с контрольной группой (23 ± 5) на поле зрения. Также было установлено, что экспрессия VEGF повышена в контрольной группе по сравнению с опытной.

Заключение. Таким образом, полученный нами ДМТ хаменерин I обладает антиангиогенным действием, подтвержденным на модельных системах *in vitro* и *in vivo*.

Е.И. Селезнев¹, Э.Ю. Ямансаров¹, Р.А. Петров¹,
О.Н. Метелкина¹, И.В. Салтыкова¹, Е.В. Дейнека²,
Е.К. Белоглазкина¹, А.Г. Мажуга^{1,3,4}

СИНТЕЗ НОВЫХ ГЛИКОКОНЬЮГАТОВ АЛЛОБЕТУЛИНА И N-АЦЕТИЛГАЛАКТОЗАМИНА

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²Московский физико-технический институт
(государственный университет), Москва, Россия;

³НИТУ «МИСиС», Москва, Россия;

⁴РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. В настоящее время наиболее значимым способом оптимизации фармакологических свойств противоопухолевых препаратов является их адресная доставка к различным биологическим мишеням (рецепторам, биомаркерам, антигенам и др.). В области изучения таргетирования лекарственных средств в печень метод создания

специфичных к асиалогликопротеиновому рецептору (ASGP-R) веществ занимает ключевое место. Данные исследования активно ведутся для создания лекарств против гепатоцелочной карциномы. Создание гликоконъюгированных систем позволяет существенно улучшить фармакологический профиль исходных молекул, что особенно актуально в целях внедрения дешевых и доступных природных триптерпеноидов в клиническую практику.

Цель исследования. Синтез и идентификация новых конъюгатов аллобетулина и N-ацетилгалактозамина с использованием методов и подходов клик-химии.

Материалы и методы. Структура конъюгатов была установлена с помощью методов ЯМР и масс-спектрометрии. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C были получены на приборе Bruker DPX-300 и Agilent 400 MR. Масс-спектры высокого разрешения регистрировали на приборе Thermo Scientific Orbitrap Elite методом электрораспылительной ионизации (ESI).

Результаты. В настоящей работе были синтезированы и охарактеризованы 2 новых конъюгата аллобетулина и N-ацетилгалактозамина. Предложенная схема синтеза включала в себя 3 стадии и 2 основных этапа. Первоначально из бетулина с помощью реакции перегруппировки Вагнера–Меервейна нагреванием в $\text{CHCl}_3/p\text{-TsOH}$ был получен аллобетулин. Затем селективной этерификацией синтезировали предшественник конъюгата – сложный эфир аллобетулина и 5-гексиновой кислоты. Синтез осуществляли с использованием карбодимидной системы EDC–Cl/DMAP. Взаимодействием пентаацетата $\beta\text{-D}$ -галактозамина с TMSN_3 в присутствии FeCl_3 с последующим снятием ацетоксильных групп MeOH/MeONa был получен N-ацетил-1-азидо- $\beta\text{-D}$ -галактозамин. Синтез 2-го специфичного азидомоносахарида проводили с помощью реакции гликозилирования пентаацетата $\beta\text{-D}$ -галактозамина и азидоэтанола в присутствии TMSOTf . Заключительное взаимодействие азидопроизводных N-ацетилгалактозамина с терминальной тройной связью линкера в условиях катализа CuI позволило селективно получить новые гликоконъюгаты аллобетулина.

Заключение. В результате работы были получены и охарактеризованы конъюгаты, в которых биоактивная молекула аллобетулина выступает в качестве основы для создания адресного моновалентного лиганда ASGP-R. Данные вещества представляют большой интерес для дальнейшего биологического тестирования *in vitro*.

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 17-74-10204) и Министерства образования и науки РФ (правительственный грант № 20.9907.2017/VU).

Т.А. Сидорова, Н.К. Власенкова

ЦИНК-ПРОТОПОРФИРИН (ZNPPIX), ЭНДОГЕННЫЙ МЕТАБОЛИТ, СНИЖАЕТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К АНТРАЦИКЛИНОВЫМ АНТИБИОТИКАМ
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Антрациклиновые антибиотики (АА) широко используются в клинической онкологии. Известно, что цитотоксичность АА снижается в присутствии гемина (FePPIX), эндогенного металлопорфирина (МП). В кли-

нической онкологии сопутствующие заболевания (порфирии) и сосудистые нарушения (кровоизлияния внутри опухоли) могут быть источником эндогенных МП (FePPIX , ZnPPIX) и создавать условия, влияющие на лечебный эффект АА.

Цель исследования. Выяснить, является ли ZnPPIX , эндогенный метаболит, модулятором токсичности АА даунорубицина (DNR) относительно опухолевых клеток человека.

Материалы и методы. В работе были использованы линии опухолевых клеток человека, растущие *in vitro*: эритролейкоза (K562) и аденокарциномы молочной железы (MCF-7). Цитотоксичность АА для клеток в присутствии и без МП оценивали с помощью МТТ-метода, способность клеток накапливать АА в этих условиях – с помощью радиометрического метода.

Результаты. По нашим данным, в присутствии ZnPPIX (10 мкМ) цитотоксичность DNR снижается в 4 раза для эритробластов и клеток аденокарциномы молочной железы человека. Эффективность ZnPPIX как модулятора токсичности DNR оказалась в 2 раза выше по сравнению с FePPIX для клеток обеих линий. Установлено, что ZnPPIX , как и FePPIX , не влияет на цитотоксичность акларубицина, неклассического АА. В присутствии ZnPPIX регистрируется снижение накопления C^{14}DNR опухолевыми клетками K562 и MCF-7 на 70 и 50 % соответственно, а в условиях комбинирования с FePPIX величина накопления C^{14}DNR клетками обеих линий снижается на 30 %. Уровень накопления АА в присутствии 2 модуляторов соответствует величине, характерной для ZnPPIX , что свидетельствует о конкуренции МП с АА в клетках за общие белки-мишени.

Заключение. В присутствии ZnPPIX снижается токсичность АА для опухолевых клеток человека. Эффективность ZnPPIX , модулятора токсичности АА, зависит от химической структуры АА. В защите эндогенных МП (ZnPPIX , FePPIX) от цитотоксичности АА участвует один и тот же механизм, который связан со снижением способности клеток накапливать АА в присутствии модуляторов.

А.Ю. Симонов, С.А. Лакатюш

РАЗРАБОТКА МЕТОДА СИНТЕЗА ИНДОЛО[1',7':1,2,3]ПИРРОЛО[3',4':6,7]АЗЕПИНО[4,5-В]ИНДОЛ-1,3(2H,10H)-ДИОНА, ПРЕДШЕСТВЕННИКА ПРЕПАРАТА ПИМИНА
ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия

Введение. Важным направлением поиска эффективных лекарственных средств, в частности противоопухолевых препаратов таргетного действия, является создание и изучение новых ингибиторов протеинкиназ. Ранее нами была показана высокая активность 6-(4-метил-1-1-пиперазинил)метильного производного индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино [4,5-*b*]индол-1,3(2H,10H)-диона как селективного ингибитора протеинкиназы Pim-1 (proviral integration Moloney virus), перспективной мишени таргетной химиотерапии, защищающей клетки крови от апоптоза. В процессе работы по синтезу препаративных количеств ключевого соединения индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индол-1,3(2H,10H)-диона для синтеза Пимина были выявлены трудности масштабирования,

что привело к изменению схемы синтеза предшественника.

Цель исследования. Разработка нового метода синтеза индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индол-1,3(2*H*,10*H*)-диона для получения противоопухолевого препарата Пимина.

Материалы и методы. При дегидрировании 5,6,10,14*b*-тетрагидроиндоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индоло-1,3(2*H*,9*bH*)-диона при помощи 2,3-дициано-5,6-дихлоробензохинона с образованием целевого продукта индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индол-1,3(2*H*,10*H*)-диона было отмечено появление значительных количеств димерного побочного продукта с сопутствовавшим этому низким выходом, а также затруднительной очисткой целевого вещества

Результаты. Общий выход индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индол-1,3(2*H*,10*H*)-диона составил 57 % по схеме с синильной защитой и 58 % – с ацетильной, что более чем в 2 раза превышает выход при получении этого вещества известными на настоящий момент способами.

Заключение. Разработан метод синтеза индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индол-1,3(2*H*,10*H*)-диона для получения противоопухолевого препарата пимина.

Подана заявка на патент по новому методу получения.

А.Ю. Симонов, С.А. Лакатош

ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ И АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ ПРОТЕИНКИНАЗ ЧЕЛОВЕКА ТАРГЕТНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛО[1',7':1,2,3] ПИРРОЛО[3',4':6,7]АЗЕПИНО[4,5-*V*]ИНДОЛ- 1,3(2*H*,10*H*)-ДИОНА

ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия

Введение. Низкая селективность лекарств против опухолевых клеток и высокая общерезорбтивная токсичность – основные проблемы современной химиотерапии опухолей, в силу которых терапевтическая эффективность остается недостаточной. Преодоление указанной проблемы возможно при создании новых поколений лекарств, важнейшая особенность которых – направленное воздействие на мишени, важные для жизнедеятельности опухолевых клеток. В России наиболее распространенными формами злокачественных новообразований являются гемобластозы (лейкозы), рак молочной железы и рак толстой кишки.

Цель исследования. Получение соединения, ингибирующего конкретную мишень, важную для жизнедеятельности опухолевых клеток, – серин-треониновую протеинкиназу Pim-1. Протеинкиназы семейства Pim активированы при онкогематологических заболеваниях. Следовательно, ингибирование этих белков может увеличить эффективность противоопухолевого воздействия

Материалы и методы. Серия аминотильных производных индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индол-1,3(2*H*,10*H*)-диона получена аминотилированием аннелированного с индольными и малеимидным ядрами азепина в присутствии различных аминов и формальдегида в уксусной кислоте. Цитотоксическую активность

веществ определяли в МТТ-тесте (72 ч инкубация) на клетках лейкоза K562. Для установления механизма действия полученных соединений была исследована их активность в отношении ряда протеинкиназ: AKT1, ARK5, Aurora B, AXL, B-Raf, CK2-альфа, FAK, IGFR, INS, Met, PIM-1, PLK1, PRK1, SRC, TRK-B, VEGFR2.

Результаты. Ряд аминотильных производных индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индол-1,3(2*H*,10*H*)-диона проявили высокую селективную активность в отношении протеинкиназы Pim-1 (IC₅₀ – 53 нмоль): показатели цитотоксичности на клеточной линии K562 для всего ряда аминотильных производных составляли в среднем 15 ± 3 мкМ, для 6-[(пирролидин-1-ил)метил]индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индоло-1,3(2*H*,10*H*)-диона – 12 ± 2 мкМ. Цитотоксические активности новых производных существенно не различались. По показателям растворимости в фармакологически приемлемых водных средах для дальнейших биологических испытаний был отобран метансульфонат 6-[(4-метил-1-пиперазинил)метил]индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индоло-1,3(2*H*,10*H*)-диона.

Заключение. Получена серия производных индоло[1',7':1,2,3]пирроло[3',4':6,7]азепино[4,5-*b*]индол-1,3(2*H*,10*H*)-диона с высокой активностью в отношении протеинкиназы Pim-1.

В.В. Синайко¹, Ю.Г. Шанько², Э.А. Жаврид¹, П.Д. Демешко¹, Н.А. Артемова¹, П.М. Бычковский³, Т.Л. Юрkitович⁴ **ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ЛОКАЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ ПРЕПАРАТОМ ЦИСПЛАЦЕЛ В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОБЛАСТОМОЙ**

¹*РНПЦ онкологии и медицинской радиологии
им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь;*

²*РНПЦ неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь;*

³*УП «Унитехпром БГУ», Минск, Беларусь;*

⁴*НИИ ФХП БГУ, Минск, Беларусь*

Цель исследования. Оценить эффективность интраоперационной локальной химиотерапии препаратом цисплатин в лечении пациентов с глиобластомой (Grade IV) в зависимости от наличия или отсутствия признаков удаленной во время операции опухоли.

Материал и методы. В исследование включено 445 пациентов с глиобластомой головного мозга в возрасте 16–78 лет и клиническим статусом по шкале Карновского ≥50 %, которым после хирургического лечения был проведен курс послеоперационной лучевой либо химиолучевой терапии с темозоломидом, причем у 51 (11,5 %) из них использовался препарат цисплатин. Оценка объема удаления опухоли у всех пациентов проводилась на основании данных послеоперационного КТ- либо МРТ-исследования. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы SPSS Statistics v. 19. Для анализа влияния основных клинических факторов на выживаемость пациентов использовали модель пропорциональных рисков Кокса, выживаемость оценивали по методу Каплана–Мейера с использованием *log-rank*-теста, различия в выживаемости считали статистически значимыми при *p* < 0,05.

Результаты. По данным проведенного анализа интраоперационная химиотерапия препаратом цисплател является независимым прогностическим фактором, влияющим на выживаемость пациентов, только при их возрасте <54 лет и отсутствии признаков остаточной опухоли после хирургического лечения. Использование цисплатела в этой группе пациентов позволило статистически значимо увеличить медиану, 1-, 3- и 5-летнюю выживаемость без прогрессирования с $12 \pm 1,08$ мес, $50,9 \pm 5,2$, $10,7 \pm 3,3$ и $9,2 \pm 3,2$ % до $25 \pm 7,04$ мес, $75,0 \pm 10,8$, $23,4 \pm 11,6$ и $23,4 \pm 11,6$ % соответственно ($p = 0,032$); а медиану, 1-, 3- и 5-летнюю общую выживаемость – с $18 \pm 1,27$ мес, $79,6 \pm 4,2$, $19,9 \pm 4,3$ и $9,9 \pm 3,3$ % до $35 \pm 14,1$ мес, $100 \pm 6,4$, $45,0 \pm 13,2$ и $23,5 \pm 11,3$ % ($p = 0,048$) соответственно. В других группах пациентов влияния цисплатела на их выживаемость обнаружено не было.

Заключение. Интраоперационная химиотерапия препаратом цисплател улучшает результаты лечения пациентов с глиобластомой в возрасте <54 лет, у которых полное удаление опухоли во время операции подтверждено данными КТ- либо МРТ-исследования.

С.О. Соломевич, Т.Л. Юршинович, Н.В. Голуб, Р.И. Костерова, П.М. Бычковский, Н.К. Юршинович
ПОЛУЧЕНИЕ МИКРОГЕЛЕЙ С ВКЛЮЧЕННЫМИ МОЛЕКУЛАМИ ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА-2В И ЦИСПЛАТИНА

НИИ ФХП БГУ, Минск, Беларусь

Цель исследования. Определить оптимальные условия формирования микроразмерных систем, содержащих несколько активных веществ (интерферон альфа-2b (интерферон α -2b) и цисплатин).

Материалы и методы. В системе ортофосфорная кислота–мочевина синтезированы гидрогели фосфатов полисахаридов с содержанием фосфора 7,5–10,5 % и степенью набухания в интервале 24–140 г. Фосфаты крахмала (ФК) и декстрана (ФД) были охарактеризованы физико-химическими методами анализа (рентгеноструктурный анализ, ИК-спектроскопия, потенциометрическое титрование, элементный анализ, гравиметрия, метод динамического светорассеивания, сканирующая электронная микроскопия). Количество сорбированного белка определяли методом Бредфорда. Концентрацию цисплатина в микрогелях определяли методом хроматографии.

Результаты. Исследована сорбционная способность сформированных микрогелей на основе ФК и ФД по отношению к цисплатину, а также цисплатину в присутствии интерферона α -2b в зависимости от их концентрации в водных растворах, времени сорбционного процесса. Показано, что степень извлечения цисплатина микрогелями из растворов с концентрацией 0,2–2,0 мкг/мл увеличивается по мере роста степени набухания ФК, ФД и находится в интервале 40–70 %. Рассчитан коэффициент распределения молекул цисплатина между фазами внешних растворов и гидрогелей (2,6–3,0), на основании которого сделан вывод об участии фосфатных и карбаматных групп в процессе иммобилизации цисплатина. Установлено, что присутствие интерферона α -2b в растворе (8,2–120,0 мкг/мл) практически не влияет на избирательность

поглощения цисплатина микрогелями. Установлено, что скорость диффузии биомакромолекул и нейтрального низкомолекулярного противоопухолевого вещества в поры гидрогелей высокая: максимальное содержание активных веществ в составе ФД и ФК достигается в течение первых 30–60 мин сорбционного процесса. В опытах *in vitro* установлено, что микрогели с включенными интерфероном α -2b и цисплатином обладают пролонгированным эффектом, который проявляется в длительном высвобождении активных веществ (более суток).

Заключение. Впервые определены оптимальные условия получения пролонгированных форм нескольких активных веществ путем образования полиэлектролитных комплексов с белком и ионной, распределительной сорбции цисплатина на микрогелях фосфатов полисахаридов. Присоединение молекул цисплатина к полиэлектролитному комплексу (ФД(ФК):интерферон α -2b) может обеспечить снижение побочных эффектов, следовательно, более эффективное лечение некоторых злокачественных новообразований (меланома, гепатит С, цирроз печени).

М.Н. Стахеева¹, Д.В. Эйдензон², Н.В. Чердынцева¹, Е.Л. Чойнзонов¹, И.В. Богдашин³

ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КАК НОВЫЙ КРИТЕРИЙ ДЛЯ НАЗНАЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томск, Россия;

²NovoSpark Corporation, Ватерлоо, Канада;

³ООО «Международный центр медицинских прогнозов», Омск, Россия

Введение. В последние годы иммунотерапия становится все более значимым модусом противоопухолевого лечения. Особое воодушевление связано с внедрением в практику блокаторов иммуносупрессивных рецепторов, которые привели к улучшению показателей выживаемости для широкого ряда локализаций. Однако проблема эффективного назначения иммунотерапевтических препаратов остается нерешенной. При применении PD/PD-L блокаторов такой очевидный и логичный критерий, как экспрессия PD-L в опухоли, сопровождается терапевтическим ответом лишь в 34 % случаев, в то время как негативная экспрессия данного маркера в 20 % случаев вызывает ответ на проводимую таргетную терапию. По мнению ряда авторов, терапевтический эффект или его отсутствие связаны с вовлечением нескольких молекулярных путей, центральным звеном выступает возможность индукции и последующей реализации иммунного ответа на опухоль. При этом исследователи указывают на возможную вариабельность опосредующих механизмов в зависимости от индивида и типа опухоли. В своих работах на основании концепции иммуноредактирования опухолевого роста мы высказали предположение о существовании различных типов интегрального состояния иммунной системы у больных со злокачественными новообразованиями (ЗНО) – противоопухолевого и содействующего опухолевому росту. Мы предполагаем, что интегральное состояние иммунной системы может служить критерием эффективного назначения иммунотерапии.

Цель исследования. Продемонстрировать различия в интегральном состоянии иммунной системы у больных со ЗНО как обоснование для проведения эффективной противоопухолевой терапии.

Материалы и методы. В исследование вошли 247 больных со ЗНО, стадии I–III, из них 197 пациенток с раком молочной железы (РМЖ), 25 – с раком гортани (РГ) и 30 – с раком желудка (РЖ), проходивших лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Наблюдение проводили за больными РЖ в течение 1 года, РГ – 2 лет, РМЖ – 3 лет и выявляли случаи прогрессирования заболевания в отмеченные сроки. На этапе включения в исследование у всех больных были оценены основные параметры врожденного и адаптивного иммунитета. Затем, используя оригинальный метод визуализации многомерных данных корпорации NovoSpark (Канада), состояние иммунной системы представляли в виде визуальной кривой. Основой выявления сходства или различия в оригинальных данных является визуальная близость соответствующих этим данным образов, выражаемая в расстоянии Махаланобиса. Для формального описания различий в состоянии иммунной системы был использован метод дискриминантного анализа.

Результаты. Используя представление иммунной системы как многомерного взаимосвязанного целого, показали, что больные с наступившим прогрессированием опухоли и пациенты без прогрессирования исходно (до начала лечебных мероприятий) характеризовались различным состоянием иммунной системы: визуальные образы лежали в непересекающихся областях пространства многомерных признаков. Лямбда Вилкса (λ), отражающая статистическую значимость различий данных состояний, составляла для пациентов с РЖ 0,008, РГ – 0,005 и РМЖ – 0,059. Следовательно, для каждой из исследованных локализаций существует состояние иммунной системы, связанное со сдерживанием опухолевого роста, и состояние, ассоциированное с опухолевой прогрессией. Кроме того, у больных РМЖ мы оценили изменение состояния иммунной системы при проведении противоопухолевого лечения. Было показано, что различия в состоянии иммунной системы в зависимости от ее противоопухолевой или опухолестимулирующей направленности наблюдаются и в последующем. Так, после 2 курсов неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) λ составила 0,014, после 3–4 курсов НАХТ $\lambda = 0,029$, после операции $\lambda = 0,043$, через 1 год после завершения лечения $\lambda = 0,131$. Следовательно, на фоне проводимого лечения часть больных сохраняет неблагоприятное состояние иммунной системы, выявление которого может быть использовано как маркер неэффективного лечения.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют наличие у больных со ЗНО как противоопухолевого состояния иммунной системы, так и состояния, содействующего опухолевой прогрессии. Выявление противоопухолевого состояния иммунной системы может явиться критерием для назначения эффективной иммунотерапии, однако это предположение требует дальнейших исследований.

С.П. Степанова¹, Е.А. Длин¹, А.В. Финько¹, М.Е. Кукушкин¹, И.В. Салтыкова¹, Е.К. Белоглазкина¹, Н.В. Зык¹, А.Г. Мажуга^{1,2}

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЭТИЛ-2-(3-АРИЛСЕЛЕНОМОЧЕВИНЫ)АЦЕТАТОВ И (Z)-5-АРИЛИДЕН-3-АРИЛ-2-СЕЛЕНОКСОИМИДАЗОЛИН-4-ОНОВ

¹Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. До недавнего времени селеносодержащие соединения были непопулярны в органическом синтезе, медицинской химии и энзимологии из-за распространенного мнения об их высокой токсичности. Однако после открытия селеносодержащих ферментов (таких как глутатионпероксидаза, глицинредуктаза и т.д.) химия соединений селена стала более популярной. Некоторые селеносодержащие препараты уже применяются в клинической практике, например Ebselen (активность глутатионпероксидазы 140 ± 2 мкм/мин). Многие вещества, содержащие селен, обладают противоопухолевой, противовоспалительной, а также антиоксидантной активностями. Ранее в нашей лаборатории проводились синтез и биологические тестирования селеносодержащих мочевинов (активность глутатионпероксидазы 82 ± 4 мкм/мин) и гидантоинов (активность глутатионпероксидазы 79 ± 1 мкм/мин). Они показали высокую антиоксидантную активность. На основании полученных данных мы предполагаем, что синтезированные нами этил-2-(3-арилселеномочевино)ацетаты и (Z)-5-арилиден-3-арил-2-селеноксоимидазолин-4-оны будут проявлять высокую биологическую активность.

Цель исследования. Синтез и физико-химический анализ целевых селеномочевин и селеногидантоинов, а также доклинические исследования их биологической активности.

Материалы и методы. Целевые 3-арилселеномочевины были получены взаимодействием ароматических аминов с этилацетатизоселеноцианатом в присутствии органического основания. Синтез 2-селеногидантоинов подразумевал конденсацию полученных мочевинов с различными ароматическими альдегидами. Структура всех полученных соединений была подтверждена методами ЯМР-спектроскопии, ИК-спектроскопии, а также масс-спектроскопии высокого разрешения.

Результаты. Нами были разработаны методы получения ранее не описанных селеносодержащих мочевинов и 2-селеногидантоинов с использованием коммерчески доступных реагентов. Была получена библиотека соединений, которая впоследствии будет исследована на антиоксидантную активность. На данном этапе прослеживается влияние заместителей в ароматическом фрагменте на реакционную способность исследуемых соединений.

Заключение. В рамках данной работы был получен ряд ранее не описанных селеносодержащих препаратов, которые являются потенциальными антиоксидантами. В дальнейшем нами будут проведены биологические испытания и выявление соединений-лидеров.

Работа выполнена при поддержке РФФ, грант № 17-74-10065.

Е.Ф. Странадко¹, Т.И. Малова², Г.В. Пономарев³
**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РАКА
 И НЕОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: 25 ЛЕТ
 В РОССИИ**

¹ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия;

²ООО «Вета-Гранд», Москва, Россия;

³ФГБНУ «ИБМХ им. В.Н. Ореховича», Москва, Россия

Фотодинамическая терапия (ФДТ) — относительно новая медицинская технология, разрабатывавшаяся для лечения злокачественных новообразований. В России головным научным учреждением по лазерной тематике является Государственный научный центр лазерной медицины. Вполне естественно, что новая лазерная технология — ФДТ — разработана в нашем институте по инициативе и под руководством первого директора, члена-корр. РАМН, проф. О.К. Скобелкина. Еще в 80-е гг. в СССР в ряде институтов выполнялись экспериментальные исследования по воздействию фотосенсибилизаторов и лазерного излучения на злокачественные опухоли. Однако ни в одном из научно-исследовательских учреждений страны еще не проводились клинические испытания ФДТ ни с зарубежными, ни с отечественными фотосенсибилизаторами.

В ГНЦ лазерной медицины в 1991 г. было создано первое клиническое отделение ФДТ, подготовлена материально-техническая база для проведения клинической ФДТ: оборудовано помещение и приобретен лазер на красителе с аргоновой накачкой «Иннова-200» американской фирмы Coherent (длина волны светового излучения 630 нм, выходная мощность излучения в непрерывном режиме 5 Вт). Параллельно с этим в ГНЦ лазерной медицины совместно с техническими соисполнителями ГНЦ по программе разработки и внедрения метода ФДТ в России разрабатывались отечественные лазеры и нелазерные источники света для ФДТ с фотогемом — первым фотосенсибилизатором из группы производных гематопорфирина, созданным в МИТХТ им. М.В. Ломоносова под руководством проф. А.Ф. Миронова.

На основании доклинического изучения специфического фотосенсибилизирующего (световая токсичность) и общетоксического (темновая токсичность) действия фотогема в ГНЦ лазерной медицины были проведены предклинические испытания ФДТ перевиваемых опухолей на экспериментальных животных, подготовлен пакет документов, получено разрешение Фармакологического комитета СССР на клинические испытания, и уже в феврале 1992 г. в ГНЦ лазерной медицины мы приступили к клиническим испытаниям метода ФДТ с фотогемом.

В течение 1-го года методом ФДТ было пролечено 33 больных с различными злокачественными опухолями. Несмотря на тяжелый контингент подвергнутых ФДТ неоперабельных больных, у 30 (91 %) из них был получен положительный эффект, в том числе у 16 (48,5 %) — полная резорбция опухолей. Результаты 1-го года клинических испытаний ФДТ с фотогемом были доложены на Первом Европейском конгрессе «Фотодинамическая терапия рака» 1—4 сентября 1993 г. в Будапеште (Венгрия). Получив в результате первых курсов ФДТ полную или выраженную (>50 %) резорбцию поверхностных опухолей при отсутствии осложнений, мы с апреля 1992 г. начали применять внутритканевую ФДТ при раке молочной железы, а 1

сентября 1992 г. впервые в России применили эндоскопическую ФДТ при центральном раке нижней доли левого легкого с ателектазом. В октябре 1992 г. к программе клинической ФДТ рака присоединился МНИОИ им. П.А. Герцена (директор — академик РАМН, проф. В.И. Чиссов, руководитель отделения эндоскопии — проф. В.В. Соколов). В 1994 г. в ГНЦ «НИОПИК» (директор — член-корр. РАН, проф. Г.Н. Ворожцов) синтезирован и передан на клинические испытания фотосенсибилизатор 2-го поколения — фотосенс (сульфированный фталоцианин алюминия), длина волны возбуждающего света которого 675 нм позволяла успешно применять ФДТ при более массивных злокачественных опухолях. Впервые о клиническом применении фотосенса для ФДТ рака различных локализаций мы сообщили на Объединенной конференции Европейской лазерной ассоциации и Международного общества биомедицинской оптики, проходившей 9—10 сентября 1994 г. в городе Лилль (Франция). Уже с первых лет применения ФДТ рака, имея положительный опыт в лечении рака различных локализаций этим безоперационным, органосохраняющим методом, мы направили свои усилия на популяризацию метода в России. В 1995 г. в ГНЦ лазерной медицины проведен первый Всероссийский симпозиум с международным участием «Фотодинамическая терапия злокачественных новообразований». В дальнейшем такие симпозиумы проводились регулярно каждые 2 года с изданием материалов. Материалы этих симпозиумов были первыми печатными пособиями по ФДТ на русском языке. Благодаря этому, а также публикациям в отечественных журналах («Лазерная медицина», «Вопросы онкологии» и др.), в последующие годы клиническое применение метода ФДТ в России приобрело широкомасштабный характер.

В 1996—1998 гг. в Институте биомедицинской химии РАМН им. В.Н. Ореховича профессором Г.В. Пономаревым и его учениками создан ряд фотосенсибилизаторов второго поколения, производных хлорина e_6 (фотодитазин, радахлорин, фотохлорин и др.) с длиной волны возбуждающего света 662 нм, и уже в 1998 г. в ГНЦ лазерной медицины начаты клинические испытания Фотодитазина. Они были проведены на 78 опухолях как наружных, так и висцеральных локализаций у 72 больных. Получены хорошие результаты ФДТ: полной резорбции подверглись 70 % опухолей. Дальнейшему распространению метода ФДТ рака, а затем и целого ряда неопухолевых заболеваний способствовала энергичная работа генерального директора и всех сотрудников ООО «Вета-Гранд», а также Ассоциации онкологических организаций Сибири и Дальнего Востока и ЗАО «Компания Витамакс». В настоящее время фотосенсибилизаторы хлориновой группы являются наиболее востребованными как в России, так и за рубежом. В частности, фотодитазин применяется на всей территории России от западных границ до Владивостока и Камчатки. ООО «Вета-Гранд» обеспечивает потребности отечественной медицины как в онкологии, так и при ФДТ неопухолевых заболеваний. Методом ФДТ пролечены десятки тысяч больных со злокачественными опухолями различных локализаций и стадий процесса.

Внедрение ФДТ в клиническую практику значительно расширило возможности онкологов в безоперационном

лечении злокачественных новообразований у лиц пожилого возраста, отягощенных серьезными сопутствующими заболеваниями, а паллиативная ФДТ при далеко зашедших опухолевых процессах, ликвидируя тягостные симптомы обтурации жизненно важных органов, улучшает качество и увеличивает продолжительность жизни этой, к сожалению, многочисленной категории больных.

Наряду с расширением клинических, чисто лечебных возможностей, ФДТ как новая медицинская технология представляет возможность специалистам в разных отраслях медицины сделать и успешно защитить кандидатские и докторские диссертации. В наши дни ФДТ находит широкое применение в стоматологии, дерматологии, косметологии, гнойной хирургии и других отраслях медицины.

Е.Ф. Странадко, И.С. Фролкина, Т.Л. Айранетова
ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РАКА КОЖИ ПЕРИОРБИТАЛЬНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ
ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия

Лечение рака кожи перiorбитальной локализации представляет большие трудности для любого метода лечения, а для некоторых методов эта локализация вообще недоступна (например, для криодеструкции, химиотерапии) или противопоказана, как, например, для лучевой терапии, которая помимо грубых рубцово-склеротических последствий приводит к слепоте.

Методом выбора при лечении рака кожи перiorбитальной локализации стала фотодинамическая терапия (ФДТ). Щадящий характер ФДТ, вариабельность методики, возможность выбора различных путей прецизионного подведения лазерного излучения позволяют успешно применять ФДТ при самых сложных критических локализациях рака кожи в области глаз и вокруг них.

Наибольшие трудности для подведения света при ФДТ рака кожи этой локализации представляют опухоли в углах глаз и на веках. Опухоли в углах глаз, как правило, бывают многоузловыми, неправильной формы, что требует особого подхода к выбору полей светового воздействия. При расположении опухолей на веках основное внимание при облучении приходится уделять защите глазного яблока от попадания света.

Вследствие сложной конфигурации опухолей в углах глаз с распространением на веки, на кожу переносицы и скатов носа и необходимости многополюсного облучения из разных позиций, поля светового воздействия частично перекрываются, поэтому выбор дозы световой энергии и метода подведения света требуют особой тщательности.

Используемая эффективная плотность мощности лазерного излучения при наиболее часто встречающемся базально-клеточном раке кожи перiorбитальной локализации составляет 200 Дж/см². Если при контрольной оценке непосредственной реакции опухоли после светового воздействия возникают сомнения в адекватности повреждения всех очагов опухоли, плотность мощности следует довести до 300 Дж/см². Пациент обязательно должен быть предупрежден о неизбежном побочном действии ФДТ при данной локализации в виде отека век и окружающих тканей за счет внутритканевого рассеяния света, который не требует специального лечения и полностью ликвидируется через 2–3 дня.

*Н.В. Суворов¹, П.В. Островерхов¹, Н.С. Кирил¹,
М.А. Абакумов², А.Г. Мажуга^{3,4}, А.Ф. Миронов¹, М.А. Грин¹*
**РАЗРАБОТКА ТАРГЕТНЫХ
НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ
БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА А
ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РАКА**

¹МИТХТ, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»

Минздрава России, Москва, Россия;

³Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия;

⁴РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Повышение результативности фотодинамической терапии (ФДТ) в онкологии непосредственно связано с увеличением селективности накопления фотосенсибилизаторов (ФС) в опухолевой ткани. В настоящей работе рассмотрены 2 возможных подхода к таргетной доставке пигментов в опухоль.

В качестве ключевого соединения был взят дипропоксисибактериопурпуринимид (дипропокси-БПИ), метиловый эфир которого обладает высокой стабильностью, поглощает в области 800 нм и, как показали эксперименты на животных, проявляет высокую фотоиндуцированную активность. Для активного таргетинга ФС в опухоль при раке предстательной железы был получен конъюгат с векторным пептидом на простатический специфический мембранный антиген (PSMA), который сверхэкспрессирован на клетках рака предстательной железы.

Для пассивного таргетинга ФС в опухоль были получены наночастицы золота, ковалентно связанные с N-амино-БПИ за счет остатка липоевой кислоты, а также наночастицы золота и магнетита, покрытые плуроником (Pluronic F127), с нековалентно иммобилизованными пигментами. Наноструктурированные ФС представляют собой сферы с гидродинамическим диаметром до 100 нм, поглощают свет в области 795 нм и интенсивно флуоресцируют при 803 нм, что подтверждает наличие мономерной формы пигмента на поверхности наночастиц.

Селективность накопления полученных ФС была исследована на клетках опухолей различного генеза и животных-опухоленосителях.

Также нами были синтезированы аминоксидные производные бактериофеофорбида в качестве ФС. Для иммобилизации ФС были получены железооксидные магнитные наночастицы (МНЧ), ковалентно обшитые человеческим сывороточным альбумином и полиэтиленгликолем для повышения их устойчивости в физиологических условиях. После иммобилизации ФС на МНЧ было изучено биораспределение *in vitro* и *in vivo* методами флуоресцентной визуализации, конфокальной интравитальной микроскопии и МРТ. Таким образом, нами были получены наноструктурированные фотосенсибилизаторы, эффективность которых была доказана в ходе биологических испытаний *in vitro* и *in vivo*.

А.В. Суханова^{1,3}, М.А. Барышникова^{2,3}, И.Р. Набиев^{1,3}

**КОНЬЮГАТЫ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК
В ФУНКЦИОНАЛЬНОМ ИМЭДЖИНГЕ
И ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ
ТЕСТАХ**

¹Университет Реймса Шампань-Арденн, Реймс, Франция;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава
России, Москва, Россия;

³Национальный исследовательский ядерный университет
«МИФИ», Москва, Россия

Ранняя детекция злокачественных новообразований, и особенно микрометастазов и диссеминированных раковых клеток, является до сих пор непростой задачей. Внедрение высокочувствительных диагностических средств в онкологию улучшит диагностическую и лечебную стратегии с хорошими шансами на увеличение эффективности лечения пациентов. С этой целью мы демонстрируем в настоящей работе использование нанозондов, созданных на базе конъюгатов однодоменных антител (одАТ) и флуоресцентных квантовых точек (КТ), для одно- и двухфотонной детекции и имэджинга опухолевых клеток рака молочной железы и поджелудочной железы, экспрессирующих HER2 или СЕА онкомаркеры, в биологических образцах.

Существующие фотонные методы *in vitro* и *in vivo* диагностики и имэджинга страдают от фотовыцветания красителей и трудностей их детекции в оптически «шумном» клеточном и тканевом окружении. Как альтернативный материал, полупроводниковые КТ могут быть высокоэффективны для клеточного мечения и сенсинга. Нами показано, что при анализе тонких (5–10 мкм), заключенных в парафин, и толстых (50 мкм), заключенных в агарозу, срезов тканей удается детектировать HER2- и СЕА-положительные опухолевые клетки человека, инфильтрованные в окружающие их здоровые ткани или метастазирующие в различные органы, включая мозг, яичники, легкие, печень и лимфатические узлы. Показано, что нанозонды КТ-одАТ существенно превосходят традиционные флуоресцентно-меченные антитела по чувствительности детекции диссеминированных раковых клеток и микрометастазов. КТ-конъюгаты обладают более низким фотообесцвечиванием и более высокой яркостью флуоресценции, обеспечивая лучшую дискриминацию положительных сигналов по сравнению с фоном. Кроме этого, очень высокие сечения двухфотонного поглощения КТ и маленький размер нанозондов обеспечивают эффективный имэджинг толстых срезов тканей, недоступный для традиционных фотонных зондов. Таким образом, разработанные конъюгаты КТ-одАТ являются мощным средством для детекции микрометастазов и диссеминированных опухолевых клеток, которое поможет улучшить раннюю диагностику рака и отслеживать распространение опухоли.

А.Н. Тевяшова^{1,2}, Е.Н. Бычкова¹, Н.М. Малютина¹,

Л.Г. Деженкова¹

**РАЗРАБОТКА ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ
ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА
ОЛИВАМИДА, НОВОГО ПОЛУСИНТЕТИЧЕСКОГО
ПРОИЗВОДНОГО ОЛИВОМИЦИНА А**

¹ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия;

²РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. Выбор лекарственной формы имеет особое значение для достижения терапевтической эффективности и безопасности при разработке лекарственных препаратов. Оливамид (N,N-диметиламиноэтиламин 1'-дез-(2,3-дигидрокси-N-бутироил)-1'-карбоксооливомицина А) является производным антибиотика оливомицина А (ЛХТА-1599, М.Н. Преображенская и др. Патент РФ № 2453 552, 2012), отобранным в ходе предварительных исследований для углубленных доклинических исследований в качестве кандидата в противоопухолевые средства.

Цель исследования. Задача исследования заключалась в разработке готовой лекарственной формы оливамида, обладающей хорошей растворимостью в водных средах, характеризующейся высокой стабильностью при хранении и имеющей высокую противоопухолевую активность.

Материалы и методы. Оливамид получен реакцией перидатного окисления боковой цепи агликона оливомицина и последующим амидированием карбоксильной группы промежуточного интермедиата, оливомицина SA, 2-аминодиметиламином в присутствии конденсирующего агента PyBOP. Изучение стабильности готовой лекарственной формы проводили методом «ускоренного старения». Антипролиферативную активность определяли в МТТ-тесте.

Результаты. В ходе проведенных работ исследованы жидкие лекарственные формы, предназначенные для парентерального введения, и лиофильно высушенные лекарственные формы для парентерального введения, содержащие различные вспомогательные вещества. Для полученных прототипов готовых лекарственных форм для парентерального введения на основе оливамида изучены стабильность при хранении в условиях ускоренного старения и антипролиферативная активность в отношении опухолевых клеток линии НСТ-116. Установлено, что ни один из прототипов жидких лекарственных форм не обладал достаточной стабильностью в условиях ускоренного старения ввиду высокой лабильности фармацевтической субстанции оливамида в растворе. В качестве неактивных формообразующих вспомогательных веществ (наполнителей) для лиофильно высушенных лекарственных форм исследованы маннит и лактоза, в качестве пролонгатора действия — поливинилпирролидон, в качестве модификаторов действия и стабилизаторов — 3-гидроксипропил-β-циклодекстрин и полоксамер 188 (Pluronic® F-68), в качестве стабилизаторов — аскорбиновая кислота и бензоат натрия. На основании данных о качестве твердых готовых лекарственных форм (способности смеси давать устойчивую таблетку после лиофильной сушки), стабильности в условиях искусственного старения и антипролиферативной активности среди прототипов готовых лекарственных форм отобран оптимальный состав, обеспечивающий хорошую растворимость, высокую стабильность и высокую противоопухолевую активность готовой лекарственной форме на основе оливамида.

Заключение. В ходе проведенных работ разработана готовая лекарственная форма Оливамида, обладающая хорошей растворимостью, высокой стабильностью и противоопухолевой активностью. Готовая лекарственная форма «оливамид, лиофилизат для приготовления инъекций» передана на дальнейшие доклинические исследования.

Н.П. Ткаченко, М.А. Каплан, И.А. Замулаева, В.Н. Капинус, Е.В. Ярославцева-Исаева, Е.И. Селиванова, И.С. Спиченкова

ЭФФЕКТЫ СИСТЕМНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КОЖИ

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Калужская область, Россия

Введение. Известно, что циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) оказывают влияние на течение опухолевого процесса и эффективность лечения. Опухолевые стволовые клетки являются фракцией, резистентной к действию ионизирующего излучения и ряда химиопрепаратов.

Цель исследования. Анализ динамики количества ЦОК после локальной и системной фотодинамической терапии (ФДТ) у пациентов со злокачественными новообразованиями кожи, а также изучение механизмов системной ФДТ.

Материалы и методы. Обследовано 39 пациентов. Среди них у 11 больных базально-клеточным раком кожи (БКРК) сT1–2N0M0 проведена локальная ФДТ; у 9 пациентов с БКРК сT1–2N0M0 – локальная ФДТ в сочетании с системной; 19 пациентов с меланомой получили сеанс системной ФДТ. Методика сеанса системной ФДТ заключается в одновременном внутривенном введении фотосенсибилизатора хлоринового ряда фотолонна (1,0–1,2 мг/кг) и проведении лазерного облучения крови пациента на аппарате «Латус 0,4» ($\lambda = 662$ нм, мощность 20 мВт) при помощи световода, вводимого в кубитальную вену противоположной руки. Продолжительность сеанса – 50 мин. Сеанс локальной ФДТ проводился через 2 ч: световая доза 200–300 Дж/см², плотность мощности – 300–400 мВт/см². При помощи проточной цитометрии проводили идентификацию ЦОК по иммунофенотипу Ep-CAM (CD326)⁺CD45⁻. Среди ЦОК определяли опухолевые клетки, экспрессирующие маркер CD44, который применяется для выявления стволовых (стволовоподобных) клеток опухолей.

Результаты. Через 3 сут после лечения в подгруппе пациентов с БКРК, получавших локальную ФДТ в сочетании с системной, отмечено снижение частоты ЦОК более чем в 2 раза от исходной величины ($p < 0,05$). Наблюдалась тенденция ($p = 0,145$) к снижению частоты ЦОК в группе больных меланомой, получивших только сеанс системной ФДТ. Не было изменений частоты ЦОК в подгруппе пациентов с БКРК, получавших только локальную ФДТ. Подобным образом после лечения изменялось количество стволовых CD44⁺ клеток. Уменьшение частоты ЦОК сопровождалось повышением уровня их апоптотической гибели.

Заключение. Наши данные указывают на эффективность системной ФДТ у пациентов со злокачественными

новообразованиями кожи, отмечена элиминация ЦОК, включая стволовоподобные опухолевые клетки. Причиной уменьшения частоты ЦОК, предположительно, является гибель этих клеток, в том числе путем апоптоза. Системная ФДТ является эффективным дополнением к традиционным методам лечения опухолевых новообразований кожи.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОФИЛЬНОГО ПРОЛЕКАРСТВА МЕТОТРЕКСАТА В МЕМБРАНЕ ЛИПОСОМ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С СУБПОПУЛЯЦИЯМИ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

ФГБУН ИБХ РАН, Москва, Россия

Введение. Ранее нами показано, что липосомы размером 100 нм на основе природных фосфолипидов, несущие в липидном бислое метотрексат в виде липофильного пролекарства – диолеоилглицеридного сложного эфира (MTXDG), менее токсичны и эффективнее ингибируют рост опухоли по сравнению с интактным метотрексатом на модели Т-клеточной лимфомы мышей.

Цель исследования. Изучение влияния введения MTXDG в состав липосом на их взаимодействия с субпопуляциями лейкоцитов крови человека *ex vivo* с помощью цитофлуориметрии, а также установление вклада ганглиозид GM1 в экранирование липосом от захвата клетками моноцитарно-макрофагальной защитной системы. Известно, что ганглиозид GM1 стабилизирует липосомы в циркуляции.

Материалы и методы. Методом экструзии через поры размером 100 нм получали липосомы на основе яичного фосфатидилхолина (ePC) следующего состава: L1 – чистый ePC, L2 – ePC–MTXDG, 9 : 1 (мол.), L3 – ePC–MTXDG–ганглиозид GM1, 8 : 1 : 1 (мол.). Все препараты липосом содержали 1 мол. % флуоресцентно-меченного фосфатидилхолина. Свежую кровь здоровых доноров, собранную над гепарином, инкубировали с липосомами (10 : 1, об.) при 37 °C от 30 мин до 3 ч, затем образцы промывали на холоде, высаживали клетки центрифугированием и обрабатывали гипотоническим буфером, содержащим хлорид аммония, для лизиса эритроцитов. Чтобы исключить сигнал флуоресценции непоглощенных липосом, адсорбированных на поверхности клеток, использовали тушитель флуоресценции – кристаллический фиолетовый. Измерения проведены на проточном цитофлуориметре FC500 (Beckman Coulter, США) и проанализированы с помощью программного пакета CXAnalysis (Beckman Coulter, США).

Результаты. Гистограммы FACS-анализа свидетельствуют о принципиальной разнице в связывании с лейкоцитами липосом с MTXDG (L2 и L3) и липосом без пролекарства (L1). Уже через 30 мин инкубации 85 % нейтрофилов содержали липосомы L1, а через 2 ч – все 100 %. Моноциты более медленно поглощали липосомы L1, но к 2 ч инкубации практически вся популяция их захватывала. Напротив, липосомы L2 и L3 в течение 30 мин ассоциировали лишь с 15 и 11 % нейтрофилов соответственно. Затем пул отреагировавших нейтрофилов постепенно увеличивался – к 3 ч инкубации он достигал 61,5 и 70 % для липосом L2 и L3 соответственно; в ходе всей инкубации степень фагоцитоза этих липосом продолжала

увеличиваться. Моноциты же интенсивнее и быстрее поглощали липосомы L2 и L3: 20 % от их популяции уже через 30 мин показывали максимальный сигнал флуоресценции нейтрофилов. К концу инкубации пул положительных моноцитов не превышал 70 %. Поглощения липосом всех типов лимфоцитами не наблюдалось.

Заключение. Установлено, что липосомы, несущие в бислое липофильное пролекарство метотрексата, менее интенсивно поглощаются клетками моноцитарно-макрофагальной защитной системы по сравнению с липосомами из фосфатидилхолина без пролекарства. Введение ганглиозида GM1 в мембрану липосом не оказало значительного влияния на взаимодействия с лейкоцитами. Причиной большей устойчивости липосом с МТХДГ может быть отрицательный заряд, обусловленный остатком метотрексата молекулы пролекарства на поверхности мембраны.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-01 585.

И.Д. Трещалин, А.Н. Тевяшова, Э.Р. Переверзева
**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ
 ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО
 ПОЛУСИНТЕТИЧЕСКОГО АНТИБИОТИКА
 ОЛИВАМИДА**

ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия

Введение. Несмотря на значительные успехи в разработке методов профилактики, диагностики и лечения, проблема онкологических заболеваний является одной из наиболее важных в современной медицине. По данным мировой статистики, злокачественные опухоли различных локализаций занимают лидирующие позиции среди причин смертности населения в России и мире. Существующие методы хирургического, лучевого и лекарственного лечения онкологических заболеваний не всегда приводят к полному и стойкому излечению пациентов. Поэтому разработка новых противоопухолевых препаратов и методов борьбы со злокачественными образованиями является одной из приоритетных задач. В ФГБНУ НИИНА разработан оригинальный метод химической трансформации оливомицина и получен новый полусинтетический противоопухолевый препарат оливаמיד с улучшенными химиотерапевтическими свойствами.

Цель исследования. Выявление спектра противоопухолевой активности и отработка оптимального режима введения готовой лекарственной формы препарата оливаמיד.

Материалы и методы. Для проведения исследования использованы образцы готовой лекарственной формы оливамида. Исследования проведены на мышах BDF1 с перививаемыми опухолями — лимфоцитарной лейкемией Р-388, меланомой В-16, карциномой легкого Льюис (LLC) и аденокарциномой молочной железы мышей АК-755. Раствор готовой лекарственной формы вводили внутривентриально ежедневно в течение 5 дней в разовых дозах, равных 0,6 и 0,8 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали доксорубин (Докс) (адрибластин быстрорастворимый 10 мг производства Pfizer) в том же режиме в разовой дозе 1,5 мг/кг. Лечение начинали через 24 ч после внутрибрюшинной перививки Р-388 и через 48 ч после подкожной перививки солидных опухолей (В-16, LLC и АК-755).

Противоопухолевый эффект оценивали по увеличению средней продолжительности жизни по сравнению с нелеченым контролем (увеличение продолжительности жизни (УПЖ), %) в случае Р-388 и по торможению роста опухоли (ТРО, %) для солидных опухолей.

Результаты. При применении препарата во всех экспериментах лекарственной гибели мышей не наблюдалось. В отношении лейкоза Р-388 оливаמיד в обеих изученных дозах проявил достоверную противоопухолевую активность, сопоставимую с активностью Докс, примененного в оптимальном режиме. Максимальное УПЖ составило 62,5 % в группе, получавшей препарат в дозе 0,8 мг/кг. При лечении мышей с меланомой В-16 препарат проявил высокую противоопухолевую активность, значительно превосходящую активность Докс. Так, на 11-е сутки после перевивки опухоли ТРО для оливамида составило 94,1 % (0,6 мг/кг) и 98,8 % (0,8 мг/кг), а для Докс — 51,9 %. Уже на 14-е сутки противоопухолевая активность Докс не регистрировалась, тогда как активность оливамида сохранялась до 18–21 сут. При изучении противоопухолевой активности на мышах с АК-755 и LLC препарат проявил выраженную достоверную противоопухолевую активность, которая сохранялась до 18–21 сут после перевивки опухоли. Более выраженно этот эффект проявился при применении препарата в дозе 0,8 мг/кг в течение 5 дней.

Заключение. Таким образом, при ежедневном введении в течение 5 дней препарат проявляет высокую противоопухолевую активность в отношении лимфолейкоза Р-388, меланомы В-16, аденокарциномы молочной железы АК-755 и карциномы легкого Льюис (LLC), которая превышает противоопухолевую активность Докс.

*И.Д. Трещалин, А.Е. Щекотихин, М.И. Трещалин,
 Э.Р. Переверзева*

**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ
 ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ КОМПОЗИЦИЙ
 АНТРАФУРАНА НА МЫШАХ**

ФГБНУ НИИНА, Москва, Россия

Введение. Низкая биодоступность и нестабильность противоопухолевых средств антрахинонового ряда (доксорубин, рубомицин, митоксантрон) не позволяют вводить их пероральным путем. Поэтому для нового противоопухолевого препарата этого ряда — антрафурана, полученного в ФГБНУ НИИНА, были разработаны фармацевтические композиции для парентерального применения. Позже было показано, что при пероральном способе введения водный раствор субстанции антрафурана обладает противоопухолевой активностью. С целью повышения биодоступности и улучшения противоопухолевых свойств были разработаны фармацевтические композиции для получения пероральных дозированных лекарственных форм.

Цель исследования. Изучение противоопухолевой активности фармацевтических композиций для перорального применения и выявление лекарственной формы с наилучшими лечебными свойствами.

Материалы и методы. Исследование проведено на 100 мышах BDF1 самках с внутрибрюшинно перивитым лимфолейкозом Р-388 и подкожно трансплантированной карциномой легкого Льюис (LLC). Жидкую и твердую

фармацевтические композиции вводили в желудок при помощи шприца с металлическим зондом ежедневно в течение 5 дней с интервалом 24 ч в разовых дозах 60 и 80 мг/кг. Оценку эффекта проводили по критериям увеличения продолжительности жизни (УПЖ, %) и торможения роста опухоли (ТРО, %).

Результаты. Результаты исследования противоопухолевой активности в отношении Р-388 показывают, что фармацевтические композиции антрафурана при 5-кратном ежедневном пероральном введении в разовых дозах 60 или 80 мг/кг (суммарно 300 или 400 мг/кг) проявляют значимый (более минимального критерия) высокий достоверный противоопухолевый эффект. Для жидкой лекарственной формы УПЖ = 58–109 %, для твердой – УПЖ = 75–102 %. Препарат, примененный в обеих лекарственных формах в равных дозах, проявляет одинаковый противоопухолевый эффект. На мышцах с опухолью LLC наилучший противоопухолевый эффект на уровне ТРО = 85 % и ТРО = 72 % получен на 12-е сутки после трансплантации опухоли при большом числе мышей без опухоли. При этом соответственно дозе почти у половины мышей в группах до 22 сут наблюдения рост опухоли был ингибирован полностью. Переносимость фармацевтических композиций хорошая, и их применение не вызывает гибели мышей от токсичности.

Заключение. Данные о высокой достоверной противоопухолевой активности, полученные на этих моделях, позволяют сделать вывод о равной эффективности изученных фармацевтических композиций антрафурана.

В.Е. Филатов, В.К. Новоторцев, М.Е. Кукушкин,

А.Г. Мажуга, Е.К. Белоглазкина, Н.В. Зык

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ НОВЫХ СТРУКТУРНЫХ ТИПОВ СПИРО-ДИСПИРОИНДОЛИНОВ

Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Рост раковых опухолей в организме подавляется различными защитными механизмами, одним из которых является остановка клеточных циклов и отладка генома, либо запуск апоптоза под действием белка р53, называемого стражем генома. В ряде случаев в раковых клетках наблюдается гиперэкспрессия белка MDM2, являющегося ингибитором белка р53. Как следствие, активность последнего подавляется, что приводит к развитию раковой опухоли. Таким образом, новым направлением в терапии раковых заболеваний является использование непептидных низкомолекулярных ингибиторов онкобелка MDM2 с целью повышения активности опухолевого супрессора р53. Так, соединения-ингибиторы MDM2, содержащие в своей структуре спироиндолиновое ядро, имитирующее взаимодействие Trp23 из р53 с MDM2, заполняют в нем глубокий гидрофобный карман, являющийся наиболее важным сайтом связывания MDM2 и р53.

Цель исследования. Синтез новых структурных типов спиро- и диспироиндолинов и их производных для изучения их биологической активности и определения зависимости структура–активность.

Материалы и методы. Разработаны пути получения спироиндолинов по синтезу Штаудингера взаимодействием 3-(имино)индолин-2-онов с 2-замещенными уксусными кислотами, а также диспироиндолинов реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения продукта взаимодействия изатинов и N-замещенных аминокислот с производными 5-имино-2-тиоксо-тетрагидро-4H-имидазол-4-онов с использованием коммерчески доступных реагентов. Анализ получаемых соединений проводился с использованием комплекса физико-химических методов, таких как ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения и рентгеноструктурный анализ.

Результаты. Оработана методика получения новых структурных типов спиро- и диспироиндолинов и предложен препаративно удобный метод синтеза данных соединений. Исследована цитотоксичность полученных соединений на клеточных линиях LNCaP и PC-3 и определено предварительное соединение-лидер.

Заключение. По полученным в ходе работы результатам было установлено, что исследуемые классы спиро- и диспироиндолинов проявляют аффинность к сайту связывания белков р53/MDM2, что является основанием для продолжения исследований.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-33-60166.

Н.В. Филатова¹, М.А. Лапина¹, А.А. Балакина¹, Т.С. Ступина¹, В.А. Мумятова¹, М.М. Тригуб¹, В.Д. Сень¹, А.А. Терентьев^{1,2,3}

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА КЛЕТочНОЙ ГИБЕЛИ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ MCF-7 ПРИ ДЕЙСТВИИ АМИНОНИТРОКСИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ (IV)

¹ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область, Россия;

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

³НОЦ «Медицинская химия» МГОУ, Черноголовка, Московская область, Россия

Введение. Изучение клеточной гибели является важной задачей при разработке новых соединений с противоопухолевыми свойствами. В связи с высокой токсичностью комплексов платины проводится синтез и испытания биологических свойств новых платиновых соединений разной структуры. Ранее нами была исследована цитотоксичность аминитроксильных комплексов платины (IV) и экспрессия белка р53 при их действии на опухолевые клетки. Показано, что клетки аденокарциномы молочной железы MCF-7 обладают повышенной устойчивостью к действию комплексов платины (IV), что может быть связано с отсутствием функциональной каспазы-3.

Цель исследования. Изучение механизма клеточной гибели при действии аминитроксильных комплексов платины (IV).

Материалы и методы. Исследована серия аминитроксильных комплексов платины (IV) с общей структурой Pt(IV)(NH₃)(R•NH₂)Cl₂X₂, где R•NH₂ – нитроксильный радикал, а X – аксиальные лиганды, в качестве препаратов сравнения использовали цисплатин и сатраплатин. Эксперименты проводили на опухолевых клетках MCF-7.

Внутриклеточную локализацию белков p53 и p21 исследовали методом флуоресцентной микроскопии. Способность комплексов платины вызывать апоптоз исследовали методом проточной цитофлуориметрии после окрашивания клеток FITC-меченым аннексином V и йодистым пропидием, а также по состоянию белка PARP методом иммуноблоттинга. Для ингибирования эффекторных каспаз использовали Z-VEID-FMK (ингибитор каспазы-6) и Z-DEVD-FMK (ингибитор каспазы-3 и -7).

Результаты. Все исследуемые комплексы платины в концентрации IC_{50} вызывают накопление в ядре белка p53 через 12 ч и белка p21 через 24 ч после введения соединений. Результаты проточной цитофлуориметрии показали, что исследуемые комплексы платины вызывают остановку клеточного цикла в ранней S-фазе и индукцию процесса апоптоза. Исследуемые соединения вызывают каспазозависимую деградацию белка PARP, которая блокируется ингибиторами каспаз-3, -7 -6. В то же время даже при использовании ингибиторов каспаз наблюдается частичная деградация белка PARP.

Заключение. Аминитроксилированные комплексы платины (IV) в концентрации IC_{50} вызывают p53-зависимую, каспаза-3-независимую индукцию апоптоза в опухолевых клетках MCF-7.

Ю.П. Финашутина, Н.В. Голубцова, М.А. Барышникова, Н.А. Лыжко, В.А. Мисюрин, А.В. Мисюрин, З.С. Шпрых
ПОЛУЧЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ 4G1-D2 К РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНОМУ БЕЛКУ GAGE

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Применение моноклональных антител (МКА) широко распространено в онкологии для изучения опухолевых антигенов, иммунодиагностики и иммунотерапии опухолей. В качестве потенциальных антигенов для иммунотерапии широкого спектра онкологических заболеваний можно рассматривать, например, белки GAGE, относящиеся к группе раково-тестикулярных антигенов. Они экспрессируются в различных типах опухолей, но не экспрессируются в нормальных тканях, и вызывают иммунный ответ. Для оценки прогностических и терапевтических свойств антигенов семейства GAGE необходима проверка их экспрессии в опухолевых клетках на уровне белка с помощью высокоспецифичных МКА к GAGE.

Цель исследования. Получить МКА, специфичные к раково-тестикулярному антигену GAGE.

Материалы и методы. Мышей линии BALB/C в возрасте 3,5 мес 5-кратно иммунизировали (внутрибрюшинно) с интервалом 2 нед очищенным рекомбинантным белком GAGE1. Слияние проводили на 3-й день после последней иммунизации с использованием клеток мышиной миеломы NS-1, при помощи раствора полиэтиленгликоля ПЭГ/ДМСО (Sigma). Отбор продуцирующих клонов проводили методом непрямого ИФА и иммуноблоттинга. Фракцию иммуноглобулинов из асцитной жидкости очищали с помощью аффинной хроматографии. Экспрессию гена GAGE в клетках определяли с помощью ОТ-ПЦР.

Результаты. Получена гибридома IgG1 изотипа, стабильно продуцирующая МКА к белку GAGE. Полученные МКА 4G1-D2 специфически реагировали с белковыми лизатами клеточных линий меланом Mel II, Mel Ibg и линией эритромиелоидного лейкоза K562, экспрессирующими ген GAGE. Методом иммуноцитохимии выявлена также специфическая цитоплазматическая реакция у линии K562. С клетками крови здоровых доноров и линии легочных фибробластов WI-38, в которых отсутствует экспрессия гена GAGE, специфической реакции антител не выявлено.

Заключение. Полученные МКА могут быть использованы для широкого спектра научно-исследовательских и медицинских целей, в том числе для изучения функциональных свойств белка и для иммунодиагностики опухолей.

Е.Н. Фишер, Г.В. Раменская, В.В. Смирнов
ПЕПТИДЫ КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА

ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Наряду с сердечно-сосудистыми заболеваниями онкология является основной причиной смертности во многих странах мира. Из-за резистентности к лекарственным средствам и отсутствия избирательности действия существуют потребности в создании новых терапевтических препаратов. Пептидные препараты относятся к новым и перспективным подходам к лечению онкологических заболеваний. Обнаружение пептидных/белковых рецепторов и пептидов, влияющих на опухоль, позволит создать более эффективные и селективные противоопухолевые препараты. Короткие пептидные средства имеют ряд преимуществ по сравнению с другими лекарственными препаратами (ЛП). По сравнению с рекомбинантными белками и антителами пептиды обладают меньшей иммуногенностью, более высокой активностью, проникновением в органы или опухоли, а по сравнению с малыми органическими молекулами обладают более высокой эффективностью и селективностью.

Одним из классических примеров назначения пептидов в качестве противоопухолевых препаратов является использование агонистов гонадотропин-рилизинг гормона (аГнРГ), аналоги которого (гозерелин, трипторелин, бусерелин) являются ведущими препаратами в гормональной терапии рака предстательной железы. Учитывая длительность лечения при данном заболевании, целесообразно выпускать ЛП в виде пролонгированных лекарственных форм (подкожные капсулы, имплантаты). Длительное высвобождение имплантируемых препаратов способствует улучшению гонадной десенсибилизации, а также повышению удобства за счет сокращения частоты дозирования.

Помимо назначения пептидов при гормонально-зависимой опухоли, возможно также их применение при гормональных заболеваниях. Примером является синтетический аналог соматостатина октреотид, который применяется как при опухолях гастропанкреатической эндокринной системы, так и для лечения акромегалии. Производство терапевтических пептидов на сегодняшний

момент является перспективным направлением. За счет замены в химической структуре аминокислотных остатков возможно получить любой интересующий пептид. Короткие физиологически активные пептидные молекулы представляют наибольший интерес в качестве основы для разработки инновационных ЛП. В результате процесса одного синтеза на выходе можно получить сразу несколько продуктов (трипторелин и бусерелин). Роль пептидов представляет собой новую терапевтическую перспективу, направленную на повышение эффективности лечения и тем самым сокращение смертности от онкологии.

*Д.С. Хачатрян¹, Б.В. Егорова², Е.В. Матазова²,
А.О. Якушева², Д.В. Авдеев^{1,3}, М.Г. Медведев^{3,4},
В.Н. Осипов^{1,5}, С.Н. Калмыков^{2,6}*

УСЛОВИЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСОВ ТЕТРАПЕПТИДА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ДИАГНОСТИКИ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЕЙ

¹НИЦ «Курчатовский институт» – ИРЕА, Москва, Россия;

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

³Высший химический колледж РАН, Москва, Россия;

⁴ФГБУН ИНЭОС РАН, Москва, Россия;

⁵ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

⁶НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

Введение. Bi-213 ($T_{1/2} = 46$ мин) и радионуклиды многих редкоземельных элементов демонстрируют перспективность для терапии и диагностики раковых заболеваний. Исследуемый тетрапептид является коротким аналогом октреотиды – синтетического аналога соматостатина, используемого в настоящее время при лечении и диагностике нейроэндокринных опухолей, в том числе в составе радиофармпрепаратов.

Цель исследования. Получение и определение устойчивости комплексов конъюгата тетрапептида DOTA-N-Phe-D-Trp-Lys (ВОС)–Thr(OMe) с катионами висмута и европия.

Материалы и методы. Во всех экспериментах были использованы долгоживущие радионуклиды Bi-207 и Eu-152 и синтезированные конъюгаты тетрапептида с используемым в настоящее время хелатором DOTA. Подобраны условия для анализа связанного в комплекс и свободного катиона методом тонкослойной хроматографии с последующей автордиографией и γ -спектрометрией, с помощью которых далее были определены степени включения катиона в экспериментах по поиску оптимальных рН, концентрационного диапазона и температуры проведения реакции.

Результаты. Показано, что включение катиона на 90–95 % происходит в течение 30 мин (для катиона висмута) – 1 ч (для катиона европия) при 90 °С, что характерно для конъюгатов DOTA, и общей концентрации лиганда 1×10^{-4} М (для катиона висмута) и 3×10^{-4} М (для катиона европия). Связывание катионов европия происходит с одинаковым выходом при рН 5 и рН 8, в то же время связывание катионов висмута значительно (на 40 %) уменьшается при понижении значения рН с 8 до 5. Исследована устойчивость полученных комплексов в среде сывороточных белков и изотоническом растворе.

Заключение. Получены комплексы катионов висмута и европия с конъюгатом DOTA–тетрапептид, отработаны условия их получения и анализа. Показана устойчивость получаемых комплексов в сыворотке и изотоническом растворе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 18-03-00891.

*А.В. Холодова^{1,2}, В.П. Максимова², Т.И. Фетисов²,
Е.А. Лесовая^{2,3}, М.Г. Якубовская², К.И. Кирсанов²*
**ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ
КАК ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ
ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ**

¹МИТХТ, Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Россия

Введение. Накоплен ряд данных о способности некоторых химиопрепаратов необратимо ингибировать метилтрансферазы, эпигенетически модулируя экспрессию генов, а также об их влиянии на состояние гистонов, что играет большую роль в репарации повреждений ДНК, обеспечивая эффективность комбинированной химиотерапии. Однако к настоящему моменту эпигенетическая активность исследована лишь для ограниченной группы химиотерапевтических лекарственных средств.

Цель исследования. Изучение влияния противоопухолевых препаратов на эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов при помощи модельной системы HeLa TI.

Материалы и методы. В работе использовалась клеточная линия HeLa TI с эпигенетически репрессированным ретровирусным вектором, несущим репортерный ген *GFP*. Эпигенетическую активность соединений определяли методом проточной цитофлуориметрии по увеличению доли *GFP*-положительных клеток. Для изучения интегрального уровня метилирования ДНК использовался метод пиро-секвенирования с бисульфитной конверсией для некодирующих повторов LINE1, анализ изменений гистоновых модификаций проводили при помощи вестерн-блоттинга.

Результаты. При скрининге 21 препарата эпигенетическая активность была выявлена у 6 агентов. Доля *GFP*-положительных клеток возрастала относительно интактного контроля при действии: топотекана – в 2,9 раза, дексаметазона – в 3,6 раза, доцетаксела – в 4,2 раза, вальпроата – в 4,4 раза, бортезомиба – в 5,7 раза, вориностата – в 8,2 раза. При этом отсутствие активности было продемонстрировано для следующих препаратов: AZD 8055, LY 294002, висмодегид, вортманнин, доксорубин, олапариб, паклитаксел, понатиниб, рапамицин, флавоперидол, ифосфамид, циклофосфамид, цисплатин, эпозид. Для каждого из активных соединений был проведен анализ влияния агентов на интегральный уровень метилирования ДНК, а также уровень гистоновых модификаций. Было показано, что вориностат, топотекан и дексаметазон увеличивали долю модификаций H4K20me³ относительно контроля, в то время как вальпроат никак не влиял на их уровень в клетке.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-15-01526).

А.Г. Худошин

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ЦИФРОВОЙ ЭКОНОМИКИ К СОЗДАНИЮ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Elsevier B.V.

Согласно исследованиям, в настоящее время разработка нового препарата обходится фармацевтическим компаниям в сумму до 1,8 млрд долларов США. При этом ключевой стадией тестирования и отсева молекул-кандидатов являются дорогостоящие клинические исследования.

Из общей суммы до 35 % расходуется на стадии Hit-to-Lead и Lead optimization. Основной сложностью этих стадий является поиск молекул-кандидатов, сбалансированных между эффективностью и селективностью с одной стороны и ДМРК, физико-химическими свойствами, безопасностью и фармакологией потенциального препарата — с другой.

Все большую популярность в мире начинает приобретать новая парадигма использования инструментов цифровой экономики и в разработке активных фармацевтических ингредиентов (АФИ). Использование *in silico* моделей позволяет оценить потенциал новой молекулы с точки зрения токсикологии, клинической безопасности и эффективности на ранних стадиях разработки и тем самым произвести отсев молекул до начала биологических исследований. Такой подход приводит к ускорению и удешевлению разработки препаратов.

В докладе представлены примеры использования подхода на основе управления данными по взаимосвязи структуры и активности молекул с решением задач разработки АФИ. Использование базы данных Reaxys Medicinal Chemistry позволяет быстро решить такие задачи, как поиск структур антагонистов заданной мишени с низким сродством к *herg*-каналу, поиск информации по метаболизму определенного структурного фрагмента и многие другие. Показаны возможности исследования влияния структурных особенностей на биологическую активность соединений.

Э.Ф. Хуснутдинова¹, А.В. Петрова^{1,2}, Л.Н. Фасхутдинова^{1,2}, О.Б. Казакова¹

РАЗРАБОТКА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ НА ОСНОВЕ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ ТРИТЕРПЕНОИДОВ

¹УфИХ РАН, Уфа, Республика Башкортостан, Россия;

²БашГУ, Уфа, Республика Башкортостан, Россия

Введение. Разработка фармакологических агентов на основе доступных тритерпеноидов, активных по отношению к широкому спектру опухолевых клеточных линий, является актуальным направлением. Один из подходов предусматривает изменение строения нативных метаболитов путем проведения химических трансформаций с целью усиления нативных свойств, ослабления нежелательных побочных эффектов и проявления новых биологических эффектов. Нами осуществлена модификация бетулиновой, олеаноловой и урсоловой кислот с введением разнообразных гетероциклических фрагментов и изучена противоопухолевая активность *in vitro*.

Цель исследования. Разработка противоопухолевых агентов на основе доступных тритерпеноидов с введением гетероциклических агентов.

Материалы и методы. Синтез производных тритерпеноидов осуществлялся с использованием современных методов органической и биорганической химии в несколько стадий. Структура полученных соединений была установлена с помощью комплекса физико-химических методов (ЯМР, ИК, масс-спектрокопия). Экспериментальное исследование противоопухолевой активности *in vitro* соединений осуществлялось в Национальном институте онкологии (NCI), США, по отношению к клеткам 60 линий 9 различных опухолей человека. Клетки культивировали в присутствии соединений в концентрации 100 мкМ в течение 48 ч, после этого оценивали рост клеток.

Результаты. Осуществлен синтез серии производных тритерпеноидов ряда лупана, олеанана и урсана с амино-, пропаргиламиноалкил-, индоло-, оксо-, 1,2,3-триазолил- и другими фрагментами. Противоопухолевая активность *in vitro* обнаружена для 19-[1-метил-4-проп-2-ин-1-илпиперазин]-20,29,30-тринор-бетулина и 4-(4метилпиперазин-1-ил)бут-2-ин-1-ил-N-(3-гидрокси-28-оксоолеан-12-ен-28-ил)глицината в отношении клеток лейкоза и рака толстой кишки, N-пропаргиламиноалкилированных 2,3-индолоолеаноловой и урсоловой кислот с фрагментом N-метилпиперазина в отношении клеточных линий лейкоза SR и рака легкого NCI-H460, 2,3-индоло-уваола и 2,3-индоло-28-цианоэтокси-бетулина в отношении клеток рака легкого NCI-H522 и толстой кишки COLO 205. Наиболее активным является 30-бромо-20-оксо-3,28-ди-ацетокси-лупан цитотоксичный в отношении 6 клеточных линий 4 типов рака человека: соединение в концентрации 10 мкМ вызывало 100 % ингибирование роста и гибель клеток лейкоза MOLT-4, CCRF-CEM, рака легкого NCI-H522, меланомы LOX-IMVI и рака яичников OVCAR-3 от 1,69 до 69,59 %.

Заключение. В рамках данной работы была получена серия новых гетероциклических производных на основе тритерпеноидов различных классов, для которых изучена противоопухолевая активность *in vitro*. На основании связи «структура—активность» выявлено соединение-лидер для более углубленных исследований.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 16-33-60204.

В.В. Цепенко, Г.Ф. Михайлова, Т.Г. Шкаврова, Е.В. Голуб, В.Ю. Скоропад, Г.О. Рухадзе

НАРУШЕНИЕ СИНХРОННОСТИ РЕПЛИКАЦИИ ГЕНА *AURKA* У БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЕВОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

Введение. В настоящее время все большую актуальность приобретает диагностика онкологических заболеваний на основе биологических маркеров. Молекулярно-генетические маркеры позволяют провести дифференциальную диагностику заболевания, определить прогноз его развития и разработать таргетные терапевтические средства. Сегодня уже очевидно, что в возникновении

онкологических заболеваний играют роль и генетические, и эпигенетические факторы. Программа времени репликации является устойчивой эпигенетической характеристикой всех эукариотических хромосом. Несмотря на то что природа феномена нарушения времени репликации до конца не известна, большинство авторов исследований связывают это явление с последующим мутагенезом и геномной нестабильностью, сопровождающей раковый фенотип.

Цель исследования. Изучить нарушения синхронности репликации гена *AURKA* в лимфоцитах периферической крови больных с опухолевой и неопухолевой патологией желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Материалы и методы. Исследовались лимфоциты периферической крови в группах: 22 здоровых донора, 12 человек с заболеваниями ЖКТ неонкологического характера, 36 пациентов с солитарным раком желудка (РЖ) и 28 пациентов с первично-множественными злокачественными новообразованиями (ПМЗО). Исследование проводилось методом интерфазной флуоресцентной *in situ* гибридизации (I-FISH) с использованием прямомеченых ДНК-проб (Kreatech Diagnostics, The Netherlands).

Результаты. Среднегрупповая частота лимфоцитов с асинхронной репликацией (ЛАР) гена *AURKA* составила: $18,8 \pm 0,7$ % – в контрольной группе, $24,3 \pm 0,5$ % – в группе с неопухолевой патологией ЖКТ, $32,4 \pm 0,5$ % – в группе больных РЖ и $39,4 \pm 0,6$ % – в группе больных ПМЗО. Анализ показал, что все наблюдаемые различия в исследованных группах являются статистически значимыми ($p < 0,05$).

Заключение. Увеличение частоты ЛАР гена *AURKA* наблюдалось по мере увеличения геномной нестабильности в исследованных группах. Таким образом, онкологические больные, имеющие высокий уровень частоты ЛАР, могут быть отнесены в группу больных с потенциальным появлением второй опухоли. Кроме того, наличие высокой частоты ЛАР у здоровых людей позволяет предполагать наличие онкологического процесса, возможно на самых ранних стадиях.

Д.А. Церковский, Е.Л. Протопович, П.Д. Демешко
**РАДИОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОЛОН НА МОДЕЛИ
ГЛИОМЫ С6 В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO***
РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, а/г. Лесной, Минский район, Минская область, Беларусь

Цель исследования. Изучение радиосенсибилизирующей активности фотосенсибилизатора хлоринового ряда фотолон в эксперименте на культуре клеток глиомы С6.

Материалы и методы. Исследования в эксперименте *in vitro* были выполнены на культуре клеток глиомы С6 крыс (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Российская коллекция клеточных культур, Санкт-Петербург). Культуру клеток культивировали в среде DMEM с добавлением 10 % сыворотки эмбрионов коров и 50 мкг/мл гентамицина. Эксперименты проводили на суспензии клеток в экспоненциальной стадии роста. Фотосенсибилизатор фотолон (РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь) добавляли в суспензию в дозе 1 мкг/мл. Облучение осуществляли через 2 ч после инкубации фотолон в питательной

среде с применением γ -терапевтического аппарата Theratron в разовых очаговых дозах (РОД) 2, 4 и 6 Гр в непрерывном режиме. Группы исследования были следующими: 1) лучевая терапия РОД 2 Гр; 2) лучевая терапия РОД 4 Гр; 3) лучевая терапия РОД 6 Гр; 4) фотолон + лучевая терапия РОД 2 Гр; 5) фотолон + лучевая терапия РОД 4 Гр; 6) фотолон + лучевая терапия РОД 6 Гр. Эффективность проведенных воздействий оценивали через 24 ч на основании подсчета числа жизнеспособных опухолевых клеток в камере Горяева.

Результаты. В контрольной группе (без воздействий) число жизнеспособных клеток глиомы С6 составило 500 000. В группах 1 и 4 – $286\,000 \pm 16\,250$ и $178\,750 \pm 8\,750$ ($p = 0,000\,033$) соответственно. В группах 2 и 5 – $260\,000 \pm 32\,500$ и $167\,500 \pm 30\,000$ ($p = 0,049$) соответственно. В группах 3 и 6 – $231\,250 \pm 38\,750$ и $147\,500 \pm 20\,000$ ($p = 0,074$) соответственно.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о высокой чувствительности клеток глиомы С6 к ионизирующему излучению. Вместе с тем предварительное добавление в питательную среду фотолон с последующим облучением в РОД 2, 4 и 6 Гр позволяет существенно сократить число жизнеспособных опухолевых клеток по сравнению с воздействием одного ионизирующего излучения. Продемонстрированные результаты являются предварительными, что делает актуальным и необходимым проведение дальнейших исследований в данной области.

Д.А. Церковский, Е.Л. Протопович, П.Д. Демешко
**ВЛИЯНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
С ФОТОЛОНОМ НА ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИОНИЗИРУЮЩЕГО
ИЗЛУЧЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КУЛЬТУРЕ
КЛЕТОК ГЛИОМЫ С6**

РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, а/г. Лесной, Минский район, Минская область, Беларусь

Цель исследования. Изучение противоопухолевой эффективности комбинации ионизирующего излучения и фотодинамической терапии (ФДТ) с фотолоном в эксперименте на культуре клеток глиомы С6.

Материалы и методы. Исследования в эксперименте *in vitro* были выполнены на культуре клеток глиомы С6 крыс (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Российская коллекция клеточных культур, Санкт-Петербург). Культуру клеток культивировали в среде DMEM с добавлением 10 % сыворотки эмбрионов коров и 50 мкг/мл гентамицина. Эксперименты проводили на суспензии клеток в экспоненциальной стадии роста. Фотосенсибилизатор фотолон (РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь) добавляли в суспензию в дозе 1 мкг/мл. Облучение осуществляли через 2 ч после инкубации фотолон в питательной среде с применением γ -терапевтического аппарата Theratron в разовых очаговых дозах (РОД) 2, 4 и 6 Гр в непрерывном режиме. Фотооблучение производили непосредственно после воздействия ионизирующим излучением с помощью полупроводникового лазера PDT diode laser (ЛЭМТ, Беларусь, $\lambda = 660 \pm 5$ нм) в экспозиционной дозе 5 Дж/см². Группы исследования были следующими: 1) фотолон + лучевая терапия РОД 2 Гр; 2) фотолон + лучевая терапия РОД 4 Гр; 3) фотолон + лучевая

терапия РОД 6 Гр; 4) фотолон + лучевая терапия РОД 2 Гр + ФДТ; 5) фотолон + лучевая терапия РОД 4 Гр + ФДТ; 6) фотолон + лучевая терапия РОД 6 Гр + ФДТ. Эффективность проведенных воздействий оценивали через 24 ч на основании подсчета числа жизнеспособных опухолевых клеток в камере Горяева.

Результаты. В контрольной группе (без воздействий) число жизнеспособных клеток глиомы С6 составило 500 000. В группах 1 и 4 – $178\,750 \pm 8750$ и $83\,750 \pm 18\,750$ ($p = 0,00035$) соответственно. В группах 2 и 5 – $167\,500 \pm 30\,000$ и $105\,000 \pm 22\,500$ ($p = 0,116$) соответственно. В группах 3 и 6 – $147\,500 \pm 20\,000$ и $87\,500 \pm 7500$ ($p = 0,013$) соответственно.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о синергетическом влиянии ионизирующего излучения и фотооблучения на сенсibilизированные фотолоном опухолевые клетки глиомы С6 крыс. По нашим данным, наиболее оптимальным является комбинированное применение ионизирующего излучения в РОД 2 Гр и последующая ФДТ в экспозиционной дозе 5 Дж/см². Проведенные результаты являются предварительными, что делает актуальным и необходимым проведение дальнейших исследований в данной области.

Д.А. Церковский, Т.П. Артемьева

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ОНКОДЕРМАТОЛОГИИ (НА ПРИМЕРЕ БАЗАЛЬНО-КЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЫ КОЖИ)

РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, а/г. Лесной, Минский район, Минская область, Беларусь

Цель исследования. Оценка переносимости и противоопухолевой эффективности метода фотодинамической терапии (ФДТ) в лечении пациентов с базально-клеточным раком кожи (БКРК).

Материалы и методы. Данное исследование выполнено у 95 пациентов с гистологически верифицированным БКРК (T1N0M0, I стадия), средний возраст $58,9 \pm 12,8$ года. Первичные опухоли были в 90,5 % наблюдений ($n = 86$), рецидивные – в 9,5 % ($n = 9$). Фотосенсибилизатор фотолон (РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь) вводился внутривенно капельно в дозах 2,0–2,5 мг/кг. Фотооблучение производили через 2,5–3,0 ч после введения фотолона с использованием полупроводникового лазерного аппарата «УПЛ ФДТ лазер» (ЛЭМТ, Беларусь, $\lambda = 660 \pm 5$ нм) в экспозиционных дозах от 50 до 300 Дж/см² ($<100 - n = 41$ (43,1 %), $100-150 - n = 38$ (40 %) и $>150 - n = 16$ (16,9 %)). Оценку переносимости производили на основании анализа частоты и выраженности нежелательных реакций (СТСАЕ v. 4.0). Оценку противоопухолевой эффективности осуществляли по критериям ВОЗ, основываясь на данных клинического и цитологического исследования через 1–3 мес после проведенного лечения.

Результаты. Нежелательных реакций, связанных с введением фотолона и фотооблучением, зарегистрировано не было. Частота полных и частичных регрессий у пациентов с первичными опухолями составила 91,9 % ($n = 79$) и 5,8 % ($n = 5$) соответственно. Объективный терапевтический эффект достигнут у 97,7 % пациентов. Частота полных и частичных регрессий у пациентов с рецидивны-

ми опухолями составила 88,9 % ($n = 8$) и 11,1 % ($n = 1$). Объективный терапевтический эффект достигнут у 100 % пациентов. Частота локальных рецидивов составила: через 1 год – 4,2 %; через 2 – 4,2 %; через 3 – 5,3 %; через 4 – 5,3 % и через 5 лет – 15,8 %. Локальные рецидивы выявлены при использовании экспозиционной дозы менее 100 Дж/см² – в 50 % ($n = 4$); 100–150 Дж/см² – в 37,5 % ($n = 3$) и >150 Дж/см² – в 12,5 % случаев ($n = 1$). Во всех наблюдениях отмечен хороший косметический результат (в зоне фотооблучения имело место формирование соединительно-тканного рубца без признаков опухолевого роста).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ФДТ является высокоэффективным методом лечения БКРК I стадии, с минимальным риском развития нежелательных реакций и осложнений и может применяться в тех случаях, когда традиционные методы противопоказаны.

Д.А. Церковский, Т.П. Артемьева

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОК С ДИСТРОФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ВУЛЬВЫ

РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, а/г. Лесной, Минский район, Минская область, Беларусь

Цель исследования. Оценка переносимости и эффективности лечения пациенток с лейкоплакией вульвы методом фотодинамической терапии (ФДТ) с фотолоном.

Материалы и методы. В исследование включено 55 пациенток с гистологически верифицированной лейкоплакией вульвы, средний возраст $54,8 \pm 13,5$ года. Фотосенсибилизатор фотолон (РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь) вводили в дозах 1,5–2,5 мг/кг. Фотооблучение (ФО) патологических очагов производили через 2,5–3,0 ч после введения фотолона с применением полупроводникового лазера «УПЛ ФДТ лазер» (ЛЭМТ, Беларусь, $\lambda = 660 \pm 5$ нм). Экспозиционная доза света составила 50 Дж/см², плотность мощности – 100–170 мВт/см² и длительность облучения одного очага – 5–10 мин. Число сеансов лечения варьировало от 2 до 9 в зависимости от распространенности патологического процесса. Лечение проводили под медикаментозным обезболиванием. Оценку эффективности осуществляли на основании данных клинического и цитологического исследования через 1–3 мес после проведенного лечения.

Результаты. У всех пациенток в зоне ФО в течение 4–7 сут было отмечено формирование типичных признаков фотохимического некроза. При локализованном процессе у всех пациенток отмечена полная регрессия патологически измененных очагов; при распространенном – лечение продолжается. При частичной излеченности период купирования объективных жалоб (зуд, жжение и др.) составил 6 мес. Срок наблюдения варьирует от 1 до 42 мес. Полная эпителизация раневого дефекта происходила в течение 4–6 нед после проведенного лечения.

Заключение. Полученные результаты позволяют рекомендовать ФДТ пациенткам с лейкоплакией вульвы как эффективную и хорошо переносимую альтернативу традиционным методам лечения.

Д.А. Церковский, Т.П. Артемьева, Н.А. Петровская,
А.Н. Мазуренко

**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ
В КЛИНИЧЕСКОЙ ОНКОЛОГИИ. ОПЫТ
ОТДЕЛЕНИЯ ГИПЕРТЕРМИИ
И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РНПЦ ОМР
ИМ. Н.Н. АЛЕКСАНДРОВА**

РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, а/г. Лесной, Минский
район, Минская область, Беларусь

Цель исследования. Обобщение клинического опыта применения метода фотодинамической терапии (ФДТ) и его безопасности и противоопухолевой эффективности у пациентов с предопухолевыми заболеваниями, доброкачественными и злокачественными новообразованиями в РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова.

Материалы и методы. На базе отделения гипертермии и ФДТ в период с 2001 по 2017 г. было пролечено 1040 пациентов с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (ЦИН) I–III степени ($n = 500$), базально-клеточным раком кожи (БКРК, $n = 140$), меланомой хориоидеи больших размеров ($n = 120$), внутрикожными метастазами меланомы кожи ($n = 70$), лейкоплакией полости рта ($n = 80$), дистрофическими заболеваниями вульвы ($n = 60$), поверхностным раком мочевого пузыря ($n = 70$). Системная ФДТ проведена более чем у 100 пациентов с распространенными новообразованиями шейки матки, яичников, меланомой кожи и др. В качестве фотосенсибилизатора применяли фотолон (РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь), вводимый в дозах от 1 до 2,5 мг/кг. В качестве источников лазерного излучения использовали полупроводниковые лазеры «УПЛ ФДТ лазер» (ЛЭМТ, Беларусь, $\lambda = 665 \pm 5$ нм), PDT diode laser (ЛЭМТ, Беларусь, $\lambda = 660 \pm 5$ нм). Экспозиционные дозы фотооблучения варьировали в широких диапазонах (от 10 до 600 Дж/см²) в зависимости от нозологической формы новообразования, его клинической формы, степени распространенности, глубины инвазии. Безопасность и переносимость сеансов ФДТ оценивали на основании анализа частоты и выраженности нежелательных реакций и явлений (СТСАЕ v. 3.0, 4.0). Методами оценки противоопухолевой эффективности были клинический и морфологический.

Результаты. Нежелательные реакции I–II степени были выявлены не более, чем в 3 % наблюдений и соответствовали I–II степени. Частота полных регрессий патологических очагов составила у пациентов с ЦИН – 94 %, с БКРК – 91 %, с меланомой хориоидеи – более чем 70 %, с лейкоплакией полости рта – 95 %, с дистрофическими заболеваниями вульвы – более чем 90 % случаев.

Заключение. ФДТ является современной и высокоэффективной опцией в лечении широкого спектра опухолевых и предопухолевых заболеваний. Метод отличается от традиционных своей простотой в применении, безопасностью, относительной дешевизной, возможностью повторного применения (при необходимости), отсутствием развития резистентности и минимальным риском возникновения серьезных нежелательных реакций.

Ю.Б. Черных¹, А.К. Голенков¹, Т.А. Митина¹,
Е.В. Трифонова¹, Е.В. Катаева¹, Л.Л. Высоцкая¹,
К.А. Белоусов¹, С.Г. Захаров¹, Е.Ф. Клинушкина¹,
Е.Ю. Рыбалкина², С.С. Шушанов²

**ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *LRP*
НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ
ПЛАЗМОЦИТОВ К БОРТЕЗОМИБУ *IN VIVO*
И *IN VITRO***

¹ГБУЗ МО «МОНИКИ им М.Ф. Владимирского»,
Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава
России, Москва, Россия

Введение. Множественная лекарственная устойчивость, обусловленная активностью белков-транспортёров, развивается за счет активации генов, кодирующих эти белки. Гиперэкспрессия генов, ассоциированных с развитием множественной лекарственной устойчивости, рассматривается как один из факторов, способствующих развитию резистентности опухолевых плазмочитов к воздействию бортезомиба – базового препарата для лечения множественной миеломы (ММ) в первой линии.

Цель исследования. Определение влияния экспрессии гена *LRP* на чувствительность к бортезомибу опухолевых плазмочитов, полученных из аспирата костного мозга пациентов с ММ III стадии и в клеточных линиях ММ человека.

Материалы и методы. Интенсивность экспрессии гена *LRP* исследовали методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в мононуклеарной фракции аспиратов костного мозга 15 пациентов с впервые диагностированной ММ III стадии по классификации Дьюри–Салмон и в клеточных линиях ММ человека RPMI8226 и IM9. Чувствительность опухолевых плазмочитов к бортезомибу *in vivo* оценивали по проценту снижения абсолютного количества парапротеина после 6 курсов бортезомибсодержащего лечения, а также по показателю общей выживаемости (ОВ). ОВ анализировали по методу Каплана–Мейера, с применением критерия Кокса–Мантла. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. В клеточных линиях ММ экспрессию гена *LRP* исследовали до и после продолжительного культивирования клеток на среде, содержащей бортезомиб.

Результаты. Экспрессия гена *LRP* выявлена у 10 (67 %) из 15 больных до начала цитостатической терапии. Интенсивность экспрессии гена была неоднородной. Нами выделены 2 подгруппы пациентов: подгруппа пациентов с высокой экспрессией гена *LRP* и подгруппа пациентов с низкой интенсивностью/отсутствием экспрессии гена. В подгруппах не выявлено достоверного снижения количества парапротеина до и после индукционного лечения бортезомибсодержащими программами полихимиотерапии. Анализ ОВ в подгруппах показал, что высокая экспрессия гена *LRP* ассоциирована с короткой медианой ОВ больных на бортезомибсодержащем лечении (17 мес против 62 мес при низкой экспрессии гена, $p < 0,05$). *In vitro* клетки IM9, слабо экспрессирующие *LRP*, более чувствительны к бортезомибу, чем клетки RPMI8226, в которых экспрессия гена *LRP* выражена умеренно ($IC_{50} = 0,8 \pm 0,3 \times 10^{-8}$ и $2,7 \pm 0,6 \times 10^{-8}$ М соответственно). Культивация

клеточных линий на среде, содержащей бортезомиб, в течение 90 дней сопровождалась повышением IC_{50} бортезомиба, а также повышением интенсивности экспрессии гена *LRP* в 2 клеточных линиях ММ человека.

Заключение. Совокупность сведений об отрицательном влиянии высокой экспрессии гена *LRP* на ОВ больных с ММ на бортезомибсодержащем лечении и повышении интенсивности экспрессии гена *LRP* при формировании резистентности к бортезомибу позволяет сделать предположение о влиянии высокой интенсивности экспрессии гена *LRP* на развитие устойчивости опухолевых плазмидов к бортезомибу.

*М.Р. Четыркина*¹, *С.А. Калужный*², *Т.А. Богуш*²,
*М.А. Ястребова*¹, *А.М. Щербаков*², *И.А. Мамичев*²,
*А.А. Каменский*¹

ПЛАСТИЧНОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО ФЕНОТИПА КЛЕТОК ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА ПРИ АДАПТАЦИИ К РОСТУ В КУЛЬТУРЕ

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Важнейшей характеристикой опухолевых клеток, связанной с агрессивностью течения заболевания и эффективностью химиотерапии, является эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП). При исследовании рака яичников (РЯ) мы показали ассоциацию ЭМП при генерализации процесса по брюшине и ростом опухолевых клеток в асцитической жидкости по сравнению с первичной солидной опухолью. Учитывая, что источником клеточных культур, широко используемых в исследованиях, являются не только солидные опухоли, но и экстрацеллюлярные жидкости, представляется важной оценка «сохранности» эпителиального фенотипа при адаптации клеток к росту *in vitro*.

Цель исследования. Количественно оценить уровень, интенсивность и интегральный индекс экспрессии важнейшего маркера ЭМП – виментина в клетках культур, полученных из эпителиальных опухолей, различающихся по форме роста в организме.

Материалы и методы. Исследованы клеточные линии, полученные из плевральной жидкости (MCF-7, T-47D), молочива (HBL-100), солидного узла (BT-474, HCC1937) больных раком молочной железы и асцитической жидкости (SCOV-3) пациентки с РЯ. Проведен иммунофлуоресцентный анализ, ассоциированный с проточной цитофлуориметрией. Использованы первичные антитела к виментину (SP20, BIOCARE) и вторичные – конъюгированные с красителем DyLight650 (Abcam). Критерием Колмогорова–Смирнова определены уровень экспрессии – число специфически флуоресцирующих клеток в % по отношению к контролю; интенсивность (усл. ед.) – отношение средней специфической интенсивности флуоресценции к аналогичному показателю в контроле; интегральный индекс – произведение доли клеток, экспрессирующих виментин, и интенсивности.

Результаты. В клетках BT-474 уровень экспрессии был ниже более чем в 2 раза (29 % против 71 %), интенсивность – в 3 раза (2,1 против 6,4), а индекс – более чем

в 6 раз (0,7 против 4,8) по сравнению с клетками HCC1937. Не выявлено высоких показателей экспрессии виментина в клетках MCF-7 и T-47D: уровень составил 8 и 20 %, интенсивность – 1,1 и 1,3, индекс – 0,2 и 0,4. В клетках SCOV-3 и HBL-100 показатели экспрессии оказались в разной степени высокими: уровень – 51 и 75 %, интенсивность – 3,6 и 6,8, индекс – 1,9 и 5,1.

Заключение. При использовании виментина в качестве маркера ЭМП показано, что фенотип опухоли в организме не всегда предопределяет фенотип опухолевых клеток, адаптированных к росту *in vitro*. Полученные результаты согласуются с данными литературы о пластичности молекулярного фенотипа опухолевых клеток и демонстрируют необходимость контроля «сохранности» эпителиального фенотипа клеточных культур при разного рода исследованиях эпителиальных клеток.

*Работа поддержана грантами РФФИ
№ 18-015-00422, 16-04-00347.*

*Г.З. Чкадуа, О.С. Бутова, В.А. Мисюрин, А.А. Вартамян,
А.А. Солодовник, Т.Т. Кондратьева, М.А. Барышникова*
**КЛЕТКИ МЕЛАНОМЫ MEL A052 КАК ИСТОЧНИК
ОПУХОЛЕВЫХ АНТИГЕНОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ
ДЕНДРИТНОКЛЕТОЧНЫХ ВАКЦИН**
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава
России, Москва, Россия

Введение. Диссеминированная меланома кожи является высокоагрессивным заболеванием с низкой 5-летней выживаемостью. После удаления метастазов вакциноterapia дендритными клетками в адьювантном режиме дает возможность пациентам с III и IV стадией меланомы достигать стойкой многолетней ремиссии.

Цель исследования. Получение клеточной линии, которая может служить источником опухолевых антигенов для создания дендритноклеточных противоопухолевых вакцин.

Материалы и методы. В работе были использованы методы культивирования клеток, проточная цитофлуориметрия, RT-PCR, морфологическое исследование, метод стандартной цитогенетики.

Результаты. Клетки Mel A052 получали стандартными методами из опухолевого материала метастаза в лимфатический узел пациентки с IV стадией меланомы. После диссоциации клетки культивировали при 37 °C в атмосфере 5 % CO₂ в среде RPMI-1640 с 2 % сывороткой крови человека. Клеточная линия Mel A052 имела полусуспензионный характер роста. Цитологическое исследование показало, что линия Mel A052 представлена клетками с выраженным полиморфизмом, наряду с округлыми неправильной полигональной формы встречаются клетки звездчатой и веретенообразной формы с длинными отростками. Исследование экспрессии поверхностных антигенов выявило полное отсутствие главного комплекса гистосовместимости I и II классов. Более 90 % клеток экспрессировали CD54 – молекулы адгезии, и CD117 или c-kit, что предполагает высококачественный фенотип клеток Mel A052. В клетках Mel A052 мы наблюдали практически нулевую экспрессию 8 самых распространенных раково-тестикулярных генов. В 100 % клеток обнаружена

изохромосома 17 с потерей короткого плеча, где расположен ген *TP53*. Наличие большого количества геномных нарушений предполагает экспрессию широкого спектра опухолевых антигенов.

Заключение. Для создания дендритноклеточной вакцины может быть использован лизат клеточной линии Me1 A052 в качестве источника опухолевых антигенов в тех случаях, когда опухолевый материал самого пациента недоступен.

*А.Д. Чупров¹, С.Ю. Маклакова¹, В.В. Гонко¹,
И.В. Салтыкова¹, Е.К. Белоглазкина^{1,2}, Н.В. Зык¹,
А.Г. Мажуга^{1,2,3}*

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ ЛИГАНДОВ ASGPR

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

²НИТУ «МИСиС», Москва, Россия;

³РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

Введение. На поверхности клеток гепатоцеллюлярной карциномы в большом количестве представлен асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR). Селективное связывание с остатками галактозы и N-ацетилгалактозамина, а также способность переносить через мембрану высокомолекулярные соединения делают ASGPR удобной мишенью для направленного транспорта терапевтических агентов. На сегодняшний день известен ряд подобных систем на основе наночастиц, в то время как ковалентные конъюгаты лекарств и лигандов ASGPR изучены мало.

Цель исследования. Синтез и биологическое тестирование конъюгатов лигандов ASGPR с противоопухолевым препаратом паклитакселом.

Материалы и методы. Полученные вещества исследовали с помощью спектроскопии ЯМР ¹H и ¹³C, масс-спектрометрии высокого разрешения, ВЭЖХ-МС. В работе использовали клеточные линии HepG2 (клетки гепатоцеллюлярной карциномы человека).

Результаты. Ранее в нашей лаборатории был получен лиганд ASPGR разветвленного строения, содержащий 3 углеводных остатка. Аффинность исследуемого соединения оказалась на несколько порядков выше, чем аффинность нативного лиганда N-ацетилгалактозамина (константы диссоциации комплексов рецептор–лиганд равны 2.16 и 691.9·10³ нМ соответственно). На его основе был синтезирован ряд конъюгатов с известным противоопухолевым препаратом – паклитакселом. Для конъюгатов было произведено измерение цитотоксичности на клеточной линии HepG2 с использованием стандартного MTS-теста. Для одного из конъюгатов наблюдали эффект, сравнимый с исходным препаратом. С помощью иммунофлуоресцентной микроскопии провели морфологические исследования ядра и цитоскелета клеток. После обработки клеток паклитакселом наблюдались характерные изменения: нарушения процесса митоза, большое количество ненормальных ядер и т.д. Подобные морфологические изменения наблюдали и в случае инкубирования клеток с конъюгатом. В совокупности это говорит о способности конъюгата проникать в целевые клетки и высвобождать

действующее вещество. Также стоит отметить, что модификация паклитаксела лигандом, содержащим 3 углеводных остатка, значительно увеличивает его растворимость в воде, что является важной проблемой для препаратов таксанового ряда.

Заключение. В результате работы с хорошим выходом было получено несколько конъюгатов противоопухолевого препарата паклитаксела и эффективного лиганда ASGPR. Соединение-лидер продемонстрировало хорошую растворимость в воде и оптимальную цитотоксичность, в связи с чем планируется дальнейшее изучение его биологических свойств.

*Работа выполнена при поддержке РФФ
(грант № 17-74-30012).*

*И.П. Шилов¹, Ю.В. Алексеев², А.М. Ковалева³,
К.С. Шамхалов¹, В.Д. Румянцева¹, М.И. Ковалев³,
Н.П. Ивановская¹, А.В. Иванов⁴*

ПРИМЕНЕНИЕ ИТТЕРБИЕВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОРФИРИНОВ В ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАНОСТИКЕ НОВООБРАЗОВАНИЙ

¹Фрязинский филиал ФГБУН ИРЭ РАН, Фрязино, Московская область, Россия;

²ФГБУ ГНЦ ЛМ ФМБА России, Москва, Россия;

³ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

⁴ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Иттербиевые комплексы порфиринов (ИКП) перспективны для ранней люминесцентной диагностики (ЛД) новообразований в спектральном диапазоне 700–1000 нм. Помимо этого, недавно было показано, что разработанные ИКП с успехом могут быть использованы для целого ряда процессов тераностики рака.

Цель исследования. Разработка и апробация методов ближней ИК (БИК) – люминесцентной диагностики (ЛД) и тераностики различных новообразований на базе использования различных ИКП.

Материалы и методы. При создании основ метода БИК-ЛД использовался разработанный нами иттербиевый комплекс 2,4-диметоксигематопорфирина IX (ИКДГ). Исследования люминесцентного диагностического контрастного индекса (ЛДКИ) патология/норма осуществлялись в Первом МГМУ им. И.М. Сеченова у пациентов с различными заболеваниями. При разработке новых методов тераностики рака применялся как ИКДГ, так и иттербиевый комплекс диметилового эфира протопорфирина IX (ИКДМЭПП).

Результаты. Было установлено, что разработанные ИКП для БИК-ЛД обладают повышенной тропностью к патологически измененным тканям, а измеренный ЛДКИ патология/норма составил 2,5–15,0 в зависимости от типа патологического процесса и, соответственно, концентрации ИКДГ. Для целей создания нового способа тераностики нами была проведена попытка синтеза наночастиц, содержащих ядро оксидов железа и полимерную оболочку типа Лексан, включающую ИКДМЭПП. При этом предполагается, что наночастицы оксидов железа

в дальнейшем будут ответственны за проведение процедуры локальной ферромагнитной гипертермии (ЛФМГ).

Заключение. Разработаны метод БИК-ЛД новообразований кожи и слизистых оболочек на основе использования ИКДГ, а также новый метод тераностики новообразований на основе наноразмерных ИКП: БИК-ЛД в сочетании с ЛФМГ.

З.С. Шпрах, Е.В. Игнатьева, И.В. Ярцева

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АРАНОЗЫ В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Араноза – отечественный противоопухолевый препарат, созданный в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и применяемый в клинической практике для лечения злокачественной меланомы как в монотерапии, так и в комбинации с другими противоопухолевыми препаратами. Количественное определение активного вещества – один из важных показателей стандартности лекарственного препарата (ЛП), служащий для оценки качества готового ЛП и его стабильности как в процессе производства, так и при обращении на фармацевтическом рынке.

Цель исследования. Валидация методики количественного определения аранозы в ЛП.

Материалы и методы. Образцы лекарственной формы (ЛФ) аранозы; УФ-спектроскопия, методы статистической обработки результатов.

Результаты. Количественное определение аранозы проводили спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность водных растворов в наиболее интенсивном максимуме поглощения $\lambda_{\max} 240 \pm 2$ нм относительно раствора смеси вспомогательных веществ. Для снижения систематических и случайных ошибок в методику анализа ввели способ расчета по стандартному образцу. В качестве раствора стандартного образца использовали раствор субстанции аранозы и вспомогательных веществ в воде, а в качестве раствора сравнения – раствор вспомогательных веществ в воде в соответствующих концентрациях. Валидацию методики количественного определения аранозы в препарате «Араноза, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, 0,5 г» проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII на образцах препарата и модельных смесях, полученных в лабораторных условиях. Исследовали следующие валидационные характеристики: специфичность, линейность, правильность, прецизионность (сходимость и внутрилабораторная прецизионность). Было показано, что присутствие в лиофилизате аранозы вспомогательных веществ не влияет на положение максимумов поглощения в электронных спектрах поглощения. Небольшое собственное поглощение раствора вспомогательных веществ (около 0,06 единиц оптической плотности) компенсируется использованием этого раствора в качестве раствора сравнения, то есть разработанная методика специфична в отношении аранозы. Линейность методики проверяли экспериментально, измерением аналитического сигнала (значение оптической плотности)

для 9 проб с различным содержанием аранозы в пределах аналитической области методики. Обработка экспериментальных данных показала, что результаты количественного определения аранозы в ЛФ хорошо описываются линейной зависимостью по уравнению $y = 1,3357x + 0,0195$, a коэффициент корреляции $r = 0,9980$ и отвечает условию $|r| \geq 0,99$. Для оценки правильности методики проведены определения в модельных смесях, соответствующих 80, 100 и 120 % содержания аранозы. Точность методики оценивали по результатам анализов 7 образцов в 2 сериях, отличающихся временем выпуска и серией субстанции, из которой была наработана ЛФ аранозы. Относительная погрешность определения в 2 сериях составила 0,66 и 0,86 %. Численное значение коэффициента нормированных отклонений (коэффициента Стьюдента), рассчитанное по результатам анализа, составило 1,97 и 1,31 соответственно, что ниже табличного значения (2,45; 95 %; $f = 6$). Для оценки воспроизводимости проанализировано по 6 образцов одной серии 2 сотрудниками в разные дни. Относительная ошибка среднего результата для 2 исследователей составила 0,79 и 0,80 %, а численное значение коэффициента Стьюдента, рассчитанное по результатам анализа, также меньше табличного значения.

Заключение. Показано, что полученные результаты являются правильными, предложенная методика количественного определения не отягощена систематическими ошибками и обладает достаточной точностью.

М.А. Шедрина¹, Н.Д. Олтаржевская², М.А. Коровина², И.В. Решетов¹, И.В. Гусев²

ВОЗМОЖНОСТИ БИОПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГУЛИРУЕМОЙ АТИПИЧНОЙ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

¹ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия; ²ООО «Колетекс», Москва, Россия

Введение. Современные медико-психологические и социально-экономические аспекты качества жизни пациента, в том числе онкологического профиля, определяют необходимость в создании биотехнологии управляемого атравматичного восстановления целостности поврежденных мягких тканей, минимизирующей риск развития осложнений.

Цель исследования. Создание биополимерной композиции на основе полисахаридов, способной к размещению в дефектах мягких тканей различной конфигурации и объема, образовавшихся в том числе после онкологических операций, с последующей биодеградацией и высвобождением в заранее определенные сроки импрегнированных в ее матрицу препаратов, активизирующих процессы регенерации с последующим аутогенным восполнением дефекта.

Материалы и методы. Выбор основы биополимерной композиции был сделан исходя из требуемых оптимальных биоинженерных свойств веществ, способствующих восстановлению поврежденных тканей. В связи с этим к рассмотрению была принята гидрогелевая форма биополисахаридов. После проведения биологических испытаний

основными полимерами для создания биополимерной композиции были выбраны альгинат натрия и смесь альгинат натрия/гиалуронат натрия в соотношении 70/30. Дополнительно в качестве антимикробного агента в полимерную матрицу были введены частицы наносеребра, полученные микробиологическим способом. Далее было проведено экспериментальное изучение регенераторных возможностей разработанных полимерных матриц различного состава.

Результаты. На основании анализа результатов патологогистологического исследования мягких тканей однотипно сформированных обширных дефектов, независимо от длительности течения раневого процесса, при применении биополимерных композиций, разработанных на основе альгината натрия (альгинат, альгинат с серебром, смесь альгината и натриевой соли гиалуроновой кислоты) были получены морфологические признаки стимулированной репаративной регенерации в области дефекта мягких тканей. При сравнении выраженности стимулирующего действия биополимерных композиций на регенеративные процессы в мягких тканях преимущество наблюдалось при объемном замещении приобретенного дефекта альгината натрия с модифицированным серебром. Далее в порядке убывания – альгинатом, альгинатом в сочетании с солью гиалуроновой кислоты. Отсутствие морфологических признаков наличия рассматриваемых биополимеров в тканях к 14-м суткам после помещения в зону мягкотканного дефекта подтвердило целесообразность и эффективность применения гидрогелевой структурной формы и способность использованных биополисахаридов к биодеградации, обеспечивая полную безопасность данного материала. Было установлено, что при хронизации раневого процесса активизация регенераторных возможностей мягких тканей в зоне мягкотканного дефекта замедлена. Применение биополимерной композиции с инкорпорированными ионами серебра, обладающими антибактериальной активностью, снижает уровень инфицирования раны и синергично активизирует репаративный процесс.

Заключение. Структурные биополисахариды обладают свойствами, принципиально отличающими их от других классов биополимеров: высокая биосовместимость с тканями, управляемая биодеградация и биорезорбция, структурная комбинаторность, управляемая функциональная композиционная синергия. Сочетая эти характеристики возможно создание управляемых многокомпонентных биоконструкций, создающих в ране условия, активизирующие процессы регенерации, с последующим неинвазивным объемным восполнением дефекта развившейся аутоканью, таким образом, избегая развития иммунологического отторжения.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 15-29-04847.

А.И. Щербаков¹, А.С. Гриневиц¹, Е.Н. Кособокова¹, М.В. Пинюгина¹, Е.В. Шешукова², В.С. Косоруков¹
**СРАВНЕНИЕ АНТИГЕННЫХ ЭПИТОПОВ HER2
МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ТРАСТУЗУМАБА
И ФИТОТРАСТУЗУМАБА**

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Моноклональные антитела в случае взаимодействия с большими молекулами класса белков связываются не со всей молекулой, а с отдельным ее участками, имеющими размер от нескольких до десятков аминокислот. Рецептор HER2 является важной мишенью противоопухолевой терапии при лечении рака молочной железы (РМЖ). Положение эпитопа на поверхности молекулы HER2, с которым связывается моноклонально антитело, может значительно влиять на его биологический эффект. В настоящее время в клинической практике применяют препарат на основе анти-HER2 моноклональных антител – трастузумаб. В случае трастузумаба эпитопом является участок IV субдомена внеклеточного домена HER2. Использование трастузумаба снижает риск развития отдаленных метастазов и увеличивает выживаемость пациентов. Трастузумаб производится в культуре животных клеток и стоит достаточно дорого. Альтернативой может быть получение рекомбинантных терапевтических антител в растениях методом транзитной экспрессии.

Цель исследования – сравнение специфического связывания с антигеном HER2 и с IV субдоменом рецептора HER2 рекомбинантных антител, полученных классическим способом в культуре клеток и полученных в растительной биомассе.

Материалы и методы. Фитоантитела получали в листовой пластине *Nicotiana benthamiana* методом транзитной экспрессии. Для внедрения вирусных векторов в клетки листьев *Nicotiana benthamiana* применяли метод агроинфекции. Инфицирование осуществляли культурами клеток штамма *A. tumefaciens* GV-3101, которые были предварительно трансформированы конструкциями VTM-PT-NC и PVX-PT-LC. Эти конструкции обеспечивали экспрессию тяжелых и легких цепей рекомбинантного анти-HER2-антитела в клетках листа растения. Собранные листья гомогенизировали и подвергали экстракции. Экстракт фильтровали и очищали хроматографическими методами. Контроль и оценка уровня экспрессии анти-HER2-фитоантител осуществлялся с помощью метода электрофореза в ПААГ и ИФА. При исследовании связывания с рецептором полученных анти-HER2-фитоантител использовали метод проточной цитометрии. Работу проводили с HER2-положительными клетками РМЖ SK-BR-3. Специфичность связывания тестировали с помощью кроличьих антител против антител человека, конъюгированных с пероксидазой хрена. Для анализа связывания полученных анти-HER2-фитоантител с IV субдоменом внеклеточного домена рецептора HER2 была применена методика анализа конкурентного связывания с антигеном HER2 на поверхности клеток между анти-HER2-фитоантителами и трастузумабом. Эксперимент осуществляли методом

проточной цитометрии с использованием клеток, гиперэкспрессирующих антиген HER2 – SK-BR-3. Оценивалось связывание меченых анти-HER2-антител с клетками SK-BR-3, предварительно обработанных анти-HER2-фитоантителами или трастузумабом.

Результаты и заключение. В данной работе нами показано, что антитела, экспрессированные в *Nicotiana benthamiana*, не уступают аналогам, полученным из клеток млекопитающих, в связывании антигена HER2 на поверхности мембран клеток SK-BR-3. Полученные нами анти-HER2-фитоантитела ингибируют связывание трастузумаба с эпитопом IV субдомена рецептора HER2, как трастузумаб ингибирует связывание фитоантител. Обобщая данные проведенных экспериментов, можно сделать вывод о том, что полученные анти-HER2-фитоантитела связывают тот же эпитоп, что и трастузумаб.

*А.И. Щербатов¹, Е.Н. Кособокова¹, М.В. Пинюгина¹,
Е.В. Шешукова², В.С. Косоруков¹*

АФФИННЫЕ СВОЙСТВА АНТИ-HER2-АНТИТЕЛ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО ИСТОЧНИКА

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение. Рецептор HER2 является важной мишенью противоопухолевой терапии при лечении рака молочной железы (РМЖ). В настоящее время в клинической практике применяют препарат на основе анти-HER2-моноклональных антител – трастузумаб. Использование трастузумаба снижает риск развития отдаленных метастазов и увеличивает выживаемость пациентов. Трастузумаб производится в культуре животных клеток и стоит достаточно дорого. Альтернативой может быть получение рекомбинантных лекарственных препаратов, в частности терапевтических антител, в растениях методом транзитной экспрессии.

Цель исследования. Сравнение специфического связывания с антигеном HER2 и с IV субдоменом рецептора HER2-рекомбинантных антител, полученных классическим способом в культуре клеток и полученных в растительной биомассе.

Материалы и методы. Фитоантитела получали в листовой пластине *Nicotiana benthamiana* методом транзитной экспрессии. Для внедрения вирусных векторов в клетки листьев *Nicotiana benthamiana* применяли методику агроинфекции. Инфицирование осуществляли культурами клеток штамма *A. tumefaciens* GV-3101, которые были предварительно трансформированы конструкциями VTM-PT-NC и PVX-PT-LC. Эти конструкции обеспечивали экспрессию тяжелых и легких цепей рекомбинантного анти-HER2-антитела в клетках растения. Собранные листья гомогенизировали и подвергали экстракции. Затем экстракт фильтровали и очищали хроматографическими методами. Контроль и оценка уровня экспрессии анти-HER2-фитоантител осуществлялись с помощью метода ИФА. Для исследования активности полученных анти-HER2-фитоантител использовали иммуноцитохимический тест. Работу проводили с HER2-положительными клетками

РМЖ SK-BR-3. Специфичность связывания тестировали с помощью кроличьих антител против антител человека, конъюгированных с пероксидазой хрена. Для оценки биологической активности анти-HER2-фитоантител был использован метод проточной цитофлуориметрии. Оценивалось связывание анти-HER2-антител с клетками SK-BR-3. Для анализа связывания полученных анти-HER2-фитоантител с IV субдоменом внеклеточного домена рецептора HER2 была разработана методика анализа конкурентного связывания с антигеном HER2 между анти-HER2-фитоантителами и трастузумабом. Эксперимент осуществляли методом проточной цитометрии с использованием клеток, гиперэкспрессирующих антиген HER2, – SK-BR-3. Оценивалось связывание меченых анти-HER2-антител с клетками SK-BR-3, обработанными анти-HER2-фитоантителами или трастузумабом.

Результаты. В данной работе нами показано, что антитела, экспрессированные в *Nicotiana benthamiana*, не уступают аналогам, полученным из клеток млекопитающих, в связывании антигена HER2 на поверхности мембран клеток SK-BR-3. Полученные нами анти-HER2-фитоантитела связываются с IV субдоменом рецептора HER2.

Заключение. Обобщая данные проведенных экспериментов, можно сделать вывод о том, что полученные анти-HER2-фитоантитела функционально соответствуют трастузумабу.

Т.Г. Щербатов, Е.С. Плеханова, И.А. Чернигина

ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ПОСЛЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ЛОКАЛЬНЫМ ВВЕДЕНИЕМ ФОТОСЕНСА

ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

Введение. Известно, что генерируемыми продуктами действия фотодинамической терапии (ФДТ) являются активные формы кислорода, в частности синглетный кислород, который обладает цитотоксическим и мутагенным действием, повреждая органеллы клетки и ДНК.

Цель исследования. Оценить уровень повреждений ДНК в лейкоцитах цельной крови организма-опухоленосителя после ФДТ при локальном введении фотосенсибилизатора.

Материалы и методы. Белые нелинейные крысы возрастом 3 мес были разделены на 3 группы: 1) «интактные» – здоровые животные ($n = 10$), 2) «без воздействия» – животные-опухоленосители с подкожно трансплантированной карциномой почки РА без лечения ($n = 10$) и 3) «ФДТ» – животные-опухоленосители, которым проводили фотодинамическое воздействие ($n = 10$). В 2 последних группах выделили подгруппы с исходными объемами опухоли до $0,3 \text{ см}^3$ (А) и $>0,5 \text{ см}^3$ (В). При ФДТ интратуморально вводили 0,3 % раствор препарата фотосенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Россия) и в течение 6–12 ч после инъекции воздействовали светодиодным лазером ($\lambda = 660 \pm 10 \text{ нм}$, $P = 100 \text{ мВт/см}^2$, плотность энергии 60 Дж/см^2). Всего проведено 2 сеанса ФДТ на 15-е и 19-е сутки после перевивки. Противоопухолевый эффект оценивали по коэффициенту абсолютного прироста опухоли (К). Определение спонтанного уровня повреждений ДНК лейкоцитов цельной крови лабораторных животных

проводили согласно протоколу метода ДНК-комет (А.И. Чернигина и др., 2016). Обработка данных осуществлялась с использованием методов непараметрической статистики.

Результаты. В опытной группе «без воздействия» спонтанная регрессия карциномы не установлена. Коэффициент абсолютного прироста опухоли (К) в подгруппе В был статистически значимо выше 7,57 [3,57; 11,63], чем в подгруппе А 1,29 [1,20; 1,37] ($p = 0,011$). При этом уровень спонтанных повреждений ДНК в лейкоцитах цельной крови крыс с исходно большими объемами опухоли (В) (%ТДНК = 5,65 [3,55; 6,95]) в 2 раза превышал значение у животных с исходно меньшими объемами опухоли (А) (%ТДНК = 2,45 [2,36; 2,75]) ($p = 0,044$). При корреляционном анализе выявлена прямая зависимость между коэффициентом прироста опухоли и уровнем спонтанного повреждения ДНК ($r_s = 0,85$ ($p = 0,006$)). После проведения ФДТ при локальном введении препарата фотосенс полная регрессия трансплантированной неоплазии (К = -1) наблюдалась только у 50 % крыс как в подгруппе А, так и в подгруппе В. У животных, оставшихся резистентными к фотодинамическому воздействию, наблюдалось более интенсивное увеличение объемов карциномы при исходно малых и незначительное увеличение — при исходно больших размерах опухоли по сравнению с животными-опухоленосителями без воздействия. После ФДТ уровень спонтанного повреждения ДНК в лейкоцитах крови крыс с исходно малыми размерами опухолевого узла возрастал в 3 раза по сравнению с животными без терапии ($p = 0,021$) и не изменялся у животных с исходно большими объемами опухоли.

Заключение. Таким образом, спонтанный уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови, регистрируемый щелочной версией метода ДНК-комет, можно использовать для косвенной оценки интенсивности роста злокачественного новообразования и ответа опухоли на ФДТ с локальным введением фотосенсибилизатора.

*А.В. Шулькин¹, Н.С. Косицына², И.В. Черных¹,
П.Ю. Мильников¹, Е.Н. Якушева¹*

ВЛИЯНИЕ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ НЕЙРОПРОТЕКТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ И ЭКСПРЕССИЮ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА Р-ГЛИКОПРОТЕИНА

¹ФГБОУ ВО РязГМУ им. акад. И.П. Павлова»

Минздрава России, Рязань, Россия;

²ГБУ РО ОКОД, Рязань, Россия

Введение. Р-гликопротеин (Pgp) — АТФ-зависимый белок-транспортер, участвующий в выведении химиотерапевтических препаратов — его субстратов (колхицин, топотекан) из опухолевых клеток. Повышенную активность данного белка связывают с развитием множественной лекарственной устойчивости опухолей. Pgp также обнаружен в гепатоцитах, энтероцитах кишечника, эпителии почечных канальцев, эндотелии гистогематических барьеров, где он играет важную роль в фармакокинетике лекарственных препаратов. Ряд веществ (индукторы) могут повышать активность Pgp, а ряд препаратов (ингибиторы) ее снижают.

Цель исследования. Изучить влияние мексидола, афобазола и ноопепта на активность и экспрессию Pgp.

Материалы и методы. Работа выполнена на половозрелых кроликах-самцах породы шиншилл. Активность белка-транспортера оценивали по фармакокинетике его маркерного субстрата — фексофенадина. До начала исследования, а также после курсового введения изучаемых веществ кроликам перорально вводили фексофенадин в дозе 67,5 мг/кг и оценивали его фармакокинетiku. Экспрессию Pgp в печени и тощей кишке оценивали иммуногистохимически. Мексидол вводили перорально в дозе 50 мг/кг 3 раза в день в течение 10 дней, ноопепт — перорально в дозе 10 мг/кг 3 раза в день в течение 14 дней, афобазол — перорально в дозе 3,8 мг/кг 3 раза в день в течение 14 дней.

Результаты. Введение ноопепта не влияло на фармакокинетiku фексофенадина, что свидетельствует о том, что ноопепт не действует на активность белка-транспортера. Также не было выявлено изменений экспрессии Pgp в печени и почках под влиянием ноопепта. Введение мексидола в течение 10 дней кроликам вызывало достоверное ($p < 0,05$) увеличение C_{max} фексофенадина на 47,0 %, AUC_{0-24} — на 86,5 %, что свидетельствует о том, что мексидол является ингибитором Pgp. В то же время экспрессия белка-транспортера достоверно не изменялась. Введение афобазола в течение 14 дней сопровождалось повышением AUC_{0-24} фексофенадина на 105,1 % и снижением его общего клиренса на 56,8 % ($p < 0,05$), что является признаком ингибирующего действия препарата на активность Pgp. При этом отмечалось снижение экспрессии Pgp в печени.

Заключение. Мексидол и афобазол являются ингибиторами Pgp, а ноопепт не влияет на активность белка-транспортера.

*Б.К. Эрназарова¹, А.Е. Бармашов², Г.Н. Апрышко²,
В.В. Поройков³*

ГЛИКОЗИДНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ МОЧЕВИН КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

¹Жалал-Абадский государственный университет, Жалал-Абад, Кыргызстан;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

³ФГБНУ «ИБМХ им. В.Н. Ореховича», Москва, Россия

Введение. В настоящее время остается актуальным поиск новых веществ с противоопухолевой активностью среди различных классов химических соединений.

Цель исследования. Оценить методами скрининга *in silico* и *in vitro* возможность создания новых противоопухолевых лекарств на основе новых гликозидных производных мочевины.

Материалы и методы. Использована компьютерная система PASS, разработанная в ИБМХ им. В.Н. Ореховича, прогнозирующая 6400 видов биологической активности на основе сравнения структурных формул новых химических соединений с формулами из обучающего массива, содержащего информацию о строении и активности 313 345 изученных ранее химических соединений. Прогнозирование биологической активности проведено для 57 виртуальных соединений из класса гликозидных производных мочевины, представленных Б.К. Эрназаровой (кафедра медико-биологических дисциплин медицинского

факультета Жалал-Абадского государственного университета, Киргизия). Перспективными для экспериментального изучения были квалифицированы соединения, для которых получены значения вероятности активности $Pa \geq 0,5$. Цитотоксичность изучали в культурах опухолевых клеток с использованием МТТ-теста.

Результаты. Для большинства из 57 исследованных виртуальных соединений прогнозируются с высокой вероятностью противоопухолевая (Antineoplastic) активность (Pa до 0,88) и антиангиогенная (Angiogenesis inhibitor) активность (Pa до 0,79) и с низкой вероятностью цитотоксическая/цитостатическая (Cytostatic/Cytotoxic) активность. Для последующего экспериментального изучения биологической активности синтезированы 6 соединений, для которых получены высокие вероятности проявления противоопухолевой активности: N-[(4-бромфенил)амино]карбонил-β-D-галактопиранозиламин, N-(2-изо-никотиноилгидразио)-карбонил-β-D-галактопиранозиламин, N-(β-D-галактопиранозилкарбомоил) этиловый эфир бензойной кислоты, N-[(3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил)амино]карбонил-(β-D-галактопиранозил)амин, (β-D-галактопиранозил)-N-[(4-хлорфенил)амино]карбонил амин, (β-D-глюкопиранозил)-N-[(4-хлорфенил)амино]-карбонил амин. Синтез проведен на основе взаимодействия гликозилнитрозоалкилмочевин с ароматическими и гетероциклическими аминами. В качестве аминов использованы хлор-, бромзамещенные производные анилина, изоникотиноил и бензокаин. Полученные с выходом около 54 % углеводные производные мочевины легко растворимы в воде. Строение полученных продуктов доказано современными физико-химическими методами анализа. При первичной оценке цитотоксичности на клетках 5 злокачественных опухолей человека (аденокарцинома простаты РС-3, карцинома толстой кишки НСТ-116, Т-клеточный лимфобластный лейкоз Jurkat, аденокарцинома молочной железы MCF-7, карцинома легкого А549) ни одно из 6 протестированных соединений цитотоксической активности не проявило.

Заключение. Поскольку для большинства исследованных виртуальных соединений получена низкая вероятность проявления цитостатической активности и высокая вероятность проявления противоопухолевой активности, обусловленной, предположительно, антиангиогенными свойствами, целесообразно их исследование на экспериментальных опухолях *in vivo* даже при отрицательных результатах исследования цитотоксичности в культуре клеток, а также дальнейший поиск потенциальных противоопухолевых соединений из класса гликозидных производных мочевины.

Т.Л. Юркитович, Н.В. Голуб, Н.К. Юркитович,

П.М. Бычковский, Р.И. Костерова

ПРОЛОНГИРОВАННАЯ ФОРМА РЕКОМБИНАНТНОГО АЛЬФА-2В ИНТЕРФЕРОНА В ВИДЕ МИКРОЧАСТИЦ

НИИ ФХП БГУ, Минск, Беларусь

Цель исследования. Получение и изучение свойств новой пролонгированной формы интерферона альфа-2b (α -2b) в виде микрочастиц для парентерального применения.

Материалы и методы. В качестве полимеров-носителей α -2b-интерферона были использованы микрогели на основе смешанных эфиров крахмала – фосфатов крахмала

(ФК) и декстрана (ФД), содержащих фосфорнокислые и карбаматные группы. Количество сорбированного белка определяли методом Бредфорда. Исследование цитостатической активности макромолекулярных соединений интерферона α -2b проведено на клеточной линии HeLa при инкубации в течение 72 ч.

Результаты. Оптимизированы условия получения микрочастиц ФК и ФД с содержанием фосфатных групп 9,0–10,2 %, обладающих способностью к биодegradации и высокой сорбционной емкостью по отношению к α -2b-интерферону. Получение пролонгированной формы интерферона осуществляли путем последовательного выполнения следующих стадий: синтез микрочастиц ФК и ФД путем этерификации ортофосфорной кислотой в расплаве мочевины, соединение солевого раствора интерферона α -2b (10^4 – 10^8 МЕ/мл) и 0,1 % суспензии ФК и ФД, лиофильная сушка. Установлено, что включение α -2b-интерферона в состав гидрогелей ФК и ФД осуществляется путем многоточечного кооперативного взаимодействия с образованием интерполимерных комплексов. По длительности пролонгированного действия образцы условно разбиты на 2 группы. 1. Суспензия в виде микрочастиц ФК со степенью набухания 2680 % со средними размерами 53,5–57,2 мкм. Эта суспензия является противоопухолевым средством более длительного действия: 50 % интерферона α -2b высвобождается из фазы микрогелей ФК в буферный раствор через 6 ч, 80 % – в течение 24 ч. 2. Суспензии в виде микрочастиц со средними размерами 54,3–58,2 мкм на основании ФД и ФК с более низкой степенью набухания (1440 %), а также в виде микрочастиц ФК со средними размерами 20,1 мкм. Препарат более быстрого действия: 60 % протеина высвобождается уже в течение первых 10–30 мин, 100 % протеина выделяется из микрогелей за 24 ч. Установлено, что в отличие от инъекционной формы интерферона α -2b, пролонгированная форма рекомбинантного интерферона α -2b, включенного в состав микрочастиц ФК, вызывает статистически достоверный цитотоксический эффект. Противоопухолевое средство на основе рекомбинантного интерферона α -2b с использованием микрогелей ФД, также как и инъекционная, обладает цитостатическим действием, следовательно, их противоопухолевая активность выражена в гораздо меньшей степени.

Заключение. Новая пролонгированная форма цитокина с использованием микрогелей ФК обладает противоопухолевой активностью, превышающей активность инъекционной формы рекомбинантного интерферона α -2b.

Е.В. Ярославцева-Исаева, М.А. Каплан, В.Н. Капинус,

И.С. Спиченкова

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ КОЖИ У ЛИЦ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Калужская область, Россия

Цель исследования. Оценить эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) злокачественных новообразований кожи с фотосенсибилизатором (ФС) хлоринового ряда у пациентов до 44 лет.

Материалы и методы. С 2007 по 2017 г. проведена ФДТ с ФС фотолон 59 пациентам в возрасте с 19 до 44 лет,

средний возраст — $36,5 \pm 0,8$ года; медиана 37 лет. Мужчин — 25, женщин — 34. Базально-клеточный рак кожи выявлен у 48 (81,3 %) пациентов, плоскоклеточный рак кожи — у 7 (11,8 %), 2 пациента с единичными внутрикожными метастазами меланомы, 1 пациент с гигантоклеточной синовиомой правой кисти гТ4N0M0, 1 пациент с выбухающей дерматофибросаркомой кожи волосистой части головы гТ3N0M0. По распространенности процесса: сТ1N0M0 — 28 (47,5 %) больных, сТ2N0M0 — 24 (40,8 %) и сТ3–4N0M0 — 7 (11,7 %). Пациентам с Т3–4 лечение проводили с паллиативной целью. Очаги локализовались на коже головы и шеи у 40 (67,8 %) пациентов. Множественная форма (более 2 очагов) выявлена у 8 больных. Двадцать (33,9 %) пациентов получали ранее лечение. Использовали ФС фотолон в дозе 0,8–1,3 мг/кг. Пациентам проводили флуоресцентную диагностику с целью индивидуального планирования световой дозы и способа доставки света. Использовали различные методики ФДТ: дистанционную, внутритканевую, контактную. Световая доза варьировала от 100–400 Дж/см² в зависимости от клинической формы опухоли и индекса контрастности ФС в опухолевой и здоровой коже.

Результаты. Через 6 мес после 1–3 курсов ФДТ рака кожи Т1–2 получена полная регрессия у 46 (88,5 %), частичная — у 6 (11,5 %) пациентов, отсутствие эффекта не отмечали. У пациентов с частичной регрессией проведены повторные курсы ФДТ, получена полная регрессия у 5, у 1 пациента с рецидивом (после хирургического лечения) плоскоклеточного рака кожи околоушной области более 5 см отмечено прогрессирование, ему проведена лучевая терапия. У пациентов с распространенностью процесса Т3–4 отмечен паллиативный эффект: уменьшение размеров опухоли, гемостаз, санация гнойных очагов. На сроках наблюдения от 6 мес до 10 лет выявлены рецидивы у 4 (8,7 %) больных. У пациентов с единичными внутрикожными метастазами меланомы получена полная регрессия, рецидивов в зонах ФДТ не выявлено. У 5 пациентов с множественными новообразованиями отмечено появление новых очагов на других участках кожи. У всех пациентов сформировались рубцы округлые или линейные, имеющие меньшие размеры, чем первоначальная опухоль. У пациентов не пострадала функция зрения в случае расположения опухоли в параорбитальной области. В единичных случаях при расположении опухоли на верхнем веке или крыле носа с прорастанием на всю толщину хряща наблюдали деформацию.

Заключение. ФДТ является эффективным, исключающим развитие радиационных осложнений, с низким ри-

ском развития анатомо-функциональных нарушений методом лечения злокачественных новообразований кожи и является методом выбора у лиц молодого возраста.

И.В. Ярцева, Е.В. Игнатьева, З.С. Шпрах, Л.В. Эктова, В.А. Еремина, Н.И. Тихонова

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНКАРА В СУБСТАНЦИИ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Инкар — новое перспективное противоопухолевое соединение из класса индолокарбазолов.

Цель исследования. Разработка метода количественного определения инкара в субстанции.

Материалы и методы. Образцы инкара, полученные в лаборатории химического синтеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ); определение общего азота по Дюма.

Результаты. В настоящее время одним из часто используемых методов в количественном определении лекарственных веществ является ВЭЖХ. Метод позволяет достоверно идентифицировать основное действующее вещество. Анализ нескольких образцов субстанции инкара методом ВЭЖХ показал, что они содержали от 95,4 до 96,4 % основного вещества. Недостатком метода ВЭЖХ является то, что этот метод относительный и требует применения стандартного образца. Для прямого определения инкара в субстанции мы предложили использовать определение общего азота сожжением образца по Дюма. В молекуле инкара содержится 5 атомов азота. Это составляет около 12 % массы молекулы и достаточно, чтобы выбрать метод, основанный на определении содержания азота. Метод Дюма имеет ряд преимуществ: при сожжении достигается полное извлечение азота из образца независимо от матрицы; в анализе не используются агрессивные реагенты, анализ проводится за относительно короткое время, отличается высокой точностью и может быть выполнен на автоматических элементных анализаторах. При анализе с помощью метода Дюма тех же образцов инкара найдено, что содержание основного действующего вещества в них находится в пределах от 94,2 до 95,8 %, что достаточно близко к данным, полученным методом ВЭЖХ.

Заключение. Проведенные исследования показали, что данные по количественному определению инкара в субстанции, полученные методом ВЭЖХ, близки по значению к данным, полученным прямым методом.

