

99 % по ложнопозитивным результатам 2-го рода (истинно ложнопозитивным результатам) Причины, приводящие к появлению ложнопозитивных результатов 1-го рода, многообразны и связаны с возмущениями иммунной системы вследствие острых воспалительных (инфекционных) заболеваний, аллергических проявлений, острого стресса и ряда других факторов. Наблюдающееся различие в уровне ИЦ для больных и условно здоровых доноров, вероятно, связано с многократно отмечавшимся в литературе эффектом активации натуральных киллеров лимфогенактивированными киллерами, приводящим к значительному (в разы) увеличению их цитотоксического потенциала.

Заключение. Полученные результаты указывают на принципиальную возможность использования предложенного способа для диагностики онкологических заболеваний различной нозологии на ранних стадиях развития. Необходимы дальнейшие исследования на расширенном спектре нозологий на увеличенных выборках пациентов для определения реальной чувствительности метода.

А.А. Занина¹, Е.А. Саратовских², Б.Л. Психа², Н.А. Санина²
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА – ДОНОРОВ NO С ФОСФОНОПИРВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТОЙ

¹Факультет фундаментальной физико-химической инженерии ФГАОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва
²ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. На основе нитрозильных комплексов железа – NO-доноров могут быть созданы потенциальные лекарственные препараты, обладающие способностью направленной доставки NO к биологическим мишеням. Известно, что NO инактивирует глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу, блокируя этим гликолитический синтез аденозинтрифосфата и клеточное, митохондриальное дыхание. Поскольку раковые клетки обладают ускоренным темпом гликолиза по сравнению со здоровыми, для нахождения путей его торможения исследуют метаболизм фосфонопириновинной кислоты (ФЕП) и гликолитических ферментов. Установлено, что ФЕП является мощным ингибитором ферментов гексокиназы, фосфоглюкоизомеразы, фосфофруктокиназы и альдолазы.

Цель исследования – изучение реакционной способности потенциального лекарственного препарата онкологической направленности – тионитрозильного комплекса железа (ТНКЖ), донора монооксида азота, в отношении ФЕП.

Материалы и методы. Использовали ФЕП чистоты 99 % производства фирмы Sigma, без дополнительной очистки. Комплекс ТНКЖ общей формулы $Na_2[Fe_2(S_2O_3)_2(NO)_4] \cdot 4H_2O$ синтезирован согласно методике Н.А. Саниной и соавт. [Координационная химия 2005;31(5):323]. В реакции использовали эквимольные (10^{-2} М) растворы ФЕП и ТНКЖ в бидистиллированной воде. Электронные спектры регистрировали на спектрофотометре Perkin Elmer UV-VIS Spectrometer Lambda EZ 210 (США). Инфракрасные спектры регистрировали на инфракрасном Фурье-спектрометре FT-IR ALPHA (4000–500 cm^{-1}) (Bruker, Германия). Измерения выполняли в водных растворах в капле между стеклами ZnSe при 20 °С на воздухе. Масс-спектры снима-

ли на жидкостном хромато-масс-спектрометре LCMS 20–20 (Shimadzu, Япония) без разделения на колонке. Тип ионизации – электроспрей. Масс-анализатор квадрупольный (Q). Диапазон измеряемых массовых чисел от 10 до 2000 m/z. Разрешение масс-анализатора – 0,6. Элюент – ацетонитрил/вода в соотношении 1:1.

Результаты. В системе протекают следующие процессы: 1) диссоциация ТНКЖ на 2 молекулы ДНИКтио; 2) молекула ДНИКтио взаимодействует с молекулой ФЕП с образованием [ФЕП-ДНИКтио], появляется промежуточный продукт – молекулярный ион с массовым числом 318 m/z. Далее от этого соединения отсоединяются поочередно группы NO и, наконец, $[SO_3]^-$. Образуется продукт реакции [S-Fe-ФЕП]; 3) ион $[O_3S-S-Fe]^-$, являющийся частью ДНИКтио и образовавшийся по мере диссоциации ТНКЖ, вступает во взаимодействие с ФЕП с образованием того же промежуточного продукта реакции $[O_3S-S-Fe-ФЕП]$, стабилизирующегося в виде [S-Fe-ФЕП].

Заключение. В результате реакции между ФЕП и ТНКЖ образуется новое соединение за счет образования связи железо–кислород. С помощью масс-спектрометрии установлены массы продуктов реакции. Предложены гипотетическая схема протекания реакции и строение образующихся продуктов реакции.

Н.А. Зефирова, И.В. Кузнецова, А.А. Алексеев, Г.А. Шипунов, Ю.А. Пикулина, Е.В. Нуриева, О.Н. Зефирова
АНАЛОГИ N-(7-АДАМАНТ-2-ИЛОКСИ-7-ОКСООКТАНОИЛ)-N-ДЕЗАЦЕТИЛКОЛХИЦИНА (ТУБУЛОКЛАСТИНА) С ВАРИАЦИЯМИ ЛИНКЕРА И КАРКАСНОЙ ГРУППИРОВКИ
 ФГАОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Колхицин (алкалоид *Colchicum speciosum*) обладает высокой противоопухолевой активностью за счет взаимодействия с определенным доменом белка тубулина. Ранее авторами получено производное колхицина – N-(7-адамант-2-илокси-7-оксооктаноил)-N-дезацетилколхицин (тубулокластин), проявившее высокую цитотоксичность (концентрация полумаксимального ингибирования (IC_{50}) = 6–8 нМ) по отношению к различным типам опухолевых клеток и способное в низких дозах приводить к значимому и достоверному увеличению продолжительности жизни мышей с трансплантированным лимфолейкозом Р388. В экспериментах *in vitro* была обнаружена способность тубулокластина и некоторых его аналогов вызывать образование кластеров тубулина уникальной морфологии.

Цель исследования – синтез новых аналогов тубулокластина с разнообразными вариациями линкера и адамантановой группировки, изучение их цитотоксичности и эффекта на микротубулярную сеть по отношению к клеткам карциномы легких человека А549.

Материалы и методы. Методом амидирования моноэфиров двухосновных кислот с замещенными каркасными или мостиковыми спиртами N-дезацетилколхицином (синтезированным в 3 стадии из колхицина) в присутствии N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина получена серия из 15 аналогов тубулокластина. Определение цитотоксичности проведено в стандартном колориметрическом тесте с 3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенил-2Н-

тетразолилбромидом (МТТ) по отношению к культуре клеток карциномы легких человека A549 (CCL-185). Эффект на микротубулярную сеть тех же клеток определен иммунофлуоресцентным методом с использованием моноклональных антител мышей к α -тубулину (Sigma, США) и флуоресцентно меченных AlexaFlour488 козьих вторичных антител к иммуноглобулинам мышей (Invitrogen, Германия).

Результаты. Аналоги тубулокластина с модифицированным адамантановым фрагментом проявляют цитотоксичность в наномолярном интервале концентраций, причем большинство из них более активны ($IC_{50} = 6 - 21$ нМ), чем колхицин ($IC_{50} = 27 \pm 2$ нМ). Гидрофобные и объемные заместители в адамантане независимо от их расположения мало влияют на величину цитотоксичности, которая остается во всех случаях высокой. Уменьшение активности производного аминоадамантана ($IC_{50} = 400 \pm 20$ нМ), по видимому, связано с высокой степенью его ионизации и низкой способностью проникновения в клетку. Все соединения данной серии проявляют сильный кластеризующий эффект. Цитотоксичность производных тубулокластина с модифицированным линкером зависит от числа метиленовых групп в различных фрагментах цепи.

Заключение. Для ряда аналогов тубулокластина с вариациями каркасной группировки продемонстрировано усиление цитотоксичности по отношению к клеткам карциномы легких A549 по сравнению с колхицином.

Работа поддержана грантами РФФИ (№ 15-03-04894) и РАН (ОХНМ 9).

С.В. Иванов, В.М. Симонов, Р.Л. Анисимов, А.А. Пискунов, Г.Н. Порошин, Е.В. Сазонова, И.П. Фабричный, С.Г. Аббасова, А.П. Карпов

РАЗРАБОТКА ГОМОЛОГИЧНОЙ МОЛЕКУЛЫ ИННОВАЦИОННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ БИСПЕЦИФИЧНОГО АНТИТЕЛА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ В-КЛЕТОЧНЫХ ЛИМФОМ С ЦЕЛЬЮ ПРОВЕДЕНИЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА МЫШАХ

ООО «МБЦ «Генериум», Москва

Введение. Несмотря на достигнутые успехи в лечении В-клеточных лимфом, потребность в разработке новых препаратов и подходов для их лечения остается довольно острой. Инновационный отечественный препарат нового поколения GNR-047 на основе биспецифичных моноклональных антител открывает новые перспективы для успешного лечения В-клеточных лимфом, устойчивых к стандартной таргетной терапии. Препарат GNR-047 связывается с рецептором CD3 Т-клеток и с рецептором CD19 опухолевых В-клеток, что приводит к их физическому сближению, в результате которого формируется иммунологический синапс, приводящий к лизису опухолевых CD19⁺-клеток. Ввиду отсутствия релевантного вида животного, необходимого для проведения токсикологических исследований антитела GNR-047, была инициирована разработка его мышинного гомолога. Настоящая работа посвящена получению образца биспецифичного антитела, связывающегося с мышинными рецепторами CD3 и CD19, и изучению его свойств *in vitro*.

Цель исследования – разработка мышинного гомологичного биспецифичного анти-CD3-анти-CD19-антитела и его характеристика *in vitro*.

Материалы и методы. Дизайн гена гомолога выполнен в соответствии с дизайном гена биспецифичного антитела GNR-047. Все работы, связанные с получением образца гомологичного антитела, выполняли в соответствии с внутренними операционными процедурами. Связывание гомологичной молекулы с рецепторами CD3 и CD19 на поверхности клеток мышинных линий Vcl-1 и ТК-1, клеток крови и селезенки мышей контролировали методом проточной цитометрии. Специфическую активность гомолога определяли в тесте антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC).

Результаты. При использовании последовательностей антител, специфичных к мышинным рецепторам CD3 и CD19, проведен дизайн гена гомологичного биспецифичного антитела. Сконструированы экспрессионные векторы с синтетическим целевым геном. Образец мышинного гомолога соответствующего качества получен в результате хроматографического выделения из культуральной жидкости стабильно трансфицированных клеток CHO. Показано связывание гомолога с рецепторами CD3 и CD19 на поверхности клеток мышинных линий Vcl-1 и ТК-1, лимфоцитов и спленоцитов мышей. Гомологичное мышинное антитело обладает соответствующей разрабатываемому препарату высокой ADCC-активностью при использовании спленоцитов мыши в качестве эффекторных клеток.

Заключение. Получен и охарактеризован образец мышинного биспецифичного анти-CD3-анти-CD19-антитела. Данные проведенных исследований свидетельствуют, о том, что полученное гомологичное биспецифичное антитело по своим *in vitro* характеристикам соответствует о том, что разрабатываемому препарату GNR-047 и может быть использовано для проведения токсикологических исследований на мышах.

А.В. Ивлиев, Д.А. Мудрак, Н.А. Наволокин, Г.А. Афанасьева, С.А. Тычина, М.О. Корчаков, Н.В. Полуконова, А.Б. Бучарская, Г.Н. Маслякова
АКТИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ФЛАВОНОИДСОДЕРЖАЩЕГО ЭКСТРАКТА БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО НА ФОНЕ ПЕРЕВИВАЕМОГО РАКА ПЕЧЕНИ РС-1
ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов

Цель исследования – изучить влияние флавоноидсодержащего экстракта бессмертника песчаного на активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эксперименте *in vivo* на лабораторных крысах с перевитым раком печени.

Материалы и методы. Сырье собрано на территории Саратовской области, экстракт бессмертника получен авторским способом (патент № 2482863). Дизайн эксперимента: животные с перевитым раком печени РС-1 были разделены на 2 группы. Первая – группа сравнения с опухолью без воздействия экстракта; вторая группа – экспериментальная с однократным пероральным введением экстракта бессмертника песчаного через 1 мес после пере-