

тивность его противоопухолевого действия и снизить возможное цитотоксическое действие на нормальные клетки.

Цель исследования – разработка систем адресной доставки Лактапина к опухолевым клеткам.

Материалы и методы. Отбор опухоль-адресованных пептидов, экспонированных в составе поверхностного белка рIII нитчатого бактериофага М13, проводили из фаговой пептидной библиотеки в системах *in vitro* и *in vivo*. Плазмиды, несущие гены, кодирующие рекомбинантный слитый белок, состоящий из опухоль-адресованного пептида и Лактапина, получали методами генной инженерии. Таким образом выведены рекомбинантные штаммы вируса осповакцины со встройкой 2 трансгенов – апоптозиндуцирующего белка лактапина и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) человека – в районы генов тимидинкиназы и вирусного ростового фактора.

Результаты. Проведен отбор опухоль-адресованных пептидов в системе *in vitro* на культурах раковых клеток мыши и человека и *in vivo* на мышинной опухолевой модели и на опухоли молочной железы человека в модели ксенографтов. Получены рекомбинантные плазмиды, кодирующие рекомбинантные слитые белки, состоящие из отобранных пептидов и Лактапина, и штаммы *Escherichia coli* – продуценты слитых белков. Цитотоксическая и апоптотическая активность рекомбинантных белков в отношении раковых клеток человека в культуре не уступает активности Лактапина, при этом тропность слитых белков к опухоли превышает тропность Лактапина в 3–5 раз. Получены рекомбинантные штаммы вируса осповакцины с двойной делецией генов тимидинкиназы и ростового фактора и встройкой в делетированные участки генома 2 трансгенов – апоптозиндуцирующего белка лактапина и ГМ-КСФ человека: VV-GMCSF Lact – вариант с секретрируемой формой лактапина; VV-GMCSF-S (long) – Lact – вариант с секретрируемой формой лактапина с длинной лидерной последовательностью; VV-GMCSF-S-Lact – вариант с секретрируемой формой лактапина с короткой лидерной последовательностью. Все полученные рекомбинанты продемонстрировали высокую цитотоксическую активность в отношении клеток рака молочной железы человека MCF7 и MDA-MB-231. Также показано, что вирус с двойными делециями (аттенуированный вирус осповакцины) адресно накапливается в клетках опухоли при внутриопухолевом введении и способен находить отдаленные метастазы и реплицироваться в них.

Заключение. Разработаны системы адресной доставки противоопухолевого препарата Лактапин, позволяющие повысить противоопухолевую эффективность лекарственного средства.

Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, А.А. Сергеев, К.А. Серезин, В.М. Бухман
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ВОСПРОИЗВЕДЕННОГО ВИНКРИСТИНА И ВИНКРИСТИНА ФИРМЫ ТЕВА
 ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В лаборатории разработки лекарственных форм РОНЦ им. Н.Н. Блохина воспроизведена лекарст-

венная форма винкристина (ВК-В), в лаборатории фармакологии и токсикологии проведено доклиническое токсикологическое изучение ВК-В в сравнении с винкристином фирмы Тева, Израиль (ВК-Т).

Цель исследования – сравнительное изучение острой и субхронической токсичности ВК-В и ВК-Т на мелких лабораторных животных для подтверждения их идентичности.

Материалы и методы. Исследования проведены на 70 мышак-самцах гибридах $B_6D_2F_1$ и 160 неинбредных крысах-самцах, полученных из разведения РОНЦ им. Н.Н. Блохина. ВК-В – раствор для внутривенного (в/в) введения с концентрацией ВК 0,93 мг/мл, во флаконе по 2 мл, серия 031014. ВК-Т – раствор для в/в введения с концентрацией ВК 1 мг/мл, во флаконе по 1 мл, серия 14F20KF. В опытах по острой токсичности препараты вводили мышам однократно в/в в диапазоне доз от 2 до 10 мг/кг, крысам – от 0,25 до 1,5 мг/кг. В опытах по субхронической токсичности препараты вводили в/в ежедневно трехкратно в 3 суммарных дозах 0,25; 0,5 и 0,75 мг/кг. Срок наблюдения за животными составил 30 сут.

Результаты. В результате проведенных исследований установлено, что ВК-В и ВК-Т у животных вызывают одинаковые проявления токсичности: пилоэрекцию, сужение глазных щелей, гиподинамию, диарею, анорексию, сукровичные выделения из носа и глаз. Установлено, что сроки гибели и число павших животных, как в опытах на мышак, так и в опытах на крысах, получавших ВК-В и ВК-Т, практически не отличаются. Получены расчетные токсические дозы для крыс ВК-В: $LD_{10} = 0,54$ мг/кг; $LD_{50} = 0,77 (0,66 \div 0,91)$ мг/кг и ВК-Т: $LD_{10} = 0,42$ мг/кг; $LD_{50} = 0,61 (0,48 \div 0,71)$ мг/кг, которые практически не отличаются друг от друга. По результатам изучения субхронической токсичности установлено, что ВК-В и ВК-Т по показателям токсичности (клинические проявления токсичности, летальность, гепатотоксичность, биомаркеры токсичности, морфометрия органов) и по результатам патоморфологического исследования практически не отличаются друг от друга.

Заключение. На основании результатов, полученных при сравнительном изучении ВК-В и ВК-Т, установлено, что препараты практически идентичны по показателям как острой, так и субхронической токсичности.

Н.Ю. Кульбачевская¹, О.И. Коняева¹, Н.П. Ермакова¹, В.А. Чалей¹, И.Б. Меркулова¹, Т.В. Абрамова¹, В.М. Бухман¹, Т.И. Малова²

ИЗУЧЕНИЕ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ БОРХЛОРИНА – НОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА В ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ НА КРЫСАХ

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва;

²ООО «ВЕТА-Гранд», Москва

Введение. Борированный хлорин еб синтезирован в ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработана лиофилизированная липосомальная лекарственная форма (ЛЛЛФ) борхлорина.

Цель исследования – изучение субхронической токсичности ЛЛЛФ борхлорина.

Материалы и методы. Работа проведена на 40 неинbredных беспородных крысах-самцах. Препарат вводили внутривенно ежедневно пятикратно в 3 суммарных дозах: 5, 15 и 30 мг/кг (максимальная суммарная доза превышает эквитерапевтическую дозу мышей (в пересчете на крыс) в 12 раз). ЛЛЛФ борхлорина растворяли в воде для инъекций до получения рекомендованной концентрации — 0,25 мг/мл. Срок наблюдения за животными после курса введения — 30 сут.

Результаты. ЛЛЛФ борхлорина не оказывала влияния на общее состояние животных, не вызывала их гибели и внешних проявлений токсичности, не изменяла поведенческие реакции животных. Препарат в суммарной дозе 30 мг/кг вызывал незначительное снижение количества эритроцитов, уровня гемоглобина, показателей гематокрита и увеличение количества тромбоцитов на 3-и сутки после окончания введения с последующим восстановлением к 7-м суткам наблюдения. ЛЛЛФ борхлорина во всех дозах вызывала умеренное дозозависимое нарушение как барьерной (изменение активности аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы), так и синтезирующей функции печени (изменение показателей общего белка). Морфологически в печени крыс (суммарная доза 30 мг/кг) на 3-и сутки обнаруживали очаги гепатоцитов с признаками вакуольной дистрофии, полностью исчезающие к 30-м суткам. Препарат в суммарных дозах 15 и 30 мг/кг оказывал влияние на функцию почек, вызывая на 3-и сутки наблюдения увеличение содержания креатинина примерно на 30 % и на 15-е — на 25–40 % суточного диуреза во всех изученных дозах. Морфологических изменений в почках крыс-самцов не отмечено. ЛЛЛФ борхлорина вызывала дозозависимое и обратимое к 30-м суткам изменение клеток ретикулоэндотелиальной системы (в селезенке и лимфатических узлах крыс), что выражалось в большом числе измененных увеличенных макрофагов, предположительно фагоцитировавших липосомы с борхлорином. Определены уровни токсических доз: суммарные дозы 5 и 10 мг/кг охарактеризованы как высокие нетоксические дозы, т. е. дозы, не вызывающие нарушений в органах и тканях животных; суммарная доза 30 мг/кг охарактеризована как низкая токсическая доза, вызывающая слабые изменения в органах и тканях животных, обратимые к концу наблюдения. Препарат во всех изученных дозах не вызывал функциональных и морфологических изменений в сердце и поджелудочной железе крыс.

Заключение. ЛЛЛФ борхлорина рекомендована для дальнейшего изучения.

Г. Б. Лана, Н. И. Мусеева

3-АМИНО-ИЗОХИНОЛИНЫ – НОВЫЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ ИНГИБИТОРЫ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 4В (PDE4B)

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

Введение. Фосфодиэстераза 4В (PDE4B) является составной частью сигналысомы некоторых GPCR-рецепторов, например глюкагона, и участвует в регуляции уровня циклического аденозинмонофосфата. В линиях HCT116, HKE3, MOLT-4, в изолятах карцином толстого кишечника,

прямой кишки и некоторых форм лейкоemий наблюдается гиперэкспрессия изоформ PDE4 (A, B, D и др.), что влияет на дезрегуляцию уровня циклического гуаноцилтрифосфата, обусловленную KRAS- или NRAS-онкогенами. Ряд спазмолитиков – ингибиторов PDE показали слабый цитотоксический эффект (папаверин IC_{50} 9,0 μ M на HCT116) и очень слабый противоопухолевый эффект на ксенографтах (силденафил). Нами ранее синтезирована первичная комбинаторная библиотека на основе виртуального скрининга на ингибирование PDE. Проведен ее первичный скрининг в МТТ-тесте на линиях HCT116 и K562.

Цель исследования – накопление информации по соотношению структура – активность (SAR) для 3-аминоизохинолинов (структурных аналогов папаверина) для того, чтобы синтезировать и скринировать лидерные соединения, активные в МТТ-тесте на линиях HCT116, K562 и в тестах *in vivo*; найти для лидерных соединений основную молекулярную мишень, определяющую цитотоксический эффект.

Материалы и методы. Виртуальный скрининг провели в PASS-online и докингом (AutoDockTools-Vina). Библиотека разработана на основе скаффолда – 1-метил-3-амино-6,7-диметокси-изохинолина синтезом амидов и уреидов. МТТ-тест проводили на линиях HCT116, K562. Соединения с IC_{50} менее 10 μ M передавали для фенотипического скрининга на 3DF-линиях Hke3-wt KRAS с PDE4A и Hke3-mt KRAS с PDE4B, а также для определения чувствительности к 60 клеточным линиям DTP (NCI).

Результаты. В виртуальном скрининге отбирались виртуальные соединения с вероятностью проявления ингибирующей PDE-активности выше 0,4, а также способные образовывать водородные связи между их метоксилами и Phe372, Gln369 активного центра PDE4D (3IAK. pdb). Синтезированные уреиды 3-амино-изохинолина имели плохую растворимость, а также низкую активность в МТТ-тесте: IC_{50} более 50 μ M. Амиды проявили лучшую растворимость в диметилсульфоксиде и большую активность на HCT116 в сравнении с K562. SAR показало, что паразамещенные амиды, в том числе и *p*-аминобензойной кислоты, были более активны по сравнению с мета-изомерами. В первичном МТТ-тесте были отобраны 3 лидерных соединения: LGB-012E, LGB-014E и LGB-086. Дальнейший скрининг выявил, что LGB-014E имело GI_{50} 1,9 μ M на T-47D в тестах DTP (NCI), а LGB-086 имело IC_{50} 0,9 μ M на HCT116. Все 3 соединения показали ингибирование роста только на 3DF Hke3-mt KRAS-линиях от 38 до 60 % при 50 μ M. Чтобы показать биоактивность скаффолда были синтезированы амиды, в которых 3-амино-изохинолин был заменен похожим по геометрии и размерам 2-аминонафталином. Амиды 2-аминонафталина проявили меньшую на 30 % активность в МТТ-тесте.

Заключение. На основании вторичного МТТ-скрининга были отобраны 2 лидерных соединения: LGB-014E и LGB-086. Поскольку эти соединения ингибируют рост только на 3DF Hke3-mt KRAS-линиях, то основной молекулярной мишенью является PDE4B. Активность соединений обусловлена именно присутствием 1-метил-3-амино-6,7-диметокси-изохинолинового фрагмента.