

# ОЦЕНКА ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДОЦЕТАКСЕЛА В СОСТАВЕ ФОЛАТМОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ ЧАСТИЦ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

А.А. Крашенинникова<sup>1,2</sup>, В.В. Заварзина<sup>1</sup>, Д.С. Панова<sup>1</sup>, Н.В. Гукасова<sup>1</sup>, С.Л. Кузнецов<sup>1</sup>,  
И.А. Тубашева<sup>1</sup>, В.Ю. Балабаньян<sup>3</sup>, Ю.И. Полтавец<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»; Россия, 123182 Москва,  
пл. Академика Курчатова, 1;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»;  
Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, 8;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119991 Москва, Ленинские горы, 1

**Контакты:** Анна Андреевна Крашенинникова a.a.krashenninnikova@yandex.ru

**Введение.** Использование субмикронных векторизованных систем доставки, которые способствуют повышению избирательности действия и уменьшению побочного токсического влияния химиотерапии, — один из перспективных подходов к созданию противоопухолевых химиопрепаратов. Разработана система доставки доцетаксела (ДОЦ) в составе полилактидгликолидных частиц (poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA), модифицированных додециламидом фолиевой кислоты (ДФК) (частицы PLGA-ДОЦ-ДФК).

**Цель исследования** — сравнительное токсикологическое исследование ДОЦ в форме частиц и в стандартной форме в остром и субхроническом экспериментах на мышах при внутривенном введении.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на мышах-самках линии C57BL/6. При изучении острой токсичности препараты вводили в диапазоне доз 20, 60, 90, 120, 160 мг/кг. На протяжении 30 дней оценивали летальность, определяли массу тела, проводили патоморфологические исследования. Для изучения токсичности в условиях субхронического эксперимента препараты вводили ежедневно в течение 3 дней в разовых дозах 11 и 22 мг/кг и далее в течение 30 дней проводили необходимые исследования.

**Результаты.** При 1-кратном введении PLGA-ДОЦ-ДФК в дозах 20, 60, 90 мг/кг гибели животных не наблюдалось; в дозах 120 и 160 мг/кг выявлена гибель животных на 1–4-е сутки. В случае применения субстанции ДОЦ гибель животных наступала в течение суток после введения доз 60, 90, 120, 160 мг/кг. Картина интоксикации была сходной для сравниваемых препаратов и проявлялась в гиподинамии, нарушении координации движений, парезе задних конечностей, но степень их проявления была более выраженной в группах с введением ДОЦ, чем в случае введения PLGA-ДОЦ-ДФК. Было установлено, что средняя летальная доза (ЛД<sub>50</sub>) для PLGA-ДОЦ-ДФК составляет 140 мг/кг, а для субстанции ДОЦ — 112 мг/кг. При субхроническом введении выявленные токсические свойства препаратов зависят от величины примененной дозы. Введение PLGA-ДОЦ-ДФК в разовой дозе 22 мг/кг вызывало летальные эффекты (2/10), обратимую задержку прироста массы и лейкопению у выживших животных, увеличение относительной массы селезенки. Применение PLGA-ДОЦ-ДФК в разовой дозе 11 мг/кг гибели не вызывало, хорошо переносилось и характеризовалось сходной токсичностью с субстанцией ДОЦ.

**Заключение.** На основании экспериментальных данных определены уровни токсических доз PLGA-ДОЦ-ДФК при остром и субхроническом введении. Полученные результаты позволили рекомендовать препарат для дальнейшего изучения.

**Ключевые слова:** доцетаксел, фолатмодифицированные полимерные частицы, токсичность, мыши

**Для цитирования:** Крашенинникова А.А., Заварзина В.В., Панова Д.С. и др. Оценка токсикологических свойств доцетаксела в составе фолатмодифицированных полимерных частиц в эксперименте *in vivo*. Российский биотерапевтический журнал 2020;19(2):55–64.

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-19-2-55-64



## ASSESSMENT OF THE TOXICOLOGICAL PROPERTIES OF DOCETAXEL LOADED FOLATE-MODIFIED POLYMER PARTICLES *IN VIVO*

A.A. Krashenninnikova<sup>1,2</sup>, V.V. Zavarzina<sup>1</sup>, D.S. Panova<sup>1</sup>, N.V. Gukasova<sup>1</sup>, S.L. Kuznetsov<sup>1</sup>, I.A. Tubasheva<sup>1</sup>,  
V.Yu. Balabanyan<sup>3</sup>, Yu.I. Poltavets<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Research Center “Kurchatov Institute”; 1 Akademika Kurchatova ploshchad’, Moscow 123182, Russia;

<sup>2</sup>Institute of General Pathology and Pathophysiology; 8 Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russia;

<sup>3</sup>M.V. Lomonosov Moscow State University; 1 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia

**Introduction.** One of the perspective approaches to the development of anticancer chemotherapy drugs is the use of submicron vectorized delivery systems that increase the selectivity of action and reduce the toxic side effects of chemotherapy. A delivery system of docetaxel (DOC) loaded poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) particles modified with folic acid dodecylamide (FAD) was developed (PLGA-DOC-FAD).

**The aim** of the research was a comparative toxicological study of DOC-loaded particles and standard docetaxel solution form in acute and subchronic experiments in mice after intravenous administration.

**Materials and methods.** The research was conducted in female C57BL/6 mice. During the study of acute toxicity, drugs were administered in the following dose range: 20, 60, 90, 120, 160 mg/kg. Over 30 days, mortality and body weight were evaluated, pathomorphological studies were performed. The study of toxicity in conditions of subchronic administration of medicine was conducted using three times daily administration in single doses of 11 and 22 mg/kg. Subchronic toxicity of the drugs was studied with three times daily administration in single doses of 11 and 22 mg/kg. The necessary studies were performed within 30 days.

**Results.** With a single injection of PLGA-DOC-FAD in doses of 20, 60, 90 mg/kg, the death of animals wasn't observed; at doses of 120 and 160 mg/kg, the death of animals was detected in 1–4 days. In the case of administration of the DOC substance, the death of animals occurred within a day after the administration of doses of 60, 90, 120, 160 mg/kg. The pattern of intoxication was similar in case of compared drugs and manifested in hypodynamia, impaired movement coordination, hind limbs paresis, though the manifestation degree thereof was more expressed in the groups with the introduction of DOC than in the case of the introduction of PLGA-DOC-FAD. It was detected that the  $LD_{50}$  for PLGA-DOC-FAD is 140 mg/kg, and for the DOC substance – 112 mg/kg. In case of subchronic administration, the detected toxic properties of drug depend on the size of the dose applied. The administration of a single dose of 22 mg/kg of PLGA-DOC-FAD caused lethal effects (2/10), reversible delay in weight gain and leucopenia in surviving animals, and an increase in the relative mass of the spleen. The use of PLGA-DOC-FAD in a single dose of 11 mg/kg didn't cause death, was well tolerated and characterized by similar toxicity with the docetaxel substance.

**Conclusion.** Based on experimental data, the toxic dose levels of PLGA-DOC-FAD were determined under acute and subchronic administration. The results obtained allowed us to recommend PLGA-DOC-FAD for further examination.

**Key words:** docetaxel, folate-modified polymer particles, toxicity, mice

**For citation:** Krashenninnikova A.A., Zavarzina V.V., Panova D.S. et al. Assessment of the toxicological properties of docetaxel loaded folate-modified polymer particles in vivo. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2020;19(2):55–64. (In Russ.).

## Введение

Применение субмикронных систем доставки противоопухолевых препаратов – один из перспективных подходов к повышению эффективности химиотерапии злокачественных новообразований [1, 2]. Вариантом данного направления является создание векторизованных систем доставки лекарств, обладающих селективностью в отношении опухолевой ткани. При разработке таких систем в качестве векторных молекул часто применяют малые биомолекулы, в том числе фолиевую кислоту, рецепторы к которой высокоэкспрессированы на опухолевых клетках [3–5].

Доцетаксел (ДОЦ) – противоопухолевый препарат из группы таксанов, широко используемый в различных схемах лечения и комбинациях с другими препаратами при терапии рака молочной железы, желудка, легких, предстательной железы и т.д. [6]. Механизм его действия основан на инактивировании микротубулярного аппарата и нарушении фазы митоза в опухолевых клетках. Крайне актуальна проблема побочной токсичности ДОЦ. Препарат вызывает анемию, нейтропению, осложнения со стороны желудочно-кишечного тракта, нейропатию, аллергические реакции, что приводит к ограничению его терапевтического потенциала [7]. Таким образом, существует высокая потребность в улучшении токсикологического профиля препарата. В литературе есть сведения, касающиеся получения и изучения

свойств ДОЦ в составе различных систем доставки, применение которых способствует снижению токсичности препарата [8, 9]. В ряде работ об использовании таргетных систем доставки ДОЦ в виде полимерных частиц, конъюгированных с фолиевой кислотой, показано повышение избирательности противоопухолевого действия, что свидетельствует о перспективности данного подхода [10, 11]. Ранее авторами был предложен технологичный способ получения ДОЦ в составе полимерных частиц на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA), модифицированных додециламидом фолиевой кислоты (ДФК) (частицы PLGA-ДОЦ-ДФК), и показаны высокая селективность и противоопухолевая активность в отношении чувствительных и резистентных опухолевых клеток [12].

**Цель** настоящего исследования – сравнительное токсикологическое исследование ДОЦ в форме частиц PLGA-ДОЦ-ДФК, а также в стандартной форме в остром и субхроническом экспериментах на мышах при внутривенном введении.

## Материалы и методы

**Получение и характеристика фолатмодифицированных полимерных частиц с ДОЦ.** Получение частиц осуществляли методом прямых эмульсий [12, 13]. Для этого смешивали водную фазу (раствор поливинилового спирта) и неводную фазу, представляющую

собой раствор 3 компонентов в дихлорметане: полимерный компонент — сополимер молочной и глицеролевой кислот PLGA 50/50 (PURASORB® PDLG 5004, PURAC Biochemicals, Нидерланды), векторный компонент — ДФК и фармакологически активный компонент — ДОЦ. В качестве последнего использовали фармацевтическую субстанцию ДОЦ тригидрат (Cilupharmaceuticals, Китай, ФС 001293—001215). Объемное соотношение водной и неводной фаз составило 7 : 1. Далее с помощью ультразвукового гомогенизатора получали эмульсию типа «масло в воде», из которой удаляли дихлорметан путем испарения в атмосферу с получением суспензии частиц. К суспензии добавляли раствор хлорида натрия, замораживали и лиофилизировали в течение суток. Средний размер частиц PLGA-ДОЦ-ДФК, определенный методом динамического светорассеяния (Zetasizer Nano ZS ZEN 3600, Malvern, Великобритания), составил  $247,5 \pm 2,8$  нм. Содержание ДОЦ в частицах, определенное методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, составило  $2,63 \pm 0,08$  %, эффективность включения ДОЦ в частицы —  $90,2 \pm 0,7$  %. Частицы без векторного компонента PLGA-ДОЦ получали по аналогичной методике, исключая стадию добавления ДФК. Для проведения исследований лиофилизаты частиц растворяли в воде для инъекций в концентрации 10 мг/мл по ДОЦ и далее разбавляли водой до нужной дозы, предназначенной для введения животным.

Для приготовления суспензий частиц для последующего введения животным использовали стерильную воду для инъекций. В качестве препарата сравнения применяли субстанцию ДОЦ, которую растворяли в Твин 80 в концентрации 40 мг/мл, далее растворяли в водно-этанольной смеси (13 % раствор этанола) до концентрации 10 мг/мл и разбавляли физиологическим раствором до нужной дозы, предназначенной для введения животным (схема растворения в соответствии с инструкцией PRODUCT MONOGRAPH, TAXOTERE® [7]). Для проведения исследований на животных все суспензии и растворы вводимых препаратов готовили *ex tempore*.

**Животные.** Исследование проводилось в соответствии с правилами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в научных целях, и стандартными протоколами доклинических исследований [14]. Протокол эксперимента был одобрен биоэтической комиссией НИЦ «Курчатовский институт». В эксперименте использовались мыши-самки линии C57BL/6. Животные были получены из НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН и имели SPF-статус, подтвержденный сертификатом поставщика. Средняя масса тела мышей к моменту начала эксперимента составляла  $20,2 \pm 0,5$  г. Перед началом эксперимента животные проходили период

физиологической, психологической и пищевой адаптации в течение 7 дней. Мыши содержались в стандартных условиях, кормление и поение осуществлялось *ad libitum*, с соблюдением полноценного пищевого рациона.

**Исследования *in vivo*.** Для исследования острой токсичности было сформировано 16 опытных групп мышей по 6 особей в каждой группе. Исследование включало сравнительное изучение острой токсичности PLGA-ДОЦ-ДФК, PLGA-ДОЦ и субстанции ДОЦ при 1-кратном внутривенном введении препаратов. При выборе доз опирались на данные литературы о летальных дозах (ЛД) для ДОЦ и препаратов на его основе [7, 15, 16]. Дозы для введения составили: 20, 60, 90, 120 и 160 мг/кг. Препараты вводили в боковую хвостовую вену мыши в объеме 0,4 мл. Токсическое действие препаратов оценивали по числу умерших животных, срокам их гибели, а также на основании мониторинга общего состояния и поведения животных, клинической картины интоксикации, динамики массы тела животных, данных патоморфологических изменений в тканях и внутренних органах, выявляемых при аутопсии павших и выживших животных, эвтаназированных в конце эксперимента (макроскопическая оценка). Наблюдение за животными осуществлялось в течение 30 сут с момента введения препаратов. Определены расчетные токсические дозы ЛД<sub>10</sub>, ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>50</sub>, ЛД<sub>84</sub> и ЛД<sub>100</sub> каждого препарата при 1-кратном внутривенном введении с применением метода Литчфилда—Уилкоксона [17].

Изучение субхронической токсичности препаратов проводили при 3-кратном ежедневном внутривенном введении PLGA-ДОЦ-ДФК и субстанции ДОЦ в разовых максимально переносимых дозах (МПД) 22 и 11 мг/кг (1/2 МПД). За МПД была принята доза, близкая к расчетной ЛД<sub>10</sub> при 1-кратном введении субстанции ДОЦ. В опытных группах животных использовали по 8 мышей, в контрольной — 10. Препараты вводили в боковую хвостовую вену мыши в объеме 0,4 мл. Контрольным животным вводили внутривенно физиологический раствор. Токсическое действие препаратов оценивали по летальности, оценке общего состояния животных, клинической картины интоксикации в период введения и после его окончания, изменениям массы тела животных, гематологическим исследованиям (определение количества лейкоцитов в крови). Результаты рассматривали в динамике в течение 30 дней с 1-го дня курсового введения. На 30-е сутки после окончания курса введений половину самок из каждой группы эвтаназировали. После эвтаназии у подопытных животных осуществляли забор печени, почек, сердца, легких, селезенки. Органы взвешивали для расчета их массовых коэффициентов.

Статистическую обработку количественных данных проводили с помощью компьютерных программ

Microsoft Office Excel и Origin. Расчет ЛД проводили с использованием метода пробит-анализа. ЛД<sub>50</sub> представлена как среднее  $\pm$  стандартное отклонение. Результаты измерения массы тела животных представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение; результаты изменений массы органов и уровня лейкоцитов в крови представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка. Полученные количественные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента и критерия  $\chi^2$  Пирсона. Различия считали достоверными при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

При изучении острой токсичности на мышах при внутривенном введении ДОЦ в составе фолат-модифицированных полимерных частиц PLGA-ДОЦ-ДФК в дозах 20, 60, 90 мг/кг гибели животных выявлено не было. При введении препарата в дозах 120 и 160 мг/кг наблюдалась гибель животных на 1–4-е сутки (табл. 1). После введения препарата в высоких дозах у мышей отмечалось общее угнетение, снижение двигательной активности, нарушалась координация движений, развивался парез задних конечностей. Животные погибали на фоне выраженной гиподинамии. У выживших животных общее состояние и поведение нормализовались и соответствовали состоянию животных в контрольной группе. Как видно из табл. 1, наблюдались отличия в выживаемости мышей при введении сравниваемых препаратов в зависимости от дозы и по срокам гибели. В случае введения PLGA-ДОЦ-ДФК гибель животных наблюдалась начиная с дозы 120 мг/кг, а в случае ДОЦ — с дозы 60 мг/кг. Кроме того, летальные эффекты были более отсрочены в случае введения PLGA-ДОЦ-ДФК, чем в случае ДОЦ, после введения которого гибель животных наступала в течение 24 ч. Картина интоксикации была сходна для сравниваемых препаратов, но развитие токсических эффектов происходило быстрее, и степень их проявления на фоне максимальных доз была более выражена в группах с введением ДОЦ, чем в случае введения PLGA-ДОЦ-ДФК. Различий в картине интоксикации после введения ДОЦ в составе фолатмодифицированных полимерных частиц и немодифицированных частиц (PLGA-ДОЦ) не наблюдалось. При аутопсии умерщвленных в конце эксперимента животных, получавших максимальные дозы вводимых препаратов, отмечены признаки гастроинтестинальной токсичности (повреждения слизистой), увеличение печени и селезенки, локальная алопеция, раздражение в месте инъекции, остальные органы — без особенностей. В целом описанная клиническая картина интоксикации и вскрытия согласуется с данными литературы о токсических эффектах ДОЦ [7, 16].

Динамика изменения массы тела мышей после внутривенного введения препаратов представлена

в табл. 2. Показано, что препараты в дозах 20–60 мг/кг незначительно влияли на массу тела животных. После введения препаратов в дозах 120 и 160 мг/кг наблюдалось умеренное снижение прироста массы тела на 3–8-е сутки после введения, что связано с гастроинтестинальной токсичностью. Так, в группах с введением PLGA-ДОЦ-ДФК и PLGA-ДОЦ в дозе 160 мг/кг на 8-е сутки после введения снижение массы тела составило 16,5 и 21,4 % по сравнению с контрольной группой. Во всех группах животных наблюдалась тенденция к восстановлению массы тела к 30-м суткам наблюдения, кроме группы с введением PLGA-ДОЦ в дозе 160 мг/кг, в которой выявлена отрицательная динамика прироста массы тела.

**Таблица 1.** Сравнительная токсичность PLGA-ДОЦ-ДФК, PLGA-ДОЦ и субстанции ДОЦ при 1-кратном внутривенном введении мышам C57BL/6

Table 1. Comparative toxicity of PLGA-DOC-FAD, PLGA-DOC and DOC substance with a single IV administration to C57BL/6 mice

| Препарат<br>Drug                | Доза,<br>мг/кг<br>Dose,<br>mg/kg | Эффект<br>(всего/<br>пало), шт.<br>Effect (total/<br>dead), pcs | Срок гибели,<br>сутки<br>Time of death,<br>day |
|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| PLGA-ДОЦ-ДФК<br>PLGA-DOC-FAD    | 20                               | 6/0                                                             | —                                              |
|                                 | 60                               | 6/0                                                             | —                                              |
|                                 | 90                               | 6/0                                                             | —                                              |
|                                 | 120                              | 6/5                                                             | 1, 1, 2, 3, 4                                  |
|                                 | 160                              | 6/3                                                             | 1, 1, 2                                        |
| PLGA-ДОЦ<br>PLGA-DOC            | 20                               | 6/0                                                             | —                                              |
|                                 | 60                               | 6/1                                                             | 2                                              |
|                                 | 90                               | 6/0                                                             | —                                              |
|                                 | 120                              | 6/2                                                             | 1, 1                                           |
|                                 | 160                              | 6/3                                                             | 1, 1, 4                                        |
| Субстанция ДОЦ<br>Substance DOC | 20                               | 6/0                                                             | —                                              |
|                                 | 60                               | 6/2                                                             | 2, 2                                           |
|                                 | 90                               | 6/1                                                             | 1                                              |
|                                 | 120                              | 6/6                                                             | 1, 1, 1, 1, 1, 1                               |
|                                 | 160                              | 6/4                                                             | 1, 1, 1, 2                                     |
| Контроль<br>Control             | 0                                | 0/6                                                             | —                                              |

**Примечание.** Здесь и в табл. 2–6: PLGA-ДОЦ-ДФК — полилактидгликолидные частицы, модифицированные додециламидом фолиевой кислоты; PLGA-ДОЦ — полилактидгликолидные частицы, не модифицированные додециламидом фолиевой кислоты; ДОЦ — доцетаксел.  
Note. Here and in table 2–6: PLGA-DOC-FAD — poly(lactide-co-glycolide) particles modified with folic acid dodecylamide; PLGA-DOC — poly(lactide-co-glycolide) particles not modified with folic acid dodecylamide; DOC — docetaxel.

**Таблица 2.** Динамика изменения массы тела мышей-самок C57BL/6 после 1-кратного внутривенного введения PLGA-ДОЦ-ДФК, PLGA-ДОЦ и субстанции ДОЦ

Table 2. The dynamics of changes in body weight of female C57BL/6 mice after 1-fold IV administration of PLGA-DOC-FAD, PLGA-DOC and the substance of DOC

| Доза, мг/кг<br>Dose, mg/kg                 | Масса тела животных после введения препарата, г<br>Animals' body weight a day after the drug injection, g |                                  |                                  |                                    |                                    |                                    |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
|                                            | Фон (0)<br>Background (0)                                                                                 | 3-и сутки<br>3 <sup>rd</sup> day | 8-е сутки<br>8 <sup>th</sup> day | 13-е сутки<br>13 <sup>th</sup> day | 20-е сутки<br>20 <sup>th</sup> day | 30-е сутки<br>30 <sup>th</sup> day |
| <b>PLGA-ДОЦ-ДФК</b><br>PLGA-DOC-FAD        |                                                                                                           |                                  |                                  |                                    |                                    |                                    |
| 20                                         | 19,4 ± 0,4                                                                                                | 19,0 ± 0,6                       | 19,1 ± 0,7                       | 20,4 ± 1,0                         | 21,7 ± 1,3                         | 22,2 ± 1,7                         |
| 60                                         | 19,8 ± 0,6                                                                                                | 19,4 ± 1,0                       | 18,9 ± 1,4                       | 20,5 ± 1,7                         | 21,7 ± 1,4                         | 22,4 ± 1,6                         |
| 90                                         | 19,6 ± 1,1                                                                                                | 18,4 ± 1,1                       | 17,5 ± 1,0                       | 18,0 ± 1,8                         | 19,3 ± 2,0                         | 19,6 ± 2,0                         |
| 120                                        | 20,1 ± 0,7                                                                                                | 18,6*                            | 19,8*                            | 19,6*                              | 20*                                | 19,7*                              |
| 160                                        | 20,2 ± 0,8                                                                                                | 18,0 ± 0,75                      | 17,5 ± 0,6                       | 18,2 ± 1,4                         | 19,7 ± 1,3                         | 19,7 ± 0,9                         |
| <b>PLGA-ДОЦ</b><br>PLGA-DOC                |                                                                                                           |                                  |                                  |                                    |                                    |                                    |
| 20                                         | 19,6 ± 0,5                                                                                                | 19,2 ± 0,6                       | 19,8 ± 1,0                       | 20,0 ± 1,0                         | 21,0 ± 1,0                         | 21,5 ± 0,8                         |
| 60                                         | 20,6 ± 1,3                                                                                                | 19,4 ± 1,2                       | 18,8 ± 1,8                       | 19,2 ± 2,0                         | 20,7 ± 1,9                         | 20,9 ± 1,4                         |
| 90                                         | 19,7 ± 0,5                                                                                                | 19,4 ± 1,2                       | 20,1 ± 1,4                       | 21,2 ± 0,6                         | 21,8 ± 1,3                         | 22,0 ± 1,5                         |
| 120                                        | 20,9 ± 1                                                                                                  | 19,7 ± 1,9                       | 18,6 ± 1,5                       | 18,9 ± 1,6                         | 20,5 ± 1,0                         | 20,6 ± 0,7                         |
| 160                                        | 20,4 ± 0,6                                                                                                | 17,1 ± 0,3                       | 16,2 ± 0,3                       | 16,2 ± 0,6                         | 16,6 ± 1,4                         | 16,5 ± 0,3                         |
| <b>Субстанция ДОЦ</b><br>Substance DOC     |                                                                                                           |                                  |                                  |                                    |                                    |                                    |
| 20                                         | 20,5 ± 0,3                                                                                                | 20,0 ± 0,5                       | 21,3 ± 0,8                       | 21,6 ± 0,6                         | 22,0 ± 0,8                         | 22,5 ± 0,6                         |
| 60                                         | 20,0 ± 0,4                                                                                                | 19,7 ± 0,4                       | 21,2 ± 0,6                       | 20,9 ± 0,5                         | 21,2 ± 0,7                         | 21,0 ± 0,5                         |
| 90                                         | 19,6 ± 0,9                                                                                                | 19,4 ± 1,0                       | 19,9 ± 1,5                       | 20,5 ± 1,0                         | 20,2 ± 1,2                         | 20,1 ± 1,2                         |
| 120                                        | 20,8 ± 0,7                                                                                                | **                               | **                               | **                                 | **                                 | **                                 |
| 160                                        | 21,0 ± 1,0                                                                                                | 20,1 ± 2,0                       | 21,6 ± 1,5                       | 22,1 ± 2,0                         | 22,7 ± 2,7                         | 22,4 ± 2,8                         |
| <b>Контрольная группа</b><br>Control group |                                                                                                           |                                  |                                  |                                    |                                    |                                    |
|                                            | 21,15 ± 0,5                                                                                               | 21,45 ± 0,5                      | 21,9 ± 0,5                       | 22,4 ± 0,5                         | 22,4 ± 0,5                         | 22,6 ± 0,5                         |

\*Недостаточное количество животных для статистической обработки; \*\*все животные в данной группе погибли.

\*Insufficient number of animals for statistical processing; \*\*all animals in the group died.

Получены расчетные токсические дозы препаратов при 1-кратном внутривенном введении самкам мышей C57BL/6 (табл. 3). Значение ЛД<sub>50</sub> для субстанции ДОЦ, введенной в растворителе, состав которого соответствует инструкции препарата Таксотер®, было близко данным литературы для указанного препарата [7, 15]. Расчетные токсические дозы фолат-модифицированных полимерных частиц при внутривенном введении оказались выше токсических доз субстанции ДОЦ. Так, значения ЛД<sub>50</sub>, ЛД<sub>16</sub> и ЛД<sub>10</sub> для PLGA-ДОЦ-ДФК были выше по сравнению

со значениями для ДОЦ на 24,7; 81,8 и 164,6 % (в случае ЛД<sub>16</sub> и ЛД<sub>10</sub> различия статистически значимы,  $p = 0,05$ ). Следует отметить, что ширина токсического действия (интервал между ЛД<sub>10</sub> и ЛД<sub>50</sub>) достаточно невелика в случае обоих препаратов, однако для PLGA-ДОЦ-ДФК произошло увеличение терапевтической широты. Расчетные токсические дозы для частиц с ДОЦ без фолатного векторного компонента PLGA-ДОЦ оказались близки величинам токсических доз PLGA-ДОЦ-ДФК. Полученные результаты свидетельствуют о том, что снижение токсичности

достигается за счет включения ДОЦ в состав полимерных частиц, как фолатмодифицированных, так и немодифицированных. Включение ДОЦ в частицы обуславливает уменьшение токсических эффектов за счет замедления его высвобождения из полимерной матрицы и исключения из состава достаточно токсичного вспомогательного компонента инъекционной лекарственной формы ДОЦ полисорбата 80, входящего в препарат Таксотер® [12]. Влияние наносомальных систем доставки на снижение общей острой токсичности описано для ряда противоопухолевых препаратов группы таксанов, включенных в состав частиц, как векторизованных, так и не векторизованных [18, 19].

В условиях субхронического эксперимента ДОЦ в составе частиц PLGA-ДОЦ-ДФК и субстанцию ДОЦ вводили мышам внутривенно ежедневно 3-кратно в 2 дозах, рассчитанных исходя из МПД ДОЦ, определенной при исследовании острой токсичности на мышах при внутривенном введении: разовые дозы — 22 и 11 мг/кг. При введении ДОЦ в составе частиц PLGA-ДОЦ-ДФК в дозе 11 мг/кг гибели животных не наблюдалось. Они хорошо переносили введения, отмечалась нормальная прибавка массы тела. На всем протяжении эксперимента отклонений в поведенческих реакциях животных не отмечалось. Применение PLGA-ДОЦ-ДФК в разовой дозе, равной 22 мг/кг, к окончанию курса введений вызвало гибель 2 животных из 10. При этом выжившие самки перенесли курсовое введение по оценке общего состояния удовлетворительно. В группе с введением 22 мг/кг PLGA-ДОЦ-ДФК на 7-е сутки эксперимента наблюдалось снижение на 10,8 % массы тела по сравнению

с контрольными образцами с дальнейшим восстановлением массы тела к 15–30-м суткам наблюдения (табл. 4). При гематологическом исследовании у мышей, получавших PLGA-ДОЦ-ДФК в разовой дозе

**Таблица 3.** Параметры токсичности при 1-кратном внутривенном введении мышам препаратов сравнения PLGA-ДОЦ-ДФК, PLGA-ДОЦ и субстанции ДОЦ, мг/кг

**Table 3.** The toxicity parameters with a 1-fold IV administration of PLGA-DOC-FAD, PLGA-DOC and the substance of DOC of comparison preparations for mice, mg/kg

| Расчетные токсические дозы<br>Estimated toxic doses | PLGA-ДОЦ-ДФК<br>PLGA-DOC-FAD | PLGA-ДОЦ<br>PLGA-DOC | Субстанция ДОЦ<br>Substance DOC |
|-----------------------------------------------------|------------------------------|----------------------|---------------------------------|
| ЛД <sub>10</sub> (МПД)<br>LD <sub>10</sub> (MTD)    | 58,2 ± 5,5*                  | 57,0 ± 5,7*          | 22,0 ± 6,0                      |
| ЛД <sub>16</sub><br>LD <sub>16</sub>                | 76,0 ± 12,3*                 | 75,6 ± 12,6*         | 41,8 ± 13,3                     |
| ЛД <sub>50</sub><br>LD <sub>50</sub>                | 140,0 ± 3,7                  | 142,2 ± 3,8          | 112,0 ± 4,0                     |
| ЛД <sub>84</sub><br>LD <sub>84</sub>                | 204,0 ± 7,3                  | 208,7 ± 7,6          | 182,8 ± 8,0                     |
| ЛД <sub>100</sub><br>LD <sub>100</sub>              | 265,4 ± 4,3                  | 272,6 ± 4,4          | 250,5 ± 4,7                     |

**Примечание.** ЛД — летальная доза; МПД — максимально переносимая доза; \*различия относительно группы с введением субстанции ДОЦ статистически значимы;  $p = 0,05$ .

**Note.** LD — lethal dose; MTD — maximum tolerated dose; \*differences with DOC substance group are statistically significant;  $p = 0,05$ .

**Таблица 4.** Динамика изменения массы тела мышей после 3-кратного внутривенного введения PLGA-ДОЦ-ДФК и субстанции ДОЦ

**Table 4.** The dynamics of changes in body weight of mice after 3-fold IV administration of PLGA-DOC-FAD and the substance of DOC

| Доза, мг/кг<br>Dose, mg/kg                 | Масса тела животных, г<br>Animals' body weight, g |                                  |                                  |                                    |                                    |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
|                                            | Фон (0)<br>Background (0)                         | 3-и сутки<br>3 <sup>rd</sup> day | 7-е сутки<br>7 <sup>th</sup> day | 15-е сутки<br>15 <sup>th</sup> day | 30-е сутки<br>30 <sup>th</sup> day |
| <b>PLGA-ДОЦ-ДФК</b><br>PLGA-DOC-FAD        |                                                   |                                  |                                  |                                    |                                    |
| 11                                         | 21,4 ± 1,0                                        | 21,1 ± 0,8                       | 21,9 ± 1,2                       | 22,4 ± 1,1                         | 21,9 ± 1,4                         |
| 22                                         | 20,3 ± 1,5                                        | 19,3 ± 1,1                       | 19,0 ± 0,5                       | 21,0 ± 1,0                         | 20,8 ± 0,4                         |
| <b>Субстанция ДОЦ</b><br>Substance DOC     |                                                   |                                  |                                  |                                    |                                    |
| 11                                         | 20,7 ± 0,9                                        | 20,1 ± 1,0                       | 21,5 ± 1,1                       | 21,0 ± 1,0                         | 22,0 ± 0,9                         |
| 22                                         | 21,1 ± 1,0                                        | 20,9 ± 1,0                       | 21,6 ± 0,8                       | 21,7 ± 0,9                         | 22,0 ± 0,9                         |
| <b>Контрольная группа</b><br>Control group |                                                   |                                  |                                  |                                    |                                    |
|                                            | 21,1 ± 1,0                                        | 21,2 ± 0,8                       | 21,3 ± 0,9                       | 21,4 ± 0,6                         | 22,3 ± 0,7                         |

**Таблица 5.** Динамика изменения общего количества лейкоцитов после 3-кратного внутривенного введения PLGA-ДОЦ-ДФК и субстанции ДОЦ  
**Table 5.** The dynamics of changes in the total number of leukocytes after 3-fold IV administration of PLGA-DOC-FAD and the substance of DOC

| Доза, мг/кг<br>Dose, mg/kg                 | Количество лейкоцитов, тыс./мм <sup>3</sup><br>Leukocytes count, thousands/mm <sup>3</sup> |                                  |                                    |                                    |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
|                                            | Фон (0)<br>Background (0)                                                                  | 5-е сутки<br>5 <sup>th</sup> day | 20-е сутки<br>20 <sup>th</sup> day | 30-е сутки<br>30 <sup>th</sup> day |
| <b>PLGA-ДОЦ-ДФК</b><br>PLGA-DOC-FAD        |                                                                                            |                                  |                                    |                                    |
| 11                                         | 8,175 ± 0,6                                                                                | 7,719 ± 2,5                      | 10,34 ± 0,8                        | 6,687 ± 0,9                        |
| 22                                         | 7,958 ± 0,4                                                                                | 3,594 ± 0,9                      | 7,438 ± 1,5                        | 6,593 ± 0,7                        |
| <b>Субстанция ДОЦ</b><br>Substance DOC     |                                                                                            |                                  |                                    |                                    |
| 11                                         | 7,849 ± 0,7                                                                                | 6,25 ± 0,9                       | 5,75 ± 0,5                         | 7,469 ± 1,5                        |
| 22                                         | 8,032 ± 0,6                                                                                | 7,375 ± 1,2                      | 9,906 ± 1,6                        | 8,75 ± 1,5                         |
| <b>Контрольная группа</b><br>Control group |                                                                                            |                                  |                                    |                                    |
|                                            | 8,238 ± 0,5                                                                                | 8,172 ± 0,5                      | 8,375 ± 0,7                        | 9,25 ± 0,8                         |

**Таблица 6.** Массовые коэффициенты внутренних органов мышей на 30-е сутки после 3-кратного внутривенного введения PLGA-ДОЦ-ДФК и субстанции ДОЦ  
**Table 6.** Mass coefficients of internal organs of mice on the 30<sup>th</sup> day after 3-fold IV administration of PLGA-DOC-FAD and the substance of DOC

| Орган<br>Organ      | Массовые коэффициенты внутренних органов, %<br>Mass coefficients of internal organs % |                      |                                        |                      |                                            |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------------------------|----------------------|--------------------------------------------|
|                     | <b>PLGA-ДОЦ-ДФК</b><br>PLGA-DOC-FAD                                                   |                      | <b>Субстанция ДОЦ</b><br>Substance DOC |                      | <b>Контрольная группа</b><br>Control group |
|                     | 11 мг/кг<br>11 mg/kg                                                                  | 22 мг/кг<br>22 mg/kg | 11 мг/кг<br>11 mg/kg                   | 22 мг/кг<br>22 mg/kg |                                            |
| Печень<br>Liver     | 6,62 ± 0,37                                                                           | 6,42 ± 0,69          | 5,41 ± 0,60                            | 5,47 ± 0,37          | 6,11 ± 1,21                                |
| Почки<br>Kidneys    | 1,37 ± 0,04                                                                           | 1,46 ± 0,12          | 1,47 ± 0,25                            | 1,26 ± 0,07          | 1,34 ± 0,14                                |
| Селезенка<br>Spleen | 0,56 ± 0,09                                                                           | 0,68 ± 0,02          | 0,37 ± 0,08                            | 0,36 ± 0,06          | 0,35 ± 0,08                                |
| Легкие<br>Lungs     | 0,77 ± 0,05                                                                           | 0,72 ± 0,09          | 0,74 ± 0,12                            | 0,67 ± 0,06          | 0,64 ± 0,10                                |
| Сердце<br>Heart     | 0,58 ± 0,02                                                                           | 0,61 ± 0,06          | 0,57 ± 0,10                            | 0,52 ± 0,05          | 0,54 ± 0,06                                |

22 мг/кг, на 5-е сутки эксперимента было выявлено снижение общего количества лейкоцитов в периферической крови на 56 % относительно контрольной группы с тенденцией к восстановлению к 20–30-м суткам наблюдения (табл. 5). При применении субстанции ДОЦ (11 мг/кг) также наблюдалось снижение уровня лейкоцитов, составившее на 20-й день эксперимента 31 % относительно контрольной группы с восстановлением показателя к 30-м суткам наблюдений. Таким образом, выявленная лейкопения носила хотя

и выраженный, но обратимый характер при применении обоих сравниваемых препаратов.

Анализ массовых коэффициентов внутренних органов мышей в группах с введением PLGA-ДОЦ-ДФК показал, что массовые коэффициенты печени, почек, легких и сердца на 30-е сутки эксперимента не отличались от показателей группы контроля. Выявлено увеличение массовых коэффициентов селезенки в группах животных, получавших PLGA-ДОЦ-ДФК, более выраженное в группе с введением дозы

22 мг/кг относительно группы контроля и группы с введением субстанции ДОЦ. Следует отметить, что выявленное в исследовании увеличение относительной массы селезенки после введения полимерных частиц коррелирует с данными других авторов и может быть связано с процессами поглощения наноразмерных частиц клетками системы моноцитарных фагоцитов, присутствующей в селезенке [20–22].

Представленные результаты показали, что в условиях субхронического применения ДОЦ в составе частиц PLGA-ДОЦ-ДФК при 3-кратном введении в разовой дозе 22 мг препарат проявляет токсические свойства, так как вызывает летальность (2/10), обратимую задержку прироста массы и лейкопению у выживших животных, увеличение относительной массы селезенки. Применение препарата в разовой дозе 11 мг/кг хорошо переносилось животными: гибели животных не вызывало, клинические проявления токсичности и изменения в поведенческих реакциях отсутствовали. Таким образом, степень токсического воздействия PLGA-ДОЦ-ДФК зависела от величины вводимой дозы. Следует отметить, что переносимость PLGA-ДОЦ-ДФК и субстанции ДОЦ в режиме 3-кратного ежедневного введения в дозе 11 мг/кг была сходной, а в случае введения дозы 22 мг/кг выявлено усиление токсичности по сравнению с субстанцией. Изменение токсических свойств ДОЦ в составе частиц связано, по-видимому, с изменением биораспределения и кумулятивным действием. Таким образом, ДОЦ в составе частиц PLGA-ДОЦ-ДФК продемонстрировал приемлемый профиль токсичности. Полученные результаты позволяют предположить, что в терапевтическом диапазоне доз с оптимально подобранным режимом введения препарат не проявит токсических свойств.

### Заключение

На основании данных исследования острой токсичности на мышах при 1-кратном внутривенном

введении ДОЦ в составе PLGA-ДОЦ-ДФК и субстанции ДОЦ выявлены существенные отличия между токсическими свойствами изучаемых форм ДОЦ. Установлено, что гибель мышей при применении субстанции ДОЦ наступала на 1–2-е сутки после введения доз в диапазоне 60, 90, 120, 160 мг/кг. В случае введения PLGA-ДОЦ-ДФК летальные эффекты наступали от более высоких доз (120 и 160 мг/кг) и более отсроченно – на 1–4-е сутки после введения препарата. Картина интоксикации была сходна для сравниваемых препаратов и проявлялась в гиподинамии, нарушении координации движений, парезе задних конечностей, но развитие токсических эффектов происходило быстрее, и степень их проявления была более выражена в группах с введением ДОЦ, чем в случае применения PLGA-ДОЦ-ДФК. Полученные расчетные токсические дозы для препаратов при 1-кратном внутривенном введении мышам-самкам для PLGA-ДОЦ-ДФК были выше по сравнению со значениями для ДОЦ. Для PLGA-ДОЦ-ДФК: ЛД<sub>50</sub> – 140,0 мг/кг, ЛД<sub>10</sub> – 58,2 мг/кг; для субстанции ДОЦ: ЛД<sub>50</sub> – 112,0 мг/кг, ЛД<sub>10</sub> – 22,0 мг/кг (для ЛД<sub>10</sub> различия статистически значимы,  $p = 0,05$ ).

Изучена токсичность ДОЦ в составе частиц PLGA-ДОЦ-ДФК при 3-кратном ежедневном внутривенном введении мышам-самкам. На основании полученных данных установлено, что степень токсического воздействия PLGA-ДОЦ-ДФК зависела от величины дозы. Введение препарата в разовой дозе 22 мг вызывало летальные эффекты (2/10), обратимую задержку прироста массы и лейкопению у выживших животных, увеличение относительной массы селезенки. Применение PLGA-ДОЦ-ДФК в разовой дозе 11 мг/кг гибели не вызывало, хорошо переносилось животными и характеризовалось сходной токсичностью с субстанцией ДОЦ. Таким образом, результаты настоящего исследования позволяют рекомендовать разработанный препарат ДОЦ в составе фолатмодифицированных полимерных частиц для дальнейшего изучения.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Prabhu R.H., Patravale V.B., Joshi M.D. Polymeric nanoparticles for targeted treatment in oncology: current insights. *Int J Nanomedicine* 2015;10:1001–18. DOI: 10.2147/IJN.S56932.
2. Doppalapudi S., Jain A., Domb A.J., Khan W. Biodegradable polymers for targeted delivery of anti-cancer drugs. *Expert Opin Drug Deliv* 2016;13(6):891–909. DOI: 10.1517/17425247.2016.1156671.
3. Bahrami B., Mohammadnia-Afrouzi M., Bakhshaei P. et al. Folate-conjugated nanoparticles as a potent therapeutic approach in targeted cancer therapy. *Tumour Biol* 2015;36(8):5727–42. DOI: 10.1007/s13277-015-3706-6.
4. Санжаков М.А., Игнатов Д.В., Прозоровский В.Н. и др. Синтез адресного конъюгата для фосфолипидной системы транспорта лекарств. *Биомедицинская химия* 2014;60(6): 713–6. DOI: 10.18097/pbmc20146006713. [Sanzhakov M.A., Ignatov D.V., Prozorovskiy V.N. et al. Development of Targeted Drug Delivery System: Synthesis of Conjugates of Address Fragment (RA-COOH) With Ligand (R-NH<sub>2</sub>). *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical chemistry* 2014;60(6):713–6. (In Russ.).]
5. Suvorov N.V., Mironov A.F., Grin M.A. Folic acid and its derivatives for targeted photodynamic therapy of cancer. *Rus Chem Bulletin* 2017;66(11):1982–2008. DOI: 10.1007/s11172-017-1973-7.
6. Montero A., Fossella F., Hortobagyi G., Valero V. Docetaxel for treatment of solid tumours: a systematic review of clinical data. *Lancet Oncol* 2005;6(4):229–39. DOI: 10.1016/S1470-2045(05)70094-2.

7. PRODUCT MONOGRAPH TAXOTERE® (docetaxel for injection). Sano-fi-Aventis Canada Inc. Laval (Québec), 2017. Available by: URL: <https://www.products.sanofi.ca/en/taxotere.pdf>.
8. Su C.Y., Liu J.J., Ho Y.S. et al. Development and characterization of docetaxel-loaded lecithin-stabilized micellar drug delivery system (L<sub>α</sub>MDDs) for improving the therapeutic efficacy and reducing systemic toxicity. *Eur J Pharm Biopharm* 2018;123:9–19. DOI: 10.1016/j.ejpb.2017.11.006.
9. Nikolskaya E.D., Zhunina O.A., Yabbarov N.G. et al. The docetaxel polymeric form and its antitumor activity. *Russian J Bioorganic Chem* 2017;43:278–85. DOI: 10.1134/S1068162017030116.
10. Hu L., Pang S., Hu Q. et al. Enhanced antitumor efficacy of folate targeted nanoparticles co-loaded with docetaxel and curcumin. *Biomed Pharmacother* 2015;75:26–32. DOI: 10.1016/j.biopha.2015.08.036.
11. Esmaili F., Ghahremani M.H., Ostad S.N. et al. Folate-receptor-targeted delivery of docetaxel nanoparticles prepared by PLGA-PEG-folate conjugate. *J Drug Target* 2008;16(5):415–23. DOI: 10.1080/10611860802088630.
12. Poltavets Y.I., Zhirnik A.S., Zavarzina V.V. et al. *In vitro* anticancer activity of folate-modified docetaxel-loaded PLGA nanoparticles against drug-sensitive and multidrug-resistant cancer cells. *Cancer Nanotechnology* 2019;10(2). DOI: 10.1186/s12645-019-0048-x.
13. Полтавец Ю.И., Воронцов Е.А., Заварзина В.В. и др. Полимерный комплекс для молекулярно-прицельной терапии и способ его получения. Патент РФ № 2 675 810 C1 от 19.12.2017. [Poltavets Yu.I., Vorontsov E.A., Zavarzina V.V. et al. Polymeric complex for molecular targeted therapy and method for its obtaining. RU 2 675 810 C1, 19.12.2017. (In Russ.)].
14. Council of Europe. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. ETS 1986;123.
15. Gao H., Pang Z., Pan S. et al. Antiglioma effect and safety of docetaxel-loaded nanoemulsion. *Arch Pharm Res* 2012;35(2):333–41. DOI: 10.1007/s12272-012-0214-8.
16. Bissery M.C., Guénard D., Guéritte-Voegelein F., Lavelle F. Experimental Antitumor Activity of Taxotere (RP 56976, NSC 628503), a Taxol Analogue. *Cancer Res* 1991;51(18):4845–52.
17. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Государственное издательство медицинской литературы (Медгиз), 1963. С. 81–106. [Belen'kij M.L. Elements of quantitative assessment of pharmacological effect. Leningrad: State Publishing House of Medical Literature (Medgiz) 1963. P. 81–106. (In Russ.)].
18. Sun Y., Zhao Y., Teng S. et al. Folic acid receptor-targeted human serum albumin nanoparticle formulation of cabazitaxel for tumor therapy. *Int J Nanomedicine* 2018;14:135–48. DOI: 10.2147/IJN.S181296.
19. Lv W., Cheng L., Li B. Development and evaluation of a novel TPGS-mediated paclitaxel-loaded PLGA-mPEG nanoparticle for the treatment of ovarian cancer. *Chem Pharm Bull* 2015;63(2):68–74. DOI: 10.1248/cpb.c14-00423.
20. Demoy M., Andreux J.P., Weingarten C. et al. Spleen capture of nanoparticles: influence of animal species and surface characteristics. *Pharm Res* 1999;16(1):37–41. DOI: 10.1023/A:1018858409737.
21. Трещалин И.Д., Переверзева Э.Р., Бодягин Д.А. и др. Сравнительное экспериментальное токсикологическое исследование доxorубина и его наносомальных лекарственных форм. *Российский биотерапевтический журнал* 2008;7(3):24–33. [Treshchalin I.D., Pereverzeva E.R., Bodyagin D.A. et al. Comparative experimental toxicological study of doxorubicin and nanoparticle formulations. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2008;7(3):24–33. (In Russ.)].
22. Peracchia M.T., Fattal E., Desmaële D. et al. Stealth PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles for intravenous administration and splenic targeting. *J Control Release* 1999;60(1):121–8. DOI: 10.1016/S0168-3659(99)00063-2.

#### Вклад авторов

А.А. Крашенинникова: дизайн и проведение исследований *in vivo* — изучение острой и субхронической токсичности, статистическая обработка данных, анализ результатов;  
 В.В. Заварзина: получение и характеристика фолатмодифицированных полимерных частиц с доцетакселом;  
 Д.С. Панова: проведение исследований *in vivo* — изучение острой и субхронической токсичности, статистическая обработка данных;  
 Н.В. Гукасова: разработка дизайна и проведение исследований *in vivo* — изучение острой и субхронической токсичности, анализ результатов;  
 С.Л. Кузнецов, И.А. Тубашева, Ю.И. Полтавец: получение и характеристика фолатмодифицированных полимерных частиц с доцетакселом;  
 В.Ю. Балабаньян: разработка дизайна исследования, анализ результатов.

#### Authors' contributions

A.A. Krashenninnikova: study design and *in vivo* studies of acute and subchronic toxicity, statistical data processing, results analysis;  
 V.V. Zavarzina: preparing and characterizing docetaxel-loaded folate-modified polymer particles;  
 D.S. Panova: *in vivo* studies of acute and subchronic toxicity, statistical data processing;  
 N.V. Gukasova: study design and *in vivo* studies of acute and subchronic toxicity, results analysis;  
 S.L. Kuznetsov, I.A. Tubasheva, Yu.I. Poltavets: preparing and characterizing docetaxel-loaded folate-modified polymer particles;  
 V.Yu. Balabanyan: study design, results analysis.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Крашенинникова / A.A. Krashenninnikova: <https://orcid.org/0000-0002-7985-9314>  
 В.В. Заварзина / V.V. Zavarzina: <https://orcid.org/0000-0002-9550-4206>  
 Д.С. Панова / D.S. Panova: <https://orcid.org/0000-0001-7421-6961>  
 Н.В. Гукасова / N.V. Gukasova: <https://orcid.org/0000-0001-7163-4527>  
 С.Л. Кузнецов / S.L. Kuznetsov: <https://orcid.org/0000-0002-6290-5142>  
 И.А. Тубашева / I.A. Tubasheva: <https://orcid.org/0000-0002-9461-4219>

В.Ю. Балабаньян / V.Yu. Balabanyan: <https://orcid.org/0000-0002-5744-7060>

Ю.И. Полтавец / Yu.I. Poltavets: <https://orcid.org/0000-0002-2803-0426>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено в рамках Программы деятельности НИЦ «Курчатовский институт» и Соглашения № 14.607.21.0198 (RFMEFI60717X0198) с Министерством науки и высшего образования Российской Федерации.

**Financing.** The study was supported by the Scientific Program of the NRC “Kurchatov institute” and Agreement No 14.607.21.0198 (RFMEFI60717X0198) of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

**Соблюдение правил биоэтики.** Протокол исследования от 25.05.2018 НГ №1/109 пр. одобрен комитетом по биомедицинской этике Национального исследовательского центра «Курчатовский институт». Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.

**Compliance with the rules of bioethics.** The study protocol 25.05.2018 НГ No 1/109 was approved by the bio-medical ethics committee of National Research Center “Kurchatov institute”. The study was performed in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the protection of vertebrates used for research and other scientific purposes.

Статья поступила: 24.10.2019. Принята к публикации: 03.03.2020.

Article submitted: 24.10.2019. Accepted for publication: 03.03.2020.