

препарата для человека, требований ГФ XII и ОФС 42-0062-07. С помощью использования значений пороговой пирогенной дозы для препаратов для парентерального введения (5 ЕЭ/кг/ч) установлено предельное содержание бактериальных эндотоксинов для ПБА — не более 0,38 ЕЭ/мл. Это значение целесообразно рекомендовать для внесения в проект ФСП. По результатам проведенных исследований установлено, что ПБА в разведении 1/200 не ингибирует реакцию. Концентрация БЭ во всех проведенных сериях испытуемого препарата составила менее 0,228 ЕЭ/мл, что ниже рекомендованного для внесения в ФСП значения предельного содержания БЭ — не более 0,38 ЕЭ/мл.

Заключение. Содержание бактериальных эндотоксинов в данном препарате может быть определено с помощью ЛАЛ-теста. Предельное содержание бактериальных эндотоксинов для ПБА — не более 0,38 ЕЭ/мл — целесообразно рекомендовать для внесения в проект ФСП. Препарат может быть проверен в разведении 1/200.

Е.В. Литвинова, Т.М. Ермоленко

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ РУП «БЕЛМЕДПРЕПАРАТЫ»

РУП «Белмедпрепараты», Минск, Республика Беларусь

Введение. Разработка и освоение в производстве противоопухолевых препаратов и средств адъювантной химиотерапии злокачественных новообразований начаты на РУП «Белмедпрепараты» в 1994 г. и являются на протяжении более 20 лет приоритетным направлением инновационного развития предприятия.

Цель исследования — обеспечить фармацевтический рынок Республики Беларусь отечественными противоопухолевыми лекарственными средствами в соответствии с международными стандартами качества.

Материалы и методы. Для разработки противоопухолевых препаратов используются фармацевтические субстанции, качество которых соответствует Eur. Ph., USP, BP, что подтверждено документально (DMF, сертификат); производство осуществляется согласно стандартам GMP (Good Manufacturing Practice – Надлежащая производственная практика). Качество вспомогательных веществ также отвечает международным требованиям. РУП «Белмедпрепараты» оснащено современным аналитическим оборудованием, имеет квалифицированные кадры и производственную базу для проведения полного комплекса работ от разработки препаратов до их внедрения в производство.

Результаты. В настоящее время 19 наименований противоопухолевых препаратов производства РУП «Белмедпрепараты» включены в современные протоколы лечения онкологических заболеваний: цитарабин, меркаптопурин, доксорубин, циклофосфан, фотолон, гидроксикарбамид, кладрибин, флударабел, метотрексат, паклитаксел, золедроновая кислота, оксалиплатин, темобел, кальция фолинат, анастрозол, доцетаксел, винорелбин, гемцитабин, темодекс. Эффективность и безопасность противоопухолевых лекарственных средств в сравнении с оригинальными препаратами подтверждена в ходе клинических испытаний. В 2013 г. РУП «Белмедпрепараты» реализован

инвестиционный проект по созданию крупнейшего в СНГ производства противоопухолевых препаратов в форме лиофилизированных порошков для приготовления растворов для инфузий и инъекций, растворов для инъекций, концентратов для приготовления растворов для инфузий во флаконах. Производство сертифицировано на соответствие требованиям GMP.

Заключение. Высокотехнологическое фармацевтическое производство, а также наличие исследовательских лабораторий, оснащенных современным аналитическим оборудованием и имеющих в штате опытных специалистов (технологов, химиков, биологов, биохимиков, фармакологов), обеспечивают выпуск на РУП «Белмедпрепараты» противоопухолевых лекарственных средств, качество которых соответствует оригинальным препаратам.

*М.М. Макаров, Д.А. Гук, В.М. Малинников,
О.О. Красновская, Е.К. Белоглазкина, Н.В. Зык,
А.Г. Мажуга*

БИЯДЕРНЫЕ КООРДИНАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ МЕДИ (II), (I) НА ОСНОВЕ 2-ТИОКСО-ТЕТРАГИДРО-4Н-ИМИДАЗОЛ-4-ОНА: МОДИФИКАЦИЯ ДЛЯ СТАБИЛИЗАЦИИ CU (I) В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ

*МГУ им. М.В. Ломоносова, химический факультет,
Москва, Россия*

Введение. Открытие цитотоксической активности платиносодержащих препаратов стало началом разработки нового класса противоопухолевых агентов — координационных соединений переходных металлов, уничтожающих раковые клетки путем разрушения структуры ДНК и утраты их способности к делению. Однако ввиду высокой общей токсичности платиновых препаратов в настоящее время ведется поиск новых координационных соединений на основе биогенных металлов, потенциально проявляющих противоопухолевую активность. Ранее в нашей лаборатории были синтезированы биядерные смешанно-валентные комплексы Cu (I, II), содержащие 2-замещенные-5-алкилтиоарилметил-4-имидазолин-4-оны, которые показали высокую цитотоксичность в отношении многих клеточных линий из-за наличия в их структуре связанных атомов Cu (I). Однако в физиологических средах одновалентные комплексы меди быстро окисляются, поэтому в структуру таких соединений должны быть включены фрагменты, стабилизирующие одновалентное состояние меди.

Цель исследования — разработать синтетические подходы к внедрению хиноновых фрагментов в координационные соединения одновалентной меди на основе 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов для их стабилизации в физиологических средах.

Материалы и методы. Структуры полученных соединений были подтверждены комплексом физико-химических методов (спектроскопия ЯМР ¹H, ИК, масс-спектрометрия высокого разрешения).

Результаты. Итог работы — получение ряда новых комплексных соединений одновалентной меди, стабилизированных за счет включения в их структуру хиноновых фрагментов. Кроме того, разработано несколько путей синтеза,

которые обеспечивают оптимальные выходы конечных соединений: синтез из хинонов и диаминов, синтез с Cbz-монозащищенными диаминами, синтез на основе Cu-катализируемой реакции азид-алкинового присоединения (CuAAC) и прямой синтез путем аминирования хинонов 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онами. Для соединения-лидера проведены первичные *in vivo* испытания.

Заключение. В результате данной работы был разработан качественно новый класс координационных соединений одновалентной меди, стабилизированных в физиологических средах и проявляющих противоопухолевую активность. Исследована токсичность полученных соединений на клеточных линиях НЕК 293 и выявлено соединение-лидер.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ № 16–33–60166).

С.Ю. Маклакова¹, В.В. Гопко¹, А.В. Пугач¹,
О.С. Шубернецкая¹, Е.К. Белоглазкина^{1,2}, Н.В. Зык¹,
В.Э. Котелянский¹, А.Г. Мажуга^{1,2}

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ЛИГАНДОВ ASGPR ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

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

²Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия

Введение. Асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR) широко используется в качестве мишени для направленного транспорта терапевтических агентов в гепатоциты. Ранее нами был синтезирован ряд эффективных лигандов данного рецептора. Эта работа посвящена *in vitro* и *in vivo* исследованиям способности систем на основе лигандов ASGPR проникать в опухолевые клетки на примере конъюгатов с флуоресцентными красителями.

Цель исследования — синтез и биологическое тестирование конъюгатов лигандов ASGPR с флуоресцентными красителями.

Материалы и методы. Полученные вещества анализировали с помощью спектроскопии ЯМР ¹H, масс-спектрометрии высокого разрешения, ВЭЖХ-МС. В работе использовали клеточные линии НЕК-293, Huh7 и HepG2, модель альвеолярного слизистого рака печени PC-1, трансплантированную подкожно крысам Wistar.

Результаты. Исследовано влияние добавления биотина и/или хлорида кальция в культуральную среду на уровень экспрессии ASGPR. Показано, что в обоих случаях количество рецепторов на поверхности клеток Huh7 и HepG2 значительно увеличивается. Использование данных добавок способствует проникновению лигандов ASGPR: после добавления лиганда к клеточным культурам в присутствии биотина и/или хлорида кальция, последующей обработки флуоресцентным красителем и фиксации наблюдалась индукция экспрессии рецептора в клеточных линиях Huh7 и HepG2 (в контрольном эксперименте на клеточной линии НЕК-293 сигнал флуоресценции отсутствовал). В *in vivo* исследованиях использовали конъюгаты флуоресцентного красителя Sulfo-Cy5 с лигандами ASGPR на основе с *N*-ацетилгалактозамина и *N*-ацетилглюкозамина (контр-

ольное соединение). Животным внутривенно вводили водный раствор контрольного соединения или исследуемого. Спустя 24 ч после инъекции интенсивность флуоресценции в опухоли была выше в случае конъюгата, содержащего *N*-ацетилгалактозамин. Синтезированные конъюгаты не проявили токсичности: ни в одной из исследуемых групп не отмечено неспецифической гибели животных.

Заключение. В результате работы показано, что добавление биотина и/или хлорида кальция в среду клеточных линий способствует увеличению количества ASGPR на поверхности и, как следствие, ведет к повышенному проникновению лигандов внутрь клеток. Конъюгаты на основе *N*-ацетилгалактозамина проникают в клетки рака печени на порядок лучше в сравнении с производными *N*-ацетилглюкозамина.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 14-34-00017) и РФФИ (грант № 16-33-60166).

И.А. Мамичев, Е.А. Пономаренко, С.А. Калужный,
Д.В. Новиков, Е.А. Дудко, А.Н. Гришанина, И.Г. Воробьева,
М.М. Давыдов, Т.А. Богуш

КОЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ФИЛАМЕНТОВ И БЕТА-III ТУБУЛИНА В ТКАНИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

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

Введение. Молекулярная диагностика прогностических маркеров немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) — одно из интенсивно развивающихся направлений трансляционной медицины. Коэкспрессия белков промежуточных филаментов цитокератина и виментина (Цит/Вим), так называемый эпителиально-мезенхимальный переход опухолевых клеток эпителиального происхождения, считается неблагоприятным прогностическим признаком, свидетельствующим о повышенном риске метастазирования. Бета-III тубулин (TUBB3), изоформа белка микротрубочек бета-тубулина, также ассоциируют с неблагоприятным прогнозом заболевания, так как в литературе описана ассоциация TUBB3 с миграцией опухолевых клеток, инвазией и метастазированием.

Цель исследования — оценить корреляционную связь между коэкспрессией Цит/Вим и TUBB3 для того, чтобы ответить на вопрос, являются ли эти белки частью единого фенотипического комплекса, характеризующего метастатический потенциал НМРЛ.

Материалы и методы. Количественное иммунофлуоресцентное исследование коэкспрессии опухолевых маркеров в 23 хирургических образцах НМРЛ проведено методом проточной цитофлуориметрии (оценка экспрессии Цит/Вим — с использованием двойного окрашивания). В работе применены первичные и вторичные антитела: для TUBB — ab7751 и ab98729 (DyLight650); для Цит — M0821 (DAKO) и ab98729 (DyLight650); для Вим — SP20 (BIOCARE) и ab98510 (DyLight650). Количественную обработку данных проводили с помощью программы FlowJo. Уровень экспрессии (количество специфически окрашенных клеток относительно показателя при инкубации с вторичными антителами) анализировали с помощью статистического критерия Колмогорова-Смирнова.