

тетразолибромидом (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 AlexaFluor488 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 аминокладамантана ($IC_{50} = 400 \pm 20$ 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 сигнал, 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 Bcl-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 Bcl-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-

вивки опухоли. Животных выводили из эксперимента путем декапитации, анализ содержания гидроперекисей липидов и молекул средней массы (МСМ) проводили в сыворотке крови стандартными спектрофотометрическими методами.

Результаты. При пероральном введении экстракта бес- смертника животным с опухолью отмечали уменьшение МСМ и гидроперекисей липидов в сыворотке крови относительно соответствующих показателей группы сравнения, что свидетельствует о подавлении активности ПОЛ и снижении выраженности аутоинтоксикации.

Заключение. Пероральное введение экстракта бес- смертника белым крысам с перевитым раком печени РС-1 сопровождается уменьшением активности ПОЛ, что подтверждает перспективность дальнейшей детализации механизмов антиоксидантного эффекта растительных экстрактов, содержащих флавоноиды.

*Е.В. Игнатьева, И.В. Ярцева, Н.А. Дмитричева,
Е.В. Санарова, И.Д. Гулякин, В.А. Еремина,
Н.И. Тихонова, З.С. Шпрах*

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ЛХС-1208

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. ЛХС-1208 – препарат из класса индолокар- базолов, впервые синтезированный в лаборатории хими- ческого синтеза НИИ ЭДиТО. Разработка лекарственной формы (ЛФ) ЛХС-1208 потребовала нестандартных реше- ний, так как фармацевтическая субстанция практически нерастворима в воде. Из ряда предложенных моделей ЛФ, отличающихся составом и содержанием вспомогательных веществ, выбрана оптимальная, в состав которой включен диметилсульфоксид (ДМСО).

Цель исследования – стандартизация лиофилизиро- ванной ЛФ ЛХС-1208.

Материалы и методы. Образцы ЛФ ЛХС-1208 исследо- вали посредством гравиметрии, спектрофотометрии, по- ляриметрии, потенциометрии, тонкослойной хроматогра- фии.

Результаты. Анализ проводили по следующим крите- риям: описание, растворимость, средняя масса содержи- мого флакона и отклонение от средней массы, подлин- ность, прозрачность раствора и испытание на отсутствие механических примесей, рН раствора, содержание влаги, количественное определение. ЛФ ЛХС-1208 представляет собой сухую пористую массу желтого цвета. Подлинность подтверждали спектрофотометрически, а также методом тонкослойной хроматографии. Средняя масса содержи- мого флакона варьировала от 0,62 до 0,76 г; отклонение от средней массы не превышало $\pm 5,0$ %. Растворы содер- жимого флакона в 20 мл воды были прозрачны, а значения рН варьировала от 3,5 до 4,5. Потеря в массе при высуши- вании над фосфора пентоксидом при комнатной темпера- туре и остаточном давлении 5 мм рт. ст. не превышала 7,0 %. Как указывалось выше, в состав исследуемой ЛФ включен ДМСО, который является единственным компо- нентом ЛФ, содержащим серу. Для количественного опре- деления ДМСО в препарате был использован метод опре- деления серы по Шенигеру. Содержание ДМСО в ЛФ

составило 15,0–17,0 %. Для количественного определения ЛХС-1208 в ЛФ была применена спектрофотометрическая методика с использованием стандартного образца. Сoder- жание действующего вещества в 1 флаконе находилось в пределах от 8,1 до 9,9 мг.

Заключение. Выбраны критерии качества и разработаны методики их определения для стандартизации ЛХС-1208, лиофилизата для приготовления раствора для инъекций 9 мг.

*Е.В. Игнатьева, Н.А. Дмитричева, И.В. Ярцева,
М.А. Барышников, Н.А. Машалова,
Л.Л. Николаева, З.С. Шпрах*

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОРМУСТИНА В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Ормустин – оригинальный отечественный препарат из класса нитрозоалкилмочевин, синтезирован- ный в ИОС УрО РАН. Учеными РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработана лиофилизированная лекарственная форма (ЛФ) Ормустина.

Цель исследования – совершенствование методики количественного определения содержания Ормустина в ЛФ и технологическом концентрате.

Материалы и методы. Субстанция и ЛФ Ормустина изучались методом спектрофотометрии.

Результаты. Для количественного определения содер- жания Ормустина в технологическом концентрате и ЛФ предложена спектрофотометрическая методика прямого определения вещества с использованием стандартного образца (СО). В электронном спектре поглощения Орму- стина в области от 200 до 450 нм наблюдаются максимумы при длинах волн: 229 ± 2 нм и 396 ± 2 нм. Максимум при длине волны 229 ± 2 нм наиболее интенсивный и позволя- ет работать при низких концентрациях действующего ве- щества, что важно, поскольку Ормустин плохо растворим в воде и спирте этиловом 96 %. Ранее была разработана ме- тодика определения Ормустина при длине волны 229 ± 2 нм. В качестве СО использовали субстанцию, из которой про- извели серии испытуемой лекарственной формы. Однако повидон, который составляет значительную часть ЛФ по массе, имеет собственное поглощение в данной области спектра и мешает определению Ормустина. При выполне- нии данного варианта методики важно четко соблюдать концентрацию повидона в СО и растворе сравнения, что существенно усложняет подготовку пробы и увеличи- вает время проведения анализа. В связи с этим предложен другой вариант методики, где в качестве аналитического используется максимум поглощения при длине волны 396 ± 2 нм. Для увеличения растворимости основного ве- щества и достижения оптимальной концентрации раствора в качестве растворителя использована кислота хлористо- водородная 0,01 М. Вспомогательные вещества, входящие в состав ЛФ, не поглощают в этой области спектра и не ме- шают определению активного вещества. Это позволяет использовать для раствора сравнения растворитель. Интен- сивность поглощения растворов ЛФ в данном максимуме подчиняется закону Бугера–Ламберта–Бера в диапазоне концентраций 0,75–2,5 мг/мл в пересчете на Ормустин. Разработанная методика обладает достаточной точностью