

РАЗРАБОТКА НОВОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛОКАРБАЗОЛА ЛХС-1208

И.Д. Гулякин, А. Хашем, Л.Л. Николаева, М.В. Дмитриева, Д.А. Афанасьева,
М.А. Барышникова, Н.А. Оборотова, А.В. Ланцова

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва,
Каширское шоссе, 24

Контакты: Илья Дмитриевич Гулякин ilya.gulyakin@yandex.ru

Цель исследования – создание стабильной липосомальной лекарственной формы отечественного гидрофобного противоопухолевого соединения из группы производных индолокарбазолов – ЛХС-1208.

Материалы и методы. Количественное содержание препарата в липосомах определяли спектрофотометрическим методом с использованием стандартного образца при $\lambda = 320 \pm 2$ нм. Эффективность включения рассчитывали по соотношению концентрации препарата в липосомальной дисперсии после фильтрации через нейлоновые мембранные фильтры «Pall» с порами диаметром 0,22 мкм на экструдере к концентрации ЛХС-1208 в липосомальной дисперсии до фильтрации. Определяли рН липосом методом потенциометрии. Размер липосом изучали с использованием наносайзера. Цитотоксическую активность изучали в МТТ-тесте.

Результаты. Были получены и проанализированы экспериментальные модели составов липосомальной лекарственной формы ЛХС-1208 с различными молярными соотношениями компонентов. Выбран состав со следующими молярными соотношениями ЛХС-1208: лецитин – 1:150 и лецитин : холестерин : PEG-2000 – 1:0,2:0,003. В данном составе наблюдался максимальный уровень включения ЛХС-1208 (94 %) в липосомы с наиболее приемлемым размером везикул (185 ± 10 нм). Изучена цитотоксическая активность липосомальной лекарственной формы ЛХС-1208, концентрация вещества, вызывающая гибель 50 % клеток (IC_{50}), составила 1,24 мкг/мл.

Заключение. В результате проведения комплекса фармацевтических исследований определен оптимальный состав компонентов и разработана технология получения липосомальной лекарственной формы ЛХС-1208.

Ключевые слова: ЛХС-1208, липосомы, стерилизующая фильтрация, наносайзер

DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-2-55-60

THE DEVELOPMENT OF NEW TECHNOLOGY OF THE DOSAGE FORM FOR INTRAVENOUS ADMINISTRATION INDOLOCARBAZOLE DERIVATIVE LHS-1208

I.D. Gulyakin, A. Hashem, L.L. Nikolaeva, M.V. Dmitrieva, D.A. Afanasieva, M.A. Baryshnikova, N.A. Oborotova, A.V. Lantsova
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashyrskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia

Objective. Aim of this work was to create a stable liposomal dosage form of native hydrophobic antitumor compound from the group of indolocarbazoles – LHS-1208.

Materials and methods. Quantitative analysis of the drug content in liposomes was determined by spectrophotometry with a standard sample at $\lambda = 320 \pm 2$ nm. The encapsulation was investigated as the ratio of LHS-1208 concentration in the liposomal dispersion after extrusion through nylon membrane filters 0.22 μ m “Pall” to concentration LHS-1208 in liposomal dispersions before filtration. pH of the liposome was determined by the method of potentiometry. The size of liposomes was evaluated by nanosizer. Cytotoxic activity was studied by MTT-test.

Results. Experimental liposomal models of LHS-1208 with different molar ratios of the components were obtained and analyzed. Composition with the molar ratios LHS-1208: lecithin 1:150, and lecithin : cholesterol : PEG-2000 – 1:0,2:0,003 was selected. Encapsulation percentage of LHS-1208 was 94 % and size of the vesicles was 185 ± 10 nm. Cytotoxic activity of liposomal LHS-1208 was studied, IC_{50} was 1.24 μ g/ml.

Conclusion. As a result of complex pharmaceutical research determined the optimum composition of the components and the technology for production of liposomal dosage form LHS-1208.

Key words: LHS-1208, liposomes, sterilizing filtration, nanosayzer

Введение

Актуальной задачей онкологии является создание новых отечественных противоопухолевых препаратов, избирательно разрушающих опухолевую ткань [1–4]. Среди широкого спектра химических соединений особый интерес представляют препараты из группы производных индолокарбазолов. N-гликозиды замещенных индоло[2,3-а]карбазолов и родственных соединений – это группа синтетических соединений, обладающих противоопухолевой, антибактериальной и иммуномодулирующей активностью [5–8].

Значительные успехи фундаментальной медицины в изучении механизма злокачественной трансформации клеток и процесса метастазирования новообразований позволили определить новые мишени воздействия потенциальных противоопухолевых средств. Отличительной особенностью механизма действия препаратов группы производных индокарбазолов является способность взаимодействовать с несколькими мишенями и индуцировать различные пути гибели опухолевых клеток. Для этих соединений такими мишенями служат топоизомеразы, ДНК и протеинкиназы [9–12].

В настоящее время работу по исследованию возможностей получения новых препаратов на основе производных индокарбазолов проводит НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России [13]. В лаборатории химического синтеза синтезирована субстанция производного индоло[2,3-а]карбазола ЛХС-1208, для которой в лаборатории разработки лекарственных форм создана модель лекарственной формы «лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 9 мг» (ЛХС-1208-лио) [14–18]. Доклинические исследования показали высокий противоопухолевый эффект разработанной лекарственной формы ЛХС-1208 на опухолях различного гистогенеза, а также установлено преимущество данного препарата по длительности противоопухолевого действия в сравнении с иринотеканом. Кроме того, изучены механизмы противоопухолевого действия ЛХС-1208 [19, 20]. В результате изучения «острой» токсичности ЛХС-1208-лио были получены расчетные токсические дозы при внутрибрюшинном применении у мышей, самок и самцов [21].

Однако при изучении «субхронической» токсичности ЛХС-1208-лио установлено, что препарат вызывает недозозависимые изменения на электрокардиограмме: увеличение интервалов PQ и QT, понижение вольтажа зубца R и выпадение зубца R (нарушение сердечного ритма), что свидетельствует о нарушении электрической проводимости. Эти изменения могут расцениваться как признаки кардиотоксичности [22]. Разработка липосомальной лекарственной формы (ЛЛФ) может решить вопрос об устранении дан-

ных побочных эффектов, поскольку липосомальные препараты в незначительном количестве проникают в миокард и скелетные мышцы [23].

Низкая избирательность противоопухолевого действия цитотоксических препаратов приводит к дозозависимому эффекту, ограничивающему их применение в клинике. Чем больше доза препарата, тем выше терапевтический эффект и тем больше токсических проявлений [24]. Противоопухолевые препараты отличаются от других лекарств высокой агрессивностью, химической нестабильностью во внешней среде и сильным местнораздражающим действием. В связи с этим большинство препаратов выпускаются в виде жидких или лиофилизированных растворов и применяются в виде внутривенных инфузий. Эти свойства могут меняться с изменением лекарственной формы препарата и путей его введения. Терапевтические подходы к совершенствованию химиотерапии рака сфокусированы на разработке новых систем доставки лекарств непосредственно к злокачественной клетке без повреждения нормальной ткани [25].

По сравнению с обычными инъекционными растворами применение ЛЛФ имеет преимущества. Включение лекарственных веществ в липосомы снижает концентрацию свободных препаратов в кровяном русле и препятствует их ферментативному разрушению и, следовательно, их быстрому выведению почками, за счет изменения фармакокинетики и биораспределения препарата снижается общая токсичность и возрастает терапевтический индекс. Кроме того, липосомы преодолевают множественную лекарственную устойчивость, они биodeградируемы и не вызывают иммунного ответа [26–31].

Цели исследования – создание стабильной ЛЛФ ЛХС-1208, а также изучение и оценка ее цитотоксической активности в сравнении с ранее разработанной лекарственной формой.

Материалы и методы

Препараты и реактивы

Субстанция ЛХС-1208 (аминоиндокарбазол) – аморфный порошок оранжевого цвета без запаха (ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, патент РФ № 2548045); яичный фосфатидилхоллин – лецитин Е РС S (Lipoid, Германия); холестерин (Sigma, Япония); пегелированный дистеароилфосфатидилэтанолламин PEG-2000-DSPE (Lipoid, Германия); ацетон стабилизированный, химически чистый («Химмед», Россия); хлороформ стабилизированный, химически чистый («Химмед», Россия); спирт этиловый 95 % (ФС. 2.1.0036.15, «РосБио», Россия).

Приборы и аппаратура

Весы аналитические Sartorius 2405 (Sartorius AG, Германия), весы лабораторные Sartorius LA 1200 S (Sar-

torius AG, Германия), рН-метр HANNA pH 211 (Hanna Instruments, Германия), испаритель ротаторный Rotavapor R-200 (BUCHI Labortechnik AG, Швейцария), экструдер Lipex™ Thermobarrel Extruder на 10 мл (Northern Lipids Inc., Lipids Biomembranes, Inc., Канада), нейлоновые мембранные фильтры «Pall» с порами диаметром 1,2 мкм, 0,45 мкм и 0,22 мкм (Pall Corporation, США; ООО «Палл Евразия», Россия), гомогенизатор Microfluidizer M-110S (Michael Benalt Inc., США), наносайзер Nicomp-380 Submicron Particle Sizer (Particle Sizer Systems, США), спектрофотометр Cary 100 (Varian, Inc., Австралия).

Количественное определение ЛХС-1208 в липосомах

Количественное содержание препарата в липосомах определяли спектрофотометрическим методом с использованием стандартного образца (СО) при $\lambda = 320 \pm 2$ нм. Оптическую плотность спиртовых растворов липосомального ЛХС-1208 и СО измеряли в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм относительно 95 % этилового спирта. Концентрацию ЛХС-1208 в липосомальной дисперсии (мг/мл) рассчитывали по формуле

$$X = \frac{A_1 \cdot V_1 \cdot \alpha}{A_0 \cdot V_0},$$

где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора СО ЛХС-1208; α – навеска СО; V_1 – величина разбавления испытуемого раствора; V_0 – величина разбавления СО.

Определение степени включения ЛХС-1208 в липосомы

В связи с тем, что ЛХС-1208 является гидрофобным веществом и при получении липосом включается непосредственно в липидный бислой, эффективность включения рассчитывали по соотношению концентрации препарата в липосомальной дисперсии после фильтрации через нейлоновые мембранные фильтры «Pall» с порами диаметром 0,22 мкм на экструдере к концентрации ЛХС-1208 в липосомальной дисперсии до фильтрации. Показатель выражали в процентах:

$$\text{ЭВ} = \frac{C_{\text{ф}}}{C_{\text{п}}} \times 100 (\%),$$

где ЭВ – эффективность включения, %; $C_{\text{ф}}$ – концентрация ЛХС-1208 в дисперсии после фильтрации, мг/мл; $C_{\text{п}}$ – концентрация ЛХС-1208 в дисперсии до фильтрации, мг/мл.

Определение размера липосом

Анализ среднего диаметра липосом проводили методом корреляционной спектроскопии светорассеяния с использованием наносайзера.

Определение рН липосомальной дисперсии

Определение значения рН осуществляли методом потенциометрии с использованием рН-метра HANNA pH 211. В липосомальной дисперсии значение рН измеряли не разбавляя. Предварительно определяли значение рН воды для инъекций.

Изучение цитотоксической активности в МТТ-тесте

Исследование проводили на клеточной линии карциномы толстой кишки НСТ-116. Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10 % телячьей эмбриональной сыворотки, глутамина и антибиотиков. С культуральных флаконов клетки снимали раствором Версена.

Для постановки МТТ-теста клетки рассаживали в 96-луночные планшеты в количестве 3 тыс. клеток на лунку. Через сутки, после того как клетки прикреплялись к пластику, в лунки добавляли исследуемые препараты в концентрациях 1,8; 0,9; 0,4 мкг/мл и инкубировали в течение 48 ч при температуре 37 °С и 5 % CO_2 . Через 48 ч в лунки добавляли раствор МТТ, который в митохондриях метаболически активных клеток восстанавливается с помощью дегидрогеназ в формазан, представляющий собой кристаллы фиолетового цвета. Через 4 ч в лунки добавляли диметилсульфоксид для растворения образовавшихся кристаллов формазана и производили подсчет оптической плотности на фотометрическом анализаторе «Multiskan» (Thermo Labsystems) при длине волны 540 нм. Величина поглощения прямо пропорциональна числу живых клеток.

Цитотоксичность (Ц, %) рассчитывали по формуле

$$\text{Ц} = (1 - (O_0/O_k)) \times 100 \%,$$

где O_0 – оптическая плотность в опытных лунках, O_k – оптическая плотность в контрольных лунках.

Для характеристики цитотоксического эффекта определяли ИК_{50} – концентрацию вещества, вызывающую гибель 50 % клеток.

Результаты и обсуждение

Молярные соотношения липидов ЛЛФ ЛХС-1208 подбирали экспериментально с учетом гидрофобных свойств действующего вещества. В качестве основного компонента, формирующего бислой, применяли лецитин. Для придания бислою необходимого уровня жесткости добавляли холестерин. Для предотвращения опсонизации и поглощения липосом клетками ретикулоэндотелиальной системы в состав лекарственной формы вводили PEG-2000-DSPE.

Были получены и проанализированы экспериментальные модели составов ЛЛФ ЛХС-1208 с различными молярными соотношениями компонентов

Таблица 1. Модельные составы липосомальной лекарственной формы ЛХС-1208

№	Молярное соотношение ЛХС-1208 : лецитин	Молярное соотношение лецитин : холестерин : PEG-2000	Эффективность включения, %	Размеры везикул после экструзии, нм	Концентрация ЛХС-1208, мг/мл
1	1:50	1:0,25:0,003	59	215 ± 10	0,6
2	1:100	1:0,25:0,003	75	195 ± 10	0,4
3	1:125	1:0,25:0,003	85	200 ± 10	0,3
4	1:150	1:0,25:0,003	91	205 ± 10	0,2
5	1:150	1:0,33:0,003	92	185 ± 10	0,3
6	1:150	1:0,2:0,003	94	185 ± 10	0,3
7	1:150	1:0,14:0,003	80	185 ± 10	0,3
8	1:150	1:0,1:0,003	75	185 ± 10	0,3
9	1:175	1:0,25:0,003	65	190 ± 10	0,2

(табл. 1). Наибольшее количество включенного препарата в липосомах — основной показатель качества дисперсии. Также для эффективного применения липосомальной лекарственной формы важно, чтобы размеры везикул составляли 100–200 нм [32, 33].

В процессе определения оптимального состава липосомальной формы с ЛХС-1208 с учетом указанных выше критериев качества липосомальной дисперсии был выбран состав № 6 со следующими молярными соотношениями ЛХС-1208 : лецитин — 1:150 и лецитин : холестерин : PEG-2000 — 1:0,2:0,003. При использовании данного состава наблюдался максимальный уровень включения ЛХС-1208 (94 %) в липосомы с наиболее приемлемым размером везикул (185 ± 10) (см. табл. 1).

Липосомы с ЛХС-1208 получали по методу Бэнгема в модификации для гидрофобных субстанций с использованием лецитина, холестерина и PEG-2000-DSPE [34]. Ацетоно-хлороформный раствор (1:1) компонентов ЛЛФ упаривали на роторном испарителе до образования полупрозрачной липидной пленки, которую досушивали под вакуумом (–0,9 бар) в течение 30 мин. Затем пленку гидратировали водой для инъекций с получением дисперсии многослойных липосом с pH = 7,0 ± 0,5, которые потом измельчали до получения однослойных и однородных везикул приемлемого размера.

В процессе разработки ЛЛФ ЛХС-1208 исследовали способы измельчения многослойных липосом — гомогенизацию (микрофлюидизацию) и экструзию. Поскольку ЛХС-1208 является термолабильным лекарственным веществом, для измельчения липосомальной дисперсии ультразвуковую обработку не применяли.

Размер везикул при экструзии определяется главным образом диаметром пор фильтрующих мембран

и количеством циклов пропускания дисперсии через фильтр [35]. Липосомальную дисперсию ЛХС-1208 последовательно экструдировали через нейлоновые мембранные фильтры «Pall» с уменьшающимся размером пор (1,2; 0,45 и 0,22 мкм) на экструдере «Lipex™ Thermobarrel Extruder» под давлением 0,9 бар. Из результатов исследования, представленных в табл. 2, видно, что оптимальным режимом экструзии липосом ЛХС-1208 является последовательное пропускание дисперсии через нейлоновые мембранные фильтры с уменьшающимся размером пор: 1 раз через фильтр с порами 1,2 мкм, 1 раз через фильтр с порами 0,45 мкм и 2 раза через фильтры с порами 0,22 мкм.

Таблица 2. Влияние экструзии на качество ЛЛФ ЛХС-1208

Диаметр пор фильтра, мкм	Количество циклов	Размеры везикул, нм
0,45	1	205 ± 5
	1	195 ± 5
0,22	2	185 ± 5
	3	185 ± 5

Помимо экструзии липосомы измельчали с применением метода гомогенизации на Microfluidizer M-110S. Использование гомогенизации позволило получить дисперсию липосом ЛХС-1208 с меньшим, чем при экструзии, размером частиц (диаметр преобладающей фракции 60 нм). Однако при гомогенизации наблюдаются большие потери препарата — около 50 % объема дисперсии. В связи с этим данный метод при дальнейших технологических исследованиях не использовали [36].

Таким образом, в результате эксперимента установлено, что наиболее оптимальным способом из-

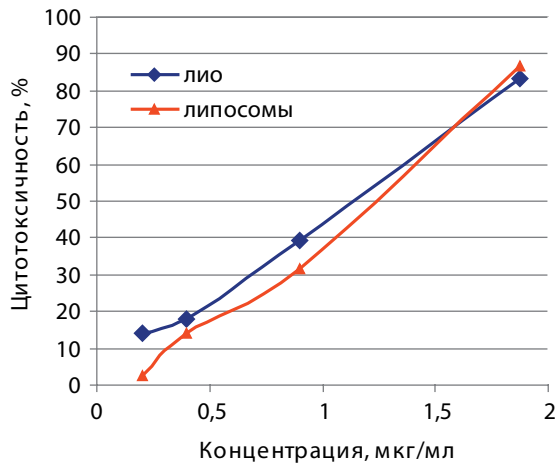


Рис. 1. Цитотоксическая активность лекарственных форм ЛХС-1208 на клеточной линии НСТ-116

мельчения липосом ЛХС-1208 является экструзия под давлением с использованием нейлоновых фильтров.

При хранении в холодильнике в течение нескольких дней происходило расслоение липосомальной дисперсии ЛХС-1208, что свидетельствует о низкой стабильности данной лекарственной формы. В связи с этим для увеличения устойчивости и продления срока годности препарата целесообразно применение метода лиофилизации [37–39]. В настоящее время проводятся исследования по разработке технологии лиофилизации ЛЛФ ЛХС-1208: выбор криопротектора и режима сублимационной сушки.

Результаты сравнения цитотоксической активности ЛЛФ ЛХС-1208 с ЛХС-1208-лио показали, что обе лекарственные формы дозозависимо вызывали гибель клеток линии НСТ-116 после 48 ч инкубации с препаратами (рис. 1). По степени цитотоксической активности обе лекарственные формы оказались практически идентичны: ИК₅₀ для ЛХС-1208-лио составила 1,14 мкг/мл, а для ЛЛФ ЛХС-1208 – 1,24 мкг/мл (рис. 2).

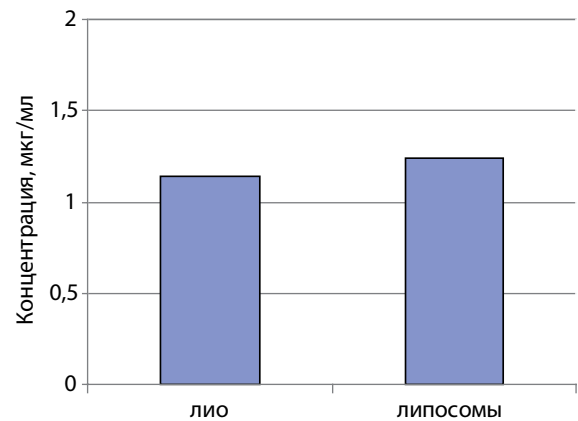


Рис. 2. ИК₅₀ ЛХС-1208-лио и ЛЛФ ЛХС-1208

вила 1,14 мкг/мл, а для ЛЛФ ЛХС-1208 – 1,24 мкг/мл (рис. 2).

Выводы

Определен оптимальный состав компонентов и разработана технология получения ЛЛФ ЛХС-1208. Определены молярные соотношения ЛХС-1208: лецитин – 1:150 и лецитин : холестерин : PEG-2000 – 1:0,2:0,003. Проводятся исследования по разработке технологии лиофилизации ЛЛФ ЛХС-1208. Включение ЛХС-1208 в липосомы составило 94 %, размер везикул – 185 ± 10 нм. Сравнение цитотоксической активности ЛЛФ ЛХС-1208 с таковой ЛХС-1208-лио на клеточной линии карциномы толстой кишки НСТ-116 показало, что уровень активности обеих лекарственных форм идентичен. Ввиду большей направленности и оказания меньшего токсического эффекта ЛЛФ ЛХС-1208 (по сравнению с ЛХС-1208-лио) представляются целесообразными дальнейшие исследования эффективности этой лекарственной формы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гулякин И.Д., Николаева Л.Л., Санарова Е.В. и др. Применение фармацевтической технологии для повышения биодоступности лекарственных веществ. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(3):101–8.
2. Гулякин И.Д., Николаева Л.Л., Санарова Е.В. и др. Особенности создания лекарственных форм противоопухолевых препаратов для парентерального применения. Разработка и регистрация лекарственных средств 2015; 2(11):96–110.
3. Гулякин И.Д., Оборотова Н.А., Печенников В.М. Солюбилизация гидрофобных противоопухолевых препаратов.

4. Дмитриева М.В., Оборотова Н.А., Санарова Е.В. и др. Наноструктурированные системы доставки противоопухолевых препаратов. Российский биотерапевтический журнал 2012;11(4):21–7.
5. Смирнова З.С., Борисова Л.М., Киселева М.П. и др. Противоопухолевая активность соединения ЛХС-1208 (N-гликозилированные производные индоло[2,3-а]карбазола). Российский биотерапевтический журнал 2010;9(1):80.
6. Смирнова З.С., Борисова Л.М., Киселева М.П. и др. Противоопухолевая

- эффективность прототипа лекарственной формы соединения ЛХС-1208 для внутривенного введения. Российский биотерапевтический журнал 2012;11(2):49.
7. Смирнова З.С., Борисова Л.М., Киселева М.П. и др. Доклиническое изучение противоопухолевой активности производного индолокарбазола ЛХС-1208. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(1):129.
8. Смирнова З.С., Кубасова И.Ю., Борисова Л.М. и др. Изучение противоопухолевой активности производного индоло[2,3-а]карбазола ЛХС-1006. Российский биотерапевтический журнал 2005;4(1):70–71.

9. Смирнова З.С., Кубасова И.Ю., Борисова Л.М. и др. Изучение связи структуры и противоопухолевой активности в ряду N-гликозидов, производных индоло[2,3-а]карбазола. Российский биотерапевтический журнал 2006;5(1):20.
10. Смирнова З.С., Кубасова И.Ю., Борисова Л.М. и др. Корреляция цитотоксической и противоопухолевой активности в отношении лейкозов в ряду N-гликозилированных производных индоло[2,3-а]карбазола. Российский биотерапевтический журнал 2007;6(1):50–1.
11. Смирнова З.С., Кубасова И.Ю., Борисова Л.М. и др. Противоопухолевая активность N-гликозидов производных индоло[2,3-а]карбазола. Российский биотерапевтический журнал 2006;5(3):123–127.
12. Смирнова З.С., Кубасова И.Ю., Миникер Т.Д. и др. Изучение противоопухолевой активности N-гликозидов замещенных индоло[2,3-а]карбазолов. Российский биотерапевтический журнал 2004;3(2):34.
13. Киселева М.П., Смирнова З.С., Борисова Л.М. и др. Поиск новых противоопухолевых соединений среди производных N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазолов. Российский онкологический журнал 2015;(2):33–37.
14. Гулякин И.Д., Николаева Л.Л., Санарова Е.В. и др. Изучение влияния фильтрующего материала на содержание действующего вещества при разработке лекарственной формы нового соединения из группы производных индолокарбазолов. Материалы I Международной научно-практической Интернет-конференции «Технологические и биофармацевтические аспекты растворения лекарственных препаратов разной направленности действия». Харьков: 7–8 ноября 2014 года. НФУ Минздрава Украины. 2014. 208–209.
15. Гулякин И.Д., Николаева Л.Л., Санарова Е.В. и др. Оценка показателей качества лиофилизированной лекарственной формы ЛХС-1208. Российский биотерапевтический журнал 2015;14(3):62.
16. Ланцова А.В., Полозкова А.П., Орлова О.Л. и др. Разработка композиции для внутривенного введения гидрофобной субстанции производной индолокарбазола ЛХС-1208. Российский биотерапевтический журнал 2013;12(2):50.
17. Ланцова А.В., Санарова Е.В., Оборотова Н.А. и др. Разработка технологии получения инъекционной лекарственной формы на основе отечественной субстанции производной индолокарбазола ЛХС-1208. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(3):25–32.
18. Ланцова А.В., Санарова Е.В., Полозкова А.П. и др. Разработка лекарственной формы производного индолокарбазола ЛХС-1208. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(1):104.
19. Киселева М.П., Шпрах З.С., Борисова Л.М. и др. Доклиническое изучение противоопухолевой активности производного N-гликозида индолокарбазола ЛХС-1208. Сообщение I. Российский биотерапевтический журнал 2015;14(2):71–7.
20. Киселева М.П., Шпрах З.С., Борисова Л.М. и др. Доклиническое изучение противоопухолевой активности производного N-гликозида индолокарбазола ЛХС-1208. Сообщение II. Российский биотерапевтический журнал 2015;14(3):41–7.
21. Николина А.А., Кульбачевская Н.Ю., Коняева О.И. и др. Изучение «острой» токсичности нового противоопухолевого лекарственного средства на основе производного индолокарбазола – ЛХС-1208. Российский биотерапевтический журнал 2015;14(4):59–64.
22. Кульбачевская Н.Ю., Коняева О.И., Ермакова Н.П. и др. «Субхроническая» токсичность лекарственного средства на основе производного индолокарбазола на крысах. Российский биотерапевтический журнал 2015;14(1):99.
23. Оборотова Н.А., Санарова Е.В. Роль новых фармацевтических технологий в повышении избирательности действия противоопухолевых препаратов. Российский химический журнал 2012;(3-4):33–40.
24. Оборотова Н.А. Липосомальные лекарственные формы противоопухолевых препаратов (обзор). Химико-фармацевтический журнал 2001;35(4):32–8.
25. Саквина О.И., Барышников А.Ю. Липосомы в направленной доставке противоопухолевых препаратов. Российский биотерапевтический журнал 2008;7(4):80–5.
26. Афанасьева Д.А., Барышникова М.А., Барышников А.Ю. Молекулярные механизмы преодоления множественной лекарственной устойчивости липосомальными противоопухолевыми препаратами. Российский биотерапевтический журнал 2015;14(1):3–10.
27. Барышников А.Ю., Оборотова Н.А. Иммунолипосомы – новое средство доставки лекарственных препаратов. Современная онкология 2001;3(2):4.
28. Барышников А.Ю., Оборотова Н.А., Герасимова Г.К. и др. Противоопухолевые препараты, разработанные в Российском онкологическом научном центре им. Н.Н. Блохина. Вестник Московского онкологического общества 2004;(11):3–4.
29. Барышникова М.А., Барышников А.Ю. Иммунолипосомы и мишени их действия. Журнал Российского химического общества им. Д.И. Менделеева 2012; LVI(3–4):60–7.
30. Барышникова М.А., Грищенко Н.В., Бурова О.С. и др. Роль CD95/FAS-рецептора в индукции апоптоза противоопухолевыми препаратами. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(3):3–7.
31. Оборотова Н.А., Барышников А.Ю. Липосомальные лекарственные формы в клинической онкологии. Успехи современной биологии 2009;(5):464.
32. Барышников А.Ю. Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов. Вестник РАМН 2012;(3):23–30.
33. Гуревич Д.Г., Меерович И.Г., Меерович Г.А. и др. Влияние размеров липосом на уровень и селективность накопления тиосена в опухоли. Российский биотерапевтический журнал 2007;6(2):45–9.
34. Гулякин И.Д., Санарова Е.В., Ланцова А.В. и др. Разработка наноструктурированной модели лекарственной формы производного индолокарбазола ЛХС-1208. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(1):78.
35. Гулякин И.Д., Николаева Л.Л., Санарова Е.В. и др. Применение мембранных фильтров в технологии получения стерильных лекарственных препаратов. Химико-фармацевтический журнал 2016;50(1):28–32.
36. Гулякин И.Д. Создание липосомальной лекарственной формы отечественного противоопухолевого препарата ЛХС-1208. Материалы научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическая наука и практика: достижения, инновации, перспективы». Пермь: 25–27 ноября 2015 года. Вестник ПГФА 2015;16:41–3.
37. Аршинова О.Ю., Оборотова Н.А., Санарова Е.В. Вспомогательные вещества в технологии лиофилизации лекарственных препаратов. Разработка и регистрация лекарственных средств 2013;(2):20–5.
38. Николаева Л.Л., Гулякин И.Д., Санарова Е.В. и др. Влияние вспомогательных веществ на процесс лиофилизации ЛХС-1208 и ОР-2011. Материалы I Международной научно-практической Интернет-конференции «Технологические и биофармацевтические аспекты растворения лекарственных препаратов разной направленности действия». Харьков: 7–8 ноября 2014 года. НФУ Минздрава Украины 2014. 216.
39. Оборотова Н.А., Краснюк И.И., Томашевская Н.В. Технологические возможности сублимационной сушки фармацевтических препаратов. Фармация 2007;(2):25–6.