

щевода и нейробластомой. Пептиды этих белков распознаются цитотоксическими Т-лимфоцитами в комплексе с молекулой HLA. Кроме того, антитела к белкам семейства GAGE обнаруживаются в сыворотке больных меланомой, раком толстой кишки и Т-клеточными лимфомами. Таким образом, белки GAGE могут быть подходящими мишенями для специфической иммунотерапии. Разработка препаратов рекомбинантных белков является перспективным направлением в иммунотерапии, так как в отличие от пептидов полноразмерные белки могут стимулировать как CD4-, так и CD8-лимфоциты, и не зависят от подтипа HLA пациента.

Цель исследования — получить высокоочищенный рекомбинантный раково-тестикулярный белок GAGE1.

Материалы и методы. Кодированная последовательность гена была получена с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией; в качестве матрицы использовали выделенную рибонуклеиновую кислоту из линии клеток эритромиелоидного лейкоза K562. Кодированная последовательность гена была клонирована в плазмиду pET-30a, и белок был экспрессирован в штамме *Escherichia coli* BL21 (DE3) pLysS. Нуклеотидная последовательность всех элементов плазмиды и гена *GAGE1* подтверждена секвенированием. Рекомбинантный белок GAGE1 был очищен с помощью металл-аффинной хроматографии.

Результаты. Нами была получена плаزمиды для экспрессии гена *GAGE1* в бактериальных клетках на основе вектора pET-30a. Рекомбинантный белок GAGE1 был экспрессирован под контролем индуцируемого промотора в суспензионной культуре клеток *E. coli*. Были подобраны условия для оптимальной экспрессии и очистки белка из бактериальных клеток. Выход целевого продукта составил 6 мг/л бактериальной культуры. Согласно данным электрофореза, масса полученного продукта составила примерно 24 кДа, что соответствует массе природного белка GAGE1. Чистота рекомбинантного белка также оценивалась по электрофореграмме и составила 95 %.

Заключение. Получен бактериальный продуцент рекомбинантного человеческого антигена GAGE1. Очищенный белок GAGE1 может быть использован для широкого спектра исследований в онкологии и иммунологии, например для получения специфических антител. На основе рекомбинантного белка GAGE1 можно создавать противоопухолевые вакцины с применением адъювантов или дендритных клеток. Кроме того, с помощью этого белка можно оценивать специфический гуморальный ответ в сыворотке крови онкологических больных.

Ю.М. Фоменко¹, Н.А. Кабилдина¹, И.М. Омарова², Г.Х. Тулеуова³, С.С. Жумакаева¹, В.Б. Сирота¹

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АРГЛАБИНА ПРИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹КГМУ, Караганда, Казахстан;

²КГП «Областной онкологический диспансер», Караганда, Казахстан;

³АО МНПХ «Фитохимия», Караганда, Казахстан

Цель исследования — повышение степени доказательности клинической эффективности препарата арглабин

путем проведения рандомизированного клинического исследования.

Материалы и методы. В исследование включены 93 пациента с местно-распространенным раком молочной железы (МРРМЖ) с гистологической и иммуногистохимической верификацией в возрасте от 30 до 75 лет. Все больные разделены на 3 группы: 2 исследуемые, 1 контрольная. В контрольной группе 36 пациентам проводили 4 курса неoadъювантной химиотерапии (ХТ) по схеме АС (доксорубицин — 50 мг/м², циклофосфан — 500 мг/м²) каждые 21 день, радикальную мастэктомию, 4 курса адъювантной ХТ (АС), лучевую терапию и гормональную терапию по показаниям. Исследуемая группа 1 ($n = 30$) получала лечение по аналогичной схеме, только режим ХТ (АС) сочетался с арглабином (арглабин 370 мг/м² в течение 7 дней). Исследуемая группа 2 ($n = 27$) получала лечение по аналогичной схеме, но в неoadъювантном и адъювантном режиме применяли монотерапию арглабином. Клиническую эффективность оценивали по критериям Всемирной организации здравоохранения.

Результаты. Частичный ответ опухоли у больных после ПХТ по схеме АС наблюдали в $58,3 \pm 8,2$ %, после АС с арглабином — в $63,3 \pm 8,8$ %, после монотерапии арглабином — в $25,9 \pm 8,4$ % случаев ($p \geq 0,05$); стабилизацию опухоли соответственно в $38,9 \pm 8,1$ %, $33,3 \pm 8,6$ %, $51,9 \pm 9,6$ %. Степень регрессии опухоли у больных МРРМЖ составила после ХТ по схеме АС $54,6 \pm 6,9$ %, после АС с арглабином — $57,1 \pm 7,9$ %, после монотерапии арглабином — $10,0 \pm 15,1$ %. Степень регрессии метастатических подмышечных лимфатических узлов у пациентов после неoadъювантной терапии по схеме АС составила $39,6 \pm 7,0$ %, после АС с арглабином — $63,7 \pm 14,1$ %, после монотерапии арглабином — $2,9 \pm 20,2$ %. В контрольной группе лекарственный патоморфоз опухоли III и IV степени имели 25 % больных, после неoadъювантной ХТ по схеме АС + арглабин — 33,3 %, после монотерапии арглабином — 14,8 %.

Заключение. Наблюдается общая положительная динамика регрессии опухоли и лимфатических узлов после неoadъювантной ПХТ при ее комбинации с арглабином у больных МРРМЖ.

Д.С. Хачатрян¹, В.А. Мисюрин²,

М.А. Барышникова^{1,2}, В.Н. Осипов^{1,2},

А.Н. Балаев¹, А.В. Колотаев¹, К.Р. Матевосян³

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ 1,2-ДИГИДРО-4-ХИНАЗОЛИНОВ

¹ФГУП «ИРЕА», Москва;

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

³ФГБОУ ВО «РХТУ им. Д.И. Менделеева», Москва

Введение. Интерес к синтезу и изучению свойств производных хиназолина в последние десятилетия объясняется их разноплановой биологической активностью. В частности, ранее синтезированные Khan-0101 и Khan-0140 подтвердили такую мультиактивность. Соединения SMR000040130 ингибировали рост клеток рака легкого, но при этом проявляли кардио- и нейротоксичность. Ряд полученных 2,3-дигидрохиназолин-4(1H)-онов активны в отношении опухолевых линий клеток HepG2, MCF-7; некоторые производные изоиндоло[2,1-a]-хиназолина являются ингибиторами фак-

тора некроза опухоли α . Поэтому разработка удобных методов получения и синтез новых производных 1,2-дигидро-4(3Н)-хиназолинонов остается актуальной задачей в настоящее время.

Цель исследования — синтез и оценка *in vitro* противоопухолевой активности новых производных 1,2-дигидро-4-хиназолинонов, являющихся аналогами природных алкалоидов.

Материалы и методы. Для оценки противоопухолевой активности использовали МТТ-тест. Исследование проводили на клеточных линиях опухолей человека: карциноме толстой кишки НСТ116, карциноме простаты РС3, карциноме легкого А549, аденокарциноме молочной железы МСF7, Т-клеточном лимфобластном лейкозе Jurkat, полученных из Банка клеточных линий РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Активными считали соединения, у которых IC_{50} была меньше или равна 100 мкМ.

Результаты. В результате проведенных исследований был разработан препаративный метод синтеза ряда производных хиназолинона (более 200 структур) реакцией конденсации полученных ранее амидов антралиновой кислоты (более 20 производных) с (гетеро)-ароматическими альдегидами. Необходимые альдегиды получали хлорметилированием анисового альдегида с последующей заменой атома хлора О-, N-, S-нуклеофилами. Исследование цитотоксической активности показало, что соединение Khan-0120 в концентрации 100 мкМ ингибировало рост клеток линии МСF7 на 92 %.

Заключение. Нахождение цитотоксически активных веществ в ряду синтезированных 1,2-дигидро-4(3Н)-хиназолинонов говорит о перспективности данного направления исследований. Соединения, у которых обнаружена противоопухолевая активность *in vitro*, будут исследованы для подтверждения противоопухолевого эффекта на перививаемых опухолях экспериментальных животных *in vivo* и в случае положительного результата будут предложены для проведения доклинических исследований в целях создания новых противоопухолевых препаратов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках Соглашения № 14.576.21.0044 от 05.08.14 (RFMEFI57614X0044).

А. Хашем¹, А.А. Матюшин¹, А.О. Райков¹, М.А. Барышникова², В.С. Косоруков², И.И. Краснюк¹

РАЗРАБОТКА ИММУНОЛИПОСОМ, НАГРУЖЕННЫХ ФОТОСЕНСОМ

¹ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»

Минздрава России, Москва;

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Фотосенс применяется для фотодинамической терапии целого ряда опухолей, однако высокая эффективность лекарственной формы Фотосенса сочетается с достаточно высокой фототоксичностью. Иммунолипосомальная лекарственная форма способствует направленной доставке препаратов к опухолевым клеткам-мишеням, благодаря чему снижается их токсичность и увеличивается селективность действия.

Цель исследования — разработка анти-Her2-иммунолипосомальной лекарственной формы Фотосенса для сни-

жения фототоксичности и увеличения избирательности действия препарата.

Материалы и методы. Субстанция Фотосенса («НИОПИК»), яичный фосфатидилхолин, холестерин, DSPE-PEG-2000 (Lipoid), pNP-PEG-3000-lipid. Гуманизированные моноклональные антитела анти-Her2/neu были получены в лаборатории трансгенных препаратов НИИ ЭДитО РОНЦ им. Н.Н. Блохина.

Результаты. Липосомы получали методом обращения фаз из фосфатидилхолина, холестерина, DSPE-PEG-2000 и pNP-PEG-3000-lipid. Липидную пленку снимали водным раствором Фотосенса и полученную дисперсию последовательно пропускали через поликарбонатные мембранные фильтры с диаметром пор 400, 200 и 100 нм на ручном мини-экструдере. Моноклональные антитела Her2 присоединяли к pNP-PEG-3000-lipid, включенному в состав липосом исходя из мольного соотношения белок/pNP-PEG3000-lipid 1:40 при pH 8,3, температуре 4 °C в течение 12 ч. Проводили очистку полученных иммунолипосом методом гель-фильтрации. Диаметр иммунолипосом определяли с помощью прибора Nicomp 380 Submicron Partical Sizer. Специфическое связывание полученных иммунолипосом с Her2-положительными клетками рака молочной железы оценивали в реакции иммунофлуоресценции с помощью проточной цитофлуориметрии.

Заключение. Получены иммунолипосомы диаметром 120 ± 5 нм, содержащие 6 мг/мл Фотосенса. Включение Фотосенса в иммунолипосомы составило 61 %. После инкубации Her2-положительных клеток молочной железы человека линии SK-BR-3 с иммунолипосомальным Фотосенсом регистрировали 95 % связывание иммунолипосом с клетками-мишенями.

Т.С. Хлыстова¹, Н.Д. Олтаржевская¹,

И.А. Эйзенах², И.М. Липатова³

ЛЕЧЕБНЫЕ ГИДРОГЕЛЕВЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ОНКОУРОЛОГИИ

¹ООО «КОЛТЕКС», Москва;

²МБЛПУ «ГКБ № 1», Новокузнецк;

³ФГБУН «ИХР им. Г.А. Крестова», Иваново

Введение. При онкологических заболеваниях в области малого таза в большинстве случаев вовлекаются в патологический процесс органы мочевыделительной системы. Их терапия вызывает большие трудности. Высокую эффективность при лечении циститов, в том числе лучевых, показали гидрогелевые материалы для направленной доставки лекарственных препаратов (ЛП) на основе биополимера альгината натрия «Колегель» с деринатом и лидокаином и «Колегель» с диоксидином и лидокаином. С учетом положительных результатов внутрипузырной терапии циститов солями гиалуроновой кислоты, было предложено объединение лечебных свойств альгината (АН) и гиалуроната натрия (ГН) в одном материале.

Цель исследования — создание лечебного гидрогелевого материала для внутрипузырного подведения ЛП с повышенной биологической активностью, достигаемой за счет использования 2 биополимеров — АН и ГН (входящий в состав уротелия), с хорошими защитными (адгезивными)