

Результаты. Молекулярное моделирование определило связывание предполагаемого продукта с белком-мишенью AR. На основании этого модификация арильным или гетарильным заместителем тионового фрагмента исходной молекулы улучшит ингибирование. Далее была применена медькатализируемая реакция арилборных кислот с 2-тиогидантоином в присутствии соли меди (II) и органического основания. В ходе выполнения работы были синтезированы и охарактеризованы около 50 соединений. Все полученные соединения были протестированы *in vitro* с использованием МТТ- и МТС-тестов на клеточных линиях рака ПЖ LNCaP (p53+, AR+), PC-3 (p53-, AR-), ЛЭЧ-4.

Заключение. В результате выполнения работы выявлены соединения-лидеры, которые дополнительно тестировались *in vitro* на клеточных линиях Hek293, VA13, MCF-7 и A549. Определена цитотоксичность для соединений-лидеров: значения параметра IC_{50} для замещенного по 3-му положению продукта арилирования, который ориентирован на ингибирование MDM2 и реакцию белка p53, равна 2 μ M (LNCaP) и 8 μ M (PC-3). В то же время активность незамещенного по 3-му положению продукта, ориентированного на ингибирование андрогенового рецептора, составила 70 нМ (LNCaP); на клеточной линии PC-3 цитотоксичность отсутствует. Таким образом были получены соединения с высокой потенциальной противоопухолевой активностью и селективным действием по отношению к AR или P53-MDM2 взаимодействию.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ № 14-34-00017), Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ № 16-33-60166) и программы УМНИК (договор № 8981ГУ/2015).

*Ю.В. Алексеев¹, Г.В. Пономарев², Е.В. Давыдов³,
В.М. Мкртчян⁴, Н.К. Иоаниди¹*

ПРИРОДНЫЙ КОМПЛЕКС ХЛОРИНА E₆ КАК ОСНОВА ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ НОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

¹ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА России», Москва, Россия;

²ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва, Россия;

³Ветеринарная клиника «Велес-Текстильщики», ФГБОУ ВПО МГУПП, Москва, Россия;

⁴ООО «Ареал», Москва, Россия

Введение. Ранее показано, что гель «Сигринол» (ТС № RU Д-РУ. АЮ18. В. 05307) производства ООО «Ареал» является эффективным фотосенсибилизатором (ФС) для наружного применения в комплексной терапии у пациентов с рядом дерматологических заболеваний. Активное вещество (АВ) данного ФС получено из биокрасителя, выделенного из люцерны (*Medicago sativa*, L.), и представляет собой полисахаридный комплекс хлорина E₆. При определении порога гемолиза эритроцитов крыс эффективность АВ и его компонентов оказалась сопоставимой с активностью хлорина E₆.

Цель исследования — изучить факторы, определяющие фотодинамический эффект ФС «Сигринол».

Материалы и методы. Метод — высокоэффективная жидкостная хроматография (хроматограф LC-20, Prominence, Япония, хроматографическая колонка PR-18 фирмы «НР», размер 4×250 мм, подвижная фаза — MeOH-H₂O-CF₃COOH (90:10:0,01 о/о), детектор-спектрофотометрический SPD-20A, длина волны — 405 нм). Материалы — биокраситель Green C3 фирмы «FMC» (пищевая добавка E140). Исследуемое вещество растворяли в воде и добавляли хлористоводородную кислоту до значения pH 3,5–4,5. Выпавший осадок хлорина E₆ промывали водой для удаления остатков хлористоводородной кислоты, высушивали, затем растворяли в растворе меглумина (pH около 9) и хроматографировали. Хроматограмму полученного раствора сравнивали с хроматограммой раствора стандартного образца хлорина E₆ по времени удерживания основных пиков для подтверждения идентичности двух образцов. Дополнительным аргументом для утверждения об идентичности исследуемого соединения и хлорина E₆ являлся электронный спектр поглощения.

Результаты. В процессе хроматографирования исследуемого вещества выделены фракции, содержащие ≈ 10–15 % хлорина E₆ и до 20 % его полисахаридного производного, а также мальтодекстрин. Электронные спектры поглощения хлорина E₆ и его производного совпадали.

Заключение. Установлено, что основными факторами, определяющими фотодинамическую активность действующего вещества препарата «Сигринол» и, соответственно, его эффективность в клинической практике, являются хлорин E₆ и полисахарид хлорина E₆ практически одинаковые по эффективности. Перспективы применения «Сигринола» для флюоресцентной диагностики и, возможно, для фотодинамической терапии в дерматоонкологии требуют дальнейшего изучения.

*Али Хашем¹, И.Д. Гулякин², Л.Л. Николаева^{1,2},
М.В. Дмитриева², Л.А. Король¹, А.П. Полоскова²,
О.Л. Орлова²*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ КРИОПРОТЕКТОРА ПРИ ЛИОФИЛИЗАЦИИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛОКАРБАЗОЛА — ЛХС-1208

¹ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия;

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

Введение. В лаборатории разработки лекарственных форм ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России создана липосомальная лекарственная форма (ЛЛФ) ЛХС-1208. По сравнению с лекарственной формой ЛХС-1208 «лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 9мг» ЛЛФ ЛХС-1208 обладает большей направленностью и оказывает меньший токсический эффект. Однако ЛЛФ ЛХС-1208 стабильна на протяжении непродолжительного периода времени — в течение 5–6 сут. В связи с этим для увеличения устойчивости и продления срока годности препарата целесообразно применение метода лиофилизации.

Цель исследования — определить оптимальное содержание криопротектора в дисперсии при лиофилизации ЛЛФ ЛХС-1208.

Материалы и методы. Субстанция ЛХС-1208, синтезированная в лаборатории химического синтеза ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Компоненты липосомальной мембраны: яичный фосфатидилхолин Е РС S (лецитин) (Lipoid, Германия), холестерин (Sigma, Германия), PEG-2000-DSPE 18:0 (Lipoid, Германия); криопротектор — сахароза ГОСТ 5833–75 (Химмед, Россия). Для оценки влияния концентрации криопротектора в липосомальной дисперсии на качество лиофилизированной ЛЛФ ЛХС-1208 в воду для инъекций, предназначенную для гидратации липидной пленки, добавляли навески сахарозы в молярных соотношениях лецитин: сахароза — 1/2, 1/3, 1/5, 1/7,5 и 1/10. Полученными водными растворами сахарозы гидратировали липидные пленки на 4 разных колбах; образовавшиеся липосомальные дисперсии последовательно пропускали через нейлоновые мембранные фильтры «Pall» N66 с размером пор 1,2, 0,45 и 0,22 мкм (ООО «Палл Евразия», Россия) на экструдере Lipex™ Thermobarrel Extruder 10 мл, дозировали во флаконы по 6 мл и лиофилизировали в камере сублимационной сушки «Edwards Minifast DO. 2» (Ero Electronic S. p. A., Италия). Для ЛЛФ ЛХС-1208 применяли следующий режим лиофилизации липосомальных препаратов: быстрое замораживание на полках сублимационной сушки до температуры -45°C с последующей подачей вакуума и постепенным нагревом полок до температуры $+20^{\circ}\text{C}$ и 3-часовым досушиванием после достижения препаратом температуры $+20^{\circ}\text{C}$. После лиофилизации содержимое флаконов регидратировали очищенной водой, проводили количественное определение содержания препарата на спектрофотометре Cary 100 (Agilent Technologies, Австралия) при длине волны 320 ± 2 нм, анализ среднего диаметра везикул — на приборе Submicron Particle Sizer Nicomp-380 (Particle Sizing Systems, США) и pH дисперсии — на pH-метре HANNA HI 2211 (Hanna Instruments, Румыния).

Результаты. Проведенные исследования показали, что по внешнему виду лиофилизаты ЛЛФ ЛХС-1208 с различным содержанием сахарозы отличались друг от друга. После регидратации лиофилизатов с содержанием криопротектора в соотношениях лецитин: сахароза 1/3 и 1/5 образовалась светло-желтая гомогенная липосомальная дисперсия, без осадка и признаков расслоения, с приемлемым размером везикул (185 ± 10 нм), pH $7,0 \pm 0,5$ и сохранением после лиофилизации исходного количественного содержания ЛХС-1208 в ЛЛФ. При добавлении воды к образцам лиофилизатов ЛЛФ ЛХС-1208, содержащих криопротектор в соотношениях лецитин: сахароза 1/2, 1/7,5 и 1/10, отмечалось нарушение процесса регидратации с образованием густой вязкой массы.

Заключение. Таким образом, для лиофилизации ЛЛФ ЛХС-1208 эффективным криопротектором является сахароза, вводимая на стадии гидратации липидной пленки в молярных соотношениях лецитин: сахароза 1/3.

Н.В. Андропова, Е.М. Трещалина, Ю.А. Борисова, Г.Б. Смирнова, И.Н. Михайлова, С.М. Ситдикова, Н.Т. Райхлин, Е.А. Смирнова, А.А. Лушникова, Д.А. Понкратова

НОВЫЕ МОДЕЛИ ПИГМЕНТИРОВАННОЙ И БЕСПИГМЕНТНОЙ МЕЛАНОМЫ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА С МУТАЦИЯМИ BRAF V600E И NRAS ДЛЯ ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ ТАРГЕТНЫХ ПРОТИВОМЕЛАНОМНЫХ СРЕДСТВ И КОМБИНАЦИЙ НА ИХ ОСНОВЕ

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

Введение. Разработка новых моделей диссеминированной меланомы кожи человека с молекулярно-генетической мишенью (мутации V600E BRAF и NRAS) для таргетной терапии повышает результативность доклинических исследований *in vivo* новых антимеланомных средств и их комбинаций. Такая возможность реализована благодаря наличию в банке ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России оригинальных линий клеток пигментированной меланомы кожи человека mel Cher с мутацией BRAF V600E и беспигментной mel Rac с мутацией NRAS, адекватных для получения подкожных (п/к) ксенографтов под контролем трансплантационных, морфологических, молекулярно-генетических и химиотерапевтических (чувствительность к вемурафенибу и траметинибу) характеристик.

Цель исследования — получить чувствительные к специфической таргетной терапии п/к ксенографты меланомы кожи человека с терапевтически значимыми мутациями из линий клеток mel Cher и mel Rac.

Материалы и методы. Линии клеток меланомы кожи человека mel Cher и беспигментной меланомы mel Rac получены из коллекции ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, иммунодефицитные мыши-самки Balb/c nude — из банка ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Искомые характеристики моделей *in vivo* определены с помощью методов трансплантационной биологии, световой микроскопии, молекулярной генетики и экспериментальной химиотерапии. Чувствительность к ингибитору BRAF-киназы вемурафенибу и к ингибитору NRAS траметинибу оценена под контролем скорости роста опухоли (V_t/V_0) по значимым для клиники показателям: наличие полной ремиссии (ПР) под контролем рецидивирования.

Результаты. При п/к трансплантации $1,0 \times 10^7$ клеток получены цитологически идентичные с устойчивой кинетикой роста в течение 4–9-го пассажей п/к ксенографты пигментированной меланомы mel Cher и беспигментной mel Rac. Латентная фаза составила для mel Cher 8 дней, для mel Rac — 11 дней, экспоненциальная фаза обеих моделей — 14 дней, стационарная — 24 дня. Чувствительность mel Cher к вемурафенибу в разовой дозе 75 мг/кг 15-дневным курсом доказана короткой ПР с развитием рецидива через 7 дней после отмены. Чувствительность к траметинибу в разовой дозе 0,3 мг/кг 14-кратным курсом доказана длительной ПР в течение 28 дней без развития рецидива.

Заключение. Подкожные ксенографты меланомы кожи человека, полученные из линий клеток пигментированной меланомы кожи человека mel Cher с мутацией V600E BRAF