

структурой стероидного фрагмента. Синтезированные соединения были исследованы на способность ингибировать каталитическую активность CYP17A1 и подавлять рост и пролиферацию клеток карциномы простаты. Наилучшие характеристики выявлены для алсевирона (ингибирование CYP17A1: $IC_{50} = 0,9 \pm 0,1$ мкМ, подавление роста клеток LNCaP: $IG_{50} = 5,2$ мкМ и PC-3: $IG_{50} = 12,7$ мкМ). Оптимизирован 7-стадийный синтез алсевирона, позволяющий получать целевой продукт с суммарным выходом 14–16 %.

Заключение. Полученные результаты продемонстрировали высокий фармакологический потенциал алсевирона.

И.В. Кравченко, А.М. Кипнис, Т.П. Новик, Г.О. Григорян,

М.А. Грецкая, Е.В. Литвинова, Е.И. Квасюк

СПОСОБ ПРОМЫШЛЕННОГО ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ ФЛУДАРАБИН ФОСФАТ

РУП «Белмедпрепараты», Минск, Республика Беларусь

Введение. Хронические лимфопролиферативные заболевания (хронические лимфолейкозы) относят к трудно излечимым болезням крови. В начале 90 гг. для их лечения начали использовать ряд препаратов — производных пуриновых нуклеозидов и нуклеотидов, позволивших существенно увеличить число ремиссий и продолжительность жизни пациентов. К таким препаратам относятся флударабин фосфат, клофарабин, лейкладин и появившийся немного позднее неларабин. Использование аналогов пуриновых нуклеозидов, нуклеотидов и в первую очередь флударабин фосфата коренным образом изменило возможности химиотерапии в лечении заболеваний данного профиля. Флударабин фосфат применяется в основном для терапии пациентов с В-клеточным хроническим лимфолейкозом и неходжкинскими лимфомами. Активным метаболитом флударабин фосфата является его 5» — трифосфат, образующийся в результате последовательного фосфорилирования нуклеозида флударабина (2-F-араА) под действием клеточных киназ. Сам нуклеозид, в свою очередь, образуется в результате количественного дефосфорилирования флударабин фосфата *in vivo* после его внутривенного введения.

Цель исследования — возрастающая потребность флударабин фосфата для использования в химиотерапии при лечении онкологических заболеваний послужила стимулом для разработки многочисленных методов его синтеза. С целью промышленного производства флударабин фосфата на РУП «Белмедпрепараты» освоена технология его получения на основе коммерчески доступного нуклеозида 2-F-араА.

Материалы и методы. Синтез флударабин фосфата осуществляется путем взаимодействия флударабина с хлоридом фосфора в триметилфосфате, обработкой реакционной смеси льдом и ее последующей нейтрализации раствором гидроксида натрия. Выделение флударабин фосфата производится с помощью хроматографии на катионообменной смоле при контролируемой температуре и последующей кристаллизацией целевого продукта из содержащих его фракций.

Результаты. Использование стадии хроматографии на катионите позволяет отделить флударабин фосфат от присутствующих в реакционной смеси побочных при-

месей и получать высококачественный кристаллический продукт без дополнительной очистки.

Заключение. Производимая по данной технологии субстанция флударабин фосфат полностью соответствует требованиям фармакопеи. Субстанция зарегистрирована в МЗ РБ и производится на РУП «Белмедпрепараты». На основе полученной фармацевтической субстанции флударабин фосфат на предприятии разработана и внедрена в производство технология получения генерического лекарственного средства «Флударабел, порошок лиофилизированный для приготовления раствора для инъекций 50 мг» — аналога оригинального препарата «Флудара» (Германия).

Н.В. Красногорова¹, Д.В. Новиков¹, С.Г. Фомина¹,

Е.Н. Горшкова¹, М.А. Магомедов², В.В. Новиков¹

СРАВНЕНИЕ УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ FCγRIIIα И FCγRIIIβ ГЕНОВ В РАЗНЫХ ФРАКЦИЯХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия;

²ГБУЗ НО «НОКОД», Нижний Новгород, Россия

Введение. Гены иммунного ответа FCγRIIIα и FCγRIIIβ, относящиеся к низкоаффинным Fc-рецепторам, совпадают на 98 %. FCγRIIIα является молекулярным маркером преимущественно натуральных киллеров, а FCγRIIIβ — маркером нейтрофилов, а также ряда других лейкоцитов. Морфофункциональные изменения в иммунной системе в ответ на возникновение бактериальной инфекции зависят от присутствия липополисахарида (ЛПС), являющегося основным компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

Цель исследования — сравнить относительные уровни мРНК FCγRIIIα и FCγRIIIβ генов с количеством клеток в мононуклеарной и нейтрофильной фракциях клеток крови, а также определить их изменения в ответ на присутствие ЛПС.

Материалы и методы. В работе использовали мононуклеарную и нейтрофильную фракции клеток периферической крови пациентов с колоректальным раком (КРР). Раздельные уровни мРНК FCγRIIIα и FCγRIIIβ генов определяли с помощью олигоспецифичных праймеров и зондов методом ОТ-ПЦР с детекцией в реальном времени относительно референтного гена YWHAZ (тирозин-3-монооксигеназа/триптофан-5-монооксигеназа). Выделение различных фракций клеток крови проводили на градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho = 1,116$ и $\rho = 1,076$). Процентное содержание клеток в полученных фракциях оценивали в ходе проведения проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Процентное отношение гранулярных и негранулярных клеток совпадало с отношением уровней мРНК FCγRIIIα и FCγRIIIβ генов в нейтрофильной фракции клеток. В мононуклеарной фракции также наблюдается совпадение между процентным содержанием клеток и отношением FCγRIIIα/FCγRIIIβ, однако у одного пациента с КРР регистрировалось увеличение уровней мРНК. После инкубации в течение 30 мин в присутствии ЛПС регистрировалось снижение уровня мРНК FCγRIIIα и повышение уровня мРНК FCγRIIIβ гена по сравнению

с контролем в нейтрофильной и моноклеарной фракциях клеток, что может свидетельствовать об активации генов иммунной системы.

Заключение. Определение уровней экспрессии FcγRIIIa и FcγRIIIβ генов, а также их отношения в моноклеарной и нейтрофильной фракциях клеток с помощью метода ОТ-ПЦР с детекцией в реальном времени является отражением активации клеток иммунной системы. Также в некоторых случаях уровень экспрессии FcγRIIIa и FcγRIIIβ генов совпадает с отношением гранулярных и негранулярных клеток. Однако для подтверждения полученных результатов необходимо увеличение объема исследуемой выборки.

*М.Е. Кукушкин¹, Е.К. Белоглазкина¹, Н.В. Зык¹,
А.Г. Мажуга¹, Е.М. Трещалина²*

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VIVO* ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ СПИРОИНДОЛИНОВОГО ФРАГМЕНТА

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия;

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

Введение. В настоящее время актуальной является задача поиска непептидных низкомолекулярных ингибиторов белка MDM2, который, взаимодействуя с белком p53, являющимся опухолевым супрессором, подавляет его активность. В недавних исследованиях установлено, что соединения, содержащие в своей структуре спироиндолиновое ядро, способны эффективно блокировать белок-белковое взаимодействие p53-MDM2. В нашей лаборатории разработан подход к синтезу соединений, в структуре которых имеется жесткий каркас из трех спиро-сочлененных гетероциклов, основой которого является спироиндолиновое ядро, или, иначе говоря, были получены диспироиндолины с весьма ограниченной конформационной подвижностью за счет 2 спироузлов. Таким образом, синтезирована и протестирована *in vitro* большая выборка соединений и определено соединение-лидер, которое исследовалось *in vivo* на модели мышинного лимфолейкоза Р-388, а также на иммунодефицитных мышах на модели колоректального рака человека НСТ-116.

Цель исследования — определить максимально переносимую концентрацию при испытаниях *in vivo*, а также исследование ингибирующего эффекта *in vivo* при различных дозировках исследуемого препарата.

Материалы и методы. Структура полученного соединения-лидера однозначно подтверждена с помощью комплекса физико-химических методов (ЯМР, ИК, масс-спектрометрия, масс-спектрометрией высокого разрешения, рентгеноструктурным анализом), а чистота подтверждена хромато-масс-спектрометрией. Биологическая активность синтезируемых соединений исследовалась стандартным МТТ-тестом на цитотоксичность на клеточных линиях LNCap, PC3, НСТ-116 p53 wt и НСТ p53 (-/-). Для испытаний *in vivo* использовались штаммы опухолей Р-388 и НСТ-116.

Результаты. Определена оптимальная дозировка для испытаний *in vivo* в размере 1000 или 165 мг/кг в пере-

счете на действующее вещество. Торможение роста опухоли на модели мышинного лимфолейкоза наблюдалось вплоть до 92 %, а на модели колоректального рака человека НСТ-116—83 %. По окончании курса лечения резкого увеличения роста опухоли не наблюдалось. На модели Р-388 зафиксировано увеличение продолжительности жизни до 20 %.

Заключение. В рамках данной работы проведено исследование свойств диспиропроизводного соединения-лидера в испытаниях *in vivo*, определены свойства соединения и оценена перспективность дальнейших разработок в этой области.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 16-33-60166.

*Н.Ю. Кульбачевская¹, О.И. Коняева¹, К.В. Лобанов²,
М.А. Жученко², В.М. Бухман¹*

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗНАЧЕНИЯ ПРЕДЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ ДЛЯ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ БИОСИНТЕТИЧЕСКОГО АКАДЕЗИНА

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБУ «ГосНИИгенетика», Москва, Россия

Введение. Препарат на основе биосинтетического акадезина (ПБА) признан перспективным кандидатом в препараты широкого терапевтического применения. В настоящий момент он позиционируется для ряда заболеваний, при лечении которых успех терапии зависит от повышения уровня аденозина и активации АМФ-активированной протеинкиназы. Ограничение на использование ПБА накладывается плохая биодоступность препарата, которая обуславливает необходимость его внутривенного введения. ЛАЛ-тест считается сегодня наиболее надежным и перспективным способом проверки потенциальной пирогенности лекарственных средств.

Цель исследования — разработать методику определения содержания бактериальных эндотоксинов (БЭ) в препарате.

Задачи исследования — определить возможность проведения анализа БЭ с помощью ЛАЛ-теста и отработать способ подготовки образца с целью проведения анализа для ПБА.

Материалы и методы. Работу осуществляли с помощью прибора Endo Scan-V Version 4.0 SP3, (Charles River, США), с использованием сертифицированных стандартных картриджей, чувствительностью 5–0,05 ЕЭ/мл в соответствии с требованиями ОФС 42-0062-07. Заявленная чувствительность и качество картриджей подтверждены путем анализа стандартной воды для ЛАЛ-теста. Все разведения испытуемого препарата готовили на воде для ЛАЛ-теста. Вспомогательные материалы, используемые при подготовке и проведении опыта, не содержали бактериальных эндотоксинов в определяемых в тесте количествах и не влияли на ход реакции. Проведены анализы 10 серий ПБА.

Результаты. Расчет предельного содержания бактериальных эндотоксинов для данного препарата проведен на основании планируемой максимальной суточной дозы