

МЕЖДУНАРОДНЫЙ
**RE
SEARCH**
КАЗАНЬ
УЧЕНЫХ В ФАРМАЦИИ

**СБОРНИК ТЕЗИСОВ
МЕЖДУНАРОДНОГО КОНГРЕССА
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ В ФАРМАЦИИ
«DRUG RESEARCH»**

19 октября 2021г., Казань

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ
Международного конгресса молодых ученых в фармации «Drug Research»

Председатель организационного комитета:
директор Института фармации КГМУ Мустафин Р.И.

Организационный комитет
Международного конгресса молодых ученых в фармации «Drug Research»:
профессор университета Рединга, почетный профессор КГМУ Хуторянский В.В.,
Хуснутдинов Р.Р.

Технические редакторы
доцент Института фармации КГМУ Ситенкова А.В.,
ассистент Института фармации КГМУ Тимергалиева В.Р.

В настоящий сборник вошли тезисы постерных докладов участников Международного конгресса молодых ученых в фармации «Drug Research».

Тематика тезисов очень разнообразна и охватывает многие актуальные проблемы современной науки. Тезисы публикуются в том виде, в котором были представлены авторами, они не редактировались, а были лишь приведены к единому формату.

СОДЕРЖАНИЕ

В.П. Агеев РАЗРАБОТКА ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА С ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО.....	4
К.А. Гусев РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ТАБЛЕТОК, ОБЛАДАЮЩИХ ГИПОТЕНЗИВНЫМ ДЕЙСТВИЕМ, С ПОМОЩЬЮ 3D-ПЕЧАТИ.....	6
Н.В. Добрякова ВЛИЯНИЕ ПОЛИКАТИОНОВ НА БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ L-АСПАРАГИНАЗЫ RHODOSPIRILLUM RUBRUM.....	8
Т.Ю. Копнова ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА С ФТОРХИНОЛОНАМИ	9
Д. Э. Якобсон СИНТЕЗ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОСОВМЕСТИМЫХ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ И МРТ.....	10
В.Р. Тимергалиева РАЗРАБОТКА ДИСПЕРГИРУЕМЫХ В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ТАБЛЕТОК С НЕМЕДЛЕННЫМ ВЫСВОБОЖДЕНИЕМ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ.....	11
З.М. Шайхутдинова ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ НАНОРЕАКТОРЫ ДЛЯ ДЕТОКСИКАЦИИ ПЕСТИЦИДА ПАРАОКСОН.....	12
М.В. Эсметьева МОДУЛИРОВАНИЕ РЕДОКС-АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОНА ПОСРЕДСТВОМ МОДИФИКАЦИИ ДИТИОФОСФОРНОЙ КИСЛОТОЙ.....	13
А.А. Чудин РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ И ПОИСК ИНГИБИТОРОВ ДЛЯ L- ГАЛАКТОН-1,4-ЛАКТОН ДЕГИДРОГЕНАЗЫ ARABIDOPSIS THALIANA.....	14
В.И. Шляпкина ТЕХНОЛОГИЯ И ХИМИЯ ПЕРСПЕКТИВНОЙ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ АНТИГИСТАМИННОГО ДЕЙСТВИЯ.....	16

РАЗРАБОТКА ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА С ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО

В.П. Агеев¹, О.А. Куликов¹, В.И. Шляпкина¹, Л. А. Тарарина², Н.А. Пятаев¹

¹ФГБОУ ВО "МГУ им. Н. П. Огарёва", Саранск

² ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова Минздрава России, Москва

Введение. Фуранокумарины, обнаруженные в экстракте борщевика Сосновского, обладают выраженным фототоксическим эффектом, проявляющимся в виде апоптоза клеток. Фуранокумарины под действием ультрафиолетового излучения с длиной волны в диапазоне 320 до 370 нм переходят в триплетное (возбуждённое) состояние, в котором взаимодействуют с нуклеиновыми кислотами, образуя прочные ковалентные связи, при этом приоритетным является связывание с тиминном. В результате происходит образование большого количества поперечных сшивок в молекуле ДНК, что нарушает процесс её репликации и в конечном итоге приводит к гибели клетки в результате апоптоза[1]. Однако практическое применение данных соединений для лечения онкологических заболеваний осложняется их высокой липофильностью, что делает невозможным их парентеральное введение. Таким образом, рациональным является разработка лекарственной липосомальной формы фуранокумаринов для парентерального применения.

Задача исследования. Разработать метод выделения фуранокумаринов из сока борщевика Сосновского и способ их качественного и количественного анализа, а также разработать липосомальную форму исследуемых веществ.

Материалы и методы. В качестве ЛРС для получения фуранокумаринов использовали сок, полученный из листьев и стеблей борщевика Сосновского собранных в период цветения. Экстракцию действующих веществ из сока производили методом дробной экстракции хлороформом в соотношении 4 части экстрагента к 1 части сока в течении 24 часов. Очистку экстракта от балластных веществ производили по методу Г. К. Никонова с последующей градиентной колончатой хроматографией через силикагель с размером пор 400 mesh. Для установления состава полученных фракций использовали метод ТСХ и ВЭЖХ. В качестве подвижной фазы для ТСХ использовали раствор ацетонитрила в хлороформе (5:95). Подвижная фаза для ВЭЖХ представляет собой смесь ацетонитрил:деионизованная вода в соотношении 1:1 по объёму. Детектирование производили при длине волны 250 нм.

Полученную в результате смесь фуранокумаринов использовали для получения липосом. Действующие вещества включали в липидную оболочку. Липосомы формировали методом гидратирования липидной плёнки с последующей экструзией через поликарбонатный фильтр с диаметром пор 400 нм.[2] Эффективность включения фуранокумаринов определяли методом ВЭЖХ. Размер полученных липосом определяли методом динамического светорассеивания на анализаторе размеров наночастиц NANO-flex. [3]

Результаты. В результате хроматографического анализа было подтверждено, что основными компонентами фракции HSf-2.2 являются 5-метоксипсорален и 8-метоксипсорален. При этом было установлено, что концентрация 5-метоксипсоралена составляет 34,173 мг/л, а 8-метоксипсоралена - 1332,66 мг/л. Общее содержание фуранокумаринов в соке борщевика Сосновского составляет 1366,833 мг/л.

Полученные липосомы имели размер порядка 219 ± 23 нм. Количественное содержание фуранокумаринов в препарате равно 1,834 мг/мл. Эффективность включения действующих веществ равна 91,71%.

Выводы. Таким образом, нам удалось разработать метод экстракции фуранокумаринов из сока борщевика Сосновского. Был произведён полный качественный и количественный состав полученного экстракта и на его основе разработана методика получения липосомального фотосенсибилизирующего противоопухолевого препарата для парентерального применения, активируемого УФ-излучением в диапазоне от 320 до 370 нм. В дальнейшем планируется изучение противоопухолевой активности разработанной композиции.

Список литературы.

1. Diekmann J, Theves I, Thom KA, Gilch P. Tracing the Photoaddition of Pharmaceutical Psoralens to DNA. *Molecules*. 2020;25(22):5242. Published 2020 Nov 10. doi:10.3390/molecules25225242
2. Nikonov G. K., Manuilov B. M. The foundations of modern phytotherapy. *Medicine*, 2005, 520 p.
3. Kulikov O. A. Poluchenie i analiz nanosomal'noj lekarstvennoj formy deksametazona v giperosmolyarnoj vodnoj srede [Obtaining and analysis of a nanosomal dosage form of dexamethasone in a hyperosmolar aqueous medium] *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii*. 2017, no6

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ТАБЛЕТОК, ОБЛАДАЮЩИХ ГИПОТЕНЗИВНЫМ ДЕЙСТВИЕМ, С ПОМОЩЬЮ 3D-ПЕЧАТИ

К.А. Гусев, О.А. Терентьева

Руководитель: Е.В. Флисюк, д. фарм. наук., профессор

konstantin.gusev@pharminnotech.com

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14А, Россия

Ключевые слова: экструзия расплава, филамент, послойное наплавление, трехмерная печать, аддитивное производство, персонализированная медицина, напечатанные препараты, рамиприл.

Введение. Одной из наиболее распространённых причин смертности населения являются болезни сердечно-сосудистой системы, для лечения которых применяются гипотензивные лекарственные препараты.

Эта группа препаратов чаще всего нуждается в подборе оптимальной дозировки действующего вещества и нередко необходимо корректировать прописанную дозировку в процессе лечения.

Для гипотензивных лекарственных препаратов перспективным является применение персонализированного подхода в терапии. Персонализированная медицина подразумевает под собой подбор оптимальной дозировки конкретного действующего вещества конкретному пациенту, учитывая при этом фармако-генетические особенности последнего.

Для реализации данного подхода к терапии и созданию персонализированных лекарственных препаратов исследуется применение технологий трёхмерной печати. [1, 2] Одним из способов разработки лекарственных форм методом трехмерной печати является изготовление полупродуктов в виде специальных нитей или картриджей, содержащих действующее вещество в полимере-носителе в определённой дозировке, из которых печатается лекарственная форма.

Цель. В данной работе была проведена оценка применимости состава, содержащего Kollidon® VA 64, BASF (Германия), для изготовления таблеток рамиприла с немедленным высвобождением, содержащих различные терапевтические дозировки действующего вещества, получаемые методом послойного наплавления (FDM-печать).

Материалы и методы. Объект исследования: рамиприл. Полимер-носитель: Kollidon® VA 64. Филаменты для 3D-печати, содержащие рамиприл, получали на лабораторном двухшнековом экструдере Naake™ miniCTW (Thermo Fisher Scientific, Германия) методом экструзии горячего расплава.

Таблетки получали на FDM-принтере самостоятельной сборки с подачей филамента по принципу «боуден». Были оценены следующие свойства полученных таблеток: истираемость и прочность на сжатие. Однородность содержания рамиприла в филаменте и количественное определение рамиприла и примесей в таблетках определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе LC Shimadzu Prominence.

Филаменты и таблетки исследовались методом дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) с целью определения стабильности рамиприла после температурного воздействия при экструзии горячего расплава и последующей 3D печати. Исследование проводилось на дифференциальном сканирующем калориметре DSC 3+ Mettler Toledo (Швейцария). Также стабильность рамиприла определялась методом рамановской спектроскопии на аналитической системе комбинационного рассеяния света OPTEC-785TRS-2700.

Результаты и обсуждение. Разработан состав филамента (таблица 1) на основе Kollidon® VA 64 и получен методом экструзии горячего расплава, температура экструзии (100 °C) и печати (105 °C) которого значительно ниже рабочих температур чистого полимера-носителя (135...145 °C), что позволило получить филамент, содержащий термолабильное действующее вещество – рамиприл ($T_{пл} = 115\text{ °C}$, $T_{дегр} = 120\text{ °C}$).

Таблица 1 – Разработанный состав филамента

Вещество	Масса, г	% по массе
Рамиприл	0,3	3
Kollidon® VA 64	7	70
Полиэтиленгликоль 1500	1,5	15
Натрия карбонат безводный	0,2	2
Сшитый поливинилпирролидон Kollidon® CL-F	0,5	5
Poloxamer 188	0,3	3
Натрия стеарил фумарат	0,2	2
Итого	10	100

Полученные филаменты имели диаметр 1,75 мм, содержали 3% рамиприла по массе. Температура процесса экструзии составила 100 °С.

Из полученных филаментов напечатаны таблетки двух конфигураций: с крышкой и без крышки, и с тремя уровнями заполнения: 30 %, 50 % и 100 % (рисунок 1), проведено сравнение 5 различных конфигураций таблеток.

Температурной деградации рамиприла, определенной методом дифференциальной сканирующей калориметрии, в филаментах и таблетках не наблюдается.

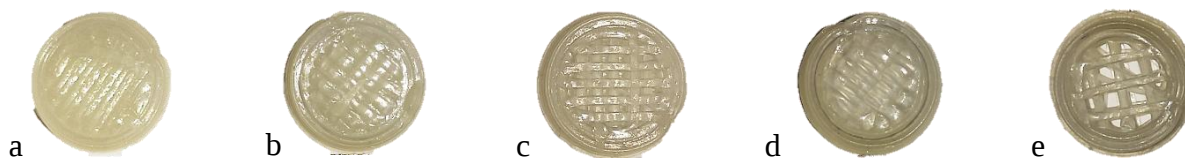


Рисунок 1. Фотографии напечатанных таблеток рамиприла с разным заполнением (а – 100 %, b – 50 %К, c – 50 %БК, d – 30 %К, e – 30 %БК).

Изучение кинетики высвобождения рамиприла из таблеток различного заполнения с крышкой и без крышки показало, что таблетки со 100 % заполнением обеспечивают немедленное высвобождение рамиприла.

Заключение. Kollidon® VA 64 может быть использован в качестве полимера-носителя для изготовления таблеток с немедленным высвобождением, содержащих термолabile вещества. Данный подход был исследован на примере субстанции рамиприла. На основе Kollidon® VA 64 можно получить филаменты, пригодные для печати по технологии послойного наплавления.

Литература

1. Goyanes A., Fina F., Martorana A., Sedough D., Gaisford S., Basit A. W. Development of modified release 3D printed tablets (printlets) with pharmaceutical excipients using additive manufacturing. *International Journal of pharmaceutics*. 2017;527(1-2):21-30. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.05.021.
2. Trenfield S. J., Awad A., Goyanes A., Gaisford S., Basit A. W. 3D printing pharmaceuticals: drug development to frontline care. *Trends in pharmacological sciences*. 2018;39(5):440-451. DOI: 10.1016/j.tips.2018.02.006.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИКАТИОНОВ НА БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ L-АСПАРАГИНАЗЫ *RHODOSPIRILLUM RUBRUM*

Н.В. Добрякова¹, Д.Д. Жданов², Н.Н. Соколов², Е.В. Кудряшова²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва, Россия

Для лечения некоторых видов лейкозов, в частности острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), применяют бактериальные аспарагиназы. Основным механизмом действия L-аспарагиназ заключается в способности гидролизовать аминокислоту L-аспарагин до L-аспарагиновой кислоты и аммиака. Таким образом, при использовании препарата L-аспарагиназы концентрация L-аспарагина в крови снижается. Более чувствительные к недостатку данной аминокислоты раковые клетки перестают синтезировать нуклеиновые кислоты и белки, что приводит к апоптозу раковых клеток.

В лечении ОЛЛ обычно используют L-аспарагиназы *Escherichia coli* (EcA) и *Erwinia chrysanthemi* (EwA). Однако, применение данных ферментов осложняется иммуногенностью и различными побочными эффектами (гепатотоксичность, нейротоксичность, нарушение свертывания крови). Для решения данных проблем необходимо искать новые L-аспарагиназы, которые не обладали бы данными недостатками. Таким ферментом может являться L-аспарагиназа *Rhodospirillum rubrum* (RrA), которая содержит 172 аминокислотных остатка в своей последовательности, что почти в 2 раза меньше, чем у коммерческих ферментов. Также у данного фермента практически отсутствует глутаминазная активность, которая приводит нарушению биохимических процессов в организме. Недостатком RrA являются рН оптимум, сдвинутый в щелочную область (рН 9-9.5), что сказывается на её каталитической активности при физиологических условиях. Также фермент недостаточно стабилен в кровотоке и может подвергаться деградации под действием протеолитических ферментов.

В нашей лаборатории ведётся разработка методов конъюгирования L-аспарагиназ с различными полимерами для улучшения их свойств [1]. Предполагается, что использование ионных сополимеров, таких как ПЭГ-хитозан, гепарансульфат, полиэтиленмин (ПЭИ) и др. позволит регулировать каталитические свойства RrA, что будет способствовать увеличению её цитотоксичности и устойчивости к биodeградации.

Для оптимизации состава конъюгатов по отношению к каталитическим параметрам и стабильности RrA в работе были получены полиэлектролитные комплексы (ПЭК) со следующими полимерами: хитозан-ПЭГ, ПЭИ-ПЭГ, ПЭИ, гепарин, хитозан, хитозан-гликоль. Измерение активности гидролиза L-аспарагина данными ПЭК показало наибольший прирост активности у комплекса RrA с ПЭИ (примерно на 30 %). Далее были синтезированы конъюгаты RrA с сополимерами хитозан-ПЭГ (5 и 7 кДа, от 8 до 30 цепей ПЭГ), хитозан-гликолем, хитозан-ПЭИ, ПЭИ-ПЭГ, ПЭГ и спермидином. Наибольшая активность была у конъюгата RrA-хит-ПЭГ (7 кДа, 30 цепей ПЭГ): на~ 30% выше, чем у нативного фермента. Показано, что рН оптимум конъюгатов сдвигается на 0,5-1 ед. в кислую область по сравнению с нативным ферментом. Установлено, что антипролиферативная активность RrA и её конъюгатов с хитозан-ПЭГ, хитозан-гликолем и хитозан-ПЭИ была выше в сравнении с коммерческими препаратами L-аспарагиназ на лейкозных клетках К-562. На клетках Jurkat наиболее токсичен был конъюгат RrA-хит-гликоль. Исходя из изученных характеристик, было сделано предположение, что модификация карбоксильных групп RrA реактивом Вудворда является более подходящей, по сравнению с реакцией восстановительного аминирования по аминок группам фермента. Конъюгат со спермидином оказался наиболее оптимальным по биокаталитическим и противоопухолевым свойствам.

Литература

1. Sukhoverkov K. V., Sokolov N., Abakumova O., Podobed O., Kudryashova E. The formation of conjugates with PEG–chitosan improves the biocatalytic efficiency and antitumor activity of L-asparaginase from *Erwinia carotovora* // Moscow Univ. Chem. Bull. 2016. Vol. 71, № 2. P. 122–126.

ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА С ФТОРХИНОЛОНАМИ

Т.Ю. Копнова, А.А. Скуредина, Л.Р. Якупова, Е.В. Кудряшова

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
химический факультет, Москва, Россия

E-mail: kopnovataty@gmail.com

Фторхинолоны (ФХ) – антибактериальные препараты, используемые для лечения широкого спектра заболеваний. Наиболее широко в медицинской практике применяются ципрофлоксацин (ЦФ), левофлоксацин (ЛФ) и моксифлоксацин (МФ) относящиеся к II, III и IV поколениям лекарств соответственно. В их структуре есть некоторые принципиальные отличия: так в молекуле ЛФ есть морфолиновый фрагмент, которого в структуре ЦФ; у МФ в 7 положении пиперазиновый фрагмент, содержащийся в структуре ЦФ и ЛФ, заменен бициклической структурой с двумя атомами азота. Таким образом, молекулы МФ и ЛФ становятся более полярными по сравнению с ЦФ. Комплексообразование ФХ с циклодекстринами (ЦД) – циклическими олигосахаридами с гидрофильной поверхностью и гидрофобной полостью, применяющимися для создания высокоэффективных систем доставки лекарственных препаратов [1,2], может приводить к изменению фармакодинамических свойств лекарства, в частности, параметров взаимодействия с человеческим сывороточным альбумином (ЧСА)[3].

В данной работе было изучено влияние структуры ФХ, а также комплексообразования ФХ с метил-β-ЦД (МЦД) на взаимодействие с ЧСА с помощью метода флуоресцентной спектроскопии. Было показано, что взаимодействие ЧСА с ФХ приводит к тушению флуоресценции, причем этот эффект сильнее выражен для наиболее гидрофобной молекулы ЦФ. Также было показано, что при данных взаимодействиях происходит смещение максимума эмиссии ЧСА на ~8–10 нм в длинноволновую область, что дает основания полагать, что взаимодействие ФХ с ЧСА происходит не только за счет гидрофобных взаимодействий между ароматическим остовом ФХ и гидрофобными карманами ЧСА, но и за счет электростатических взаимодействий с поверхностью альбумина. Полученные константы Штерна-Фольмера и константы связывания альбумин-фторхинолон представлены в Таблице 1. Связывание ЦФ в комплекс с МЦД приводит к уменьшению $K_{шф}$ и увеличению $K_{связ}$ в ~3 раза (Таблица 1). Это дает основание полагать, что комплексообразование ЦФ с МЦД приводит к превалированию взаимодействий с поверхностью альбумина. Аналогичное влияние МЦД на $K_{связ}$ происходило в системе, содержащей ЛФ.

Полученные результаты в перспективе позволят варьировать фармакодинамические свойства фторхинолонов для успешного их применения в медицинской практике.

Таблица 1. Параметры взаимодействия фторхинолонов с человеческим сывороточным альбумином, $pH = 7,4$

	$K_{шф} \times 10^{-6}, M^{-1}$	n^*	$K_{связ} \times 10^{-6}^{**}$
ЦФ + ЧСА	$3,1 \pm 0,3$	$0,80 \pm 0,04$	$0,4 \pm 0,1$
ЛФ + ЧСА	$1,1 \pm 0,2$	$0,98 \pm 0,05$	$0,9 \pm 0,2$
МФ + ЧСА	$2,1 \pm 0,2$	$0,90 \pm 0,05$	$0,8 \pm 0,2$
(ЦФ+МЦД) + ЧСА	$0,8 \pm 0,1$	$1,06 \pm 0,05$	$1,2 \pm 0,2$
(ЛФ+МЦД) + ЧСА	$1,7 \pm 0,2$	$1,07 \pm 0,05$	$3,2 \pm 0,3$

* n – стехиометрия взаимодействия ФХ и ФХ+МЦД с ЧСА

** $K_{связ}$ была рассчитана в двойных логарифмических координатах

ЛИТЕРАТУРА

1. Skuredina A.A. et al. *Moscow Univ. Chem. Bull.*, **2020**, 75(4), 218–224.
2. Le-Deygen I.M. et al. *Anal Bioanal Chem*, **2017**, 409, 6451–6462.
3. Fanali G. et al. *Mol. Aspects Med.*, **2012**, 33 (3), 209–290.

СИНТЕЗ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОСОВМЕСТИМЫХ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ И МРТ

Д. Э. Якобсон, О. А. Куликов, М. Н. Жарков, В. И. Шляпкина, М. В. Герасимов, Н. А. Пятаев.

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет, 430005, ул.

Большевицкая 68, Саранск, Россия

В данной работе мы поставили задачу усовершенствовать препараты для гипертермии опухолей и МРТ. В настоящее время в компании «MagForce AG» [1] разработана суспензия наночастиц магнетита, покрытых алкоксисиланом, для локальной магнитной гипертермии. Такие частицы также могут быть использованы в качестве контрастного агента для МРТ [2]. Мы синтезировали биосовместимые биоразлагаемые наночастицы оксида железа, стабилизированные олеиновой кислотой (Fe₃O₄-OA-NP), которые могут стать альтернативным эффективным средством для гипертермии и МРТ. Здесь представлен результат токсикологических исследований полученных наночастиц.

Частицы магнетита получали соосаждением хлоридов железа (II, III) (мольное соотношение 1: 2) в щелочной среде аммиака с последующей стабилизацией олеиновой кислотой и олеатом натрия [3]. Метод был модифицирован в части стабилизации наночастиц, что позволило получить стабильную высококонцентрированную суспензию.

Были определены следующие характеристики полученных наночастиц: размеры и морфология, ζ-потенциал, концентрация железа, намагниченность и удельная скорость поглощения (Specifically absorption rate - SAR).

Острую токсичность магнитной жидкости изучали на белых крысах после внутримышечного и внутрибрюшинного введения. Для внутримышечного введения Fe₃O₄-OA-NP вводили однократно в бедра обеих задних конечностей по 0,5 мл на конечность. Для внутрибрюшинного введения вещество вводили однократно в дозах - 150, 300, 450, 600, 750, 900, 1200, 1500, 1800, 2100 мг / кг. За животными наблюдали 30 дней. Местное раздражающее действие исследовали на крысах Вистар после внутримышечного введения 0,5 мл Fe₃O₄-OA-NP. Срок наблюдения за крысами 7 дней. После эвтаназии животных выполняли: гистопатологический анализ внутренних органов и мышц, расчет LD₅₀.

Полученные результаты. Средний размер Fe₃O₄-OA-NP по данным просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) $8,7 \pm 3,1$ нм, по данным динамического рассеяния света (ДРС) 25 ± 8 нм, ζ-потенциал - 65 ± 3 мВ при pH = 7,7, массовая концентрация железа 112 мг / кг. мл, SAR Fe₃O₄-OA-NP составлял 12 Вт / г Fe.

Результаты исследования острой токсичности полученного Fe₃O₄-OA-NP позволяют отнести его к малотоксичным соединениям при внутрибрюшинном введении и практически нетоксичным или относительно безвредным при внутримышечном введении. Пробит-анализ показал значения LD₅₀ для мышей 652,3 мг / кг. В гистологии внутренних органов мышей реакция Перлса показывает, что Fe₃O₄-OA-NP визуализируется внутри клеток и в виде свободных кластеров. В синусоидальных капиллярах печени магнетит диффузно располагается и в цитоплазме клеток Купфера. Реакция Перлса указала на присутствие магнетита в брюшине, покрывающей почки и кишечник, а также на накопление наночастиц магнетита в цитоплазме фагоцитов сальника. При исследовании местного раздражающего действия макроскопических признаков воспаления в месте введения Fe₃O₄-OA-NP не обнаружено. Микроскопия мышц показала, что наночастицы магнетита локализованы в эндомизии, перимизии мышцы и в цитоплазме тканевых макрофагов. Внутри мышечных волокон берлинская лазурь не наблюдалась.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 18-415-130007).

[1] N. Waldoefner, A. Jordan, US 9,962,442, B2 (2018).

[2] T. Li, Int. J. Nanomed. 10 (2015).

[3] L. Qiang, J. Colloid Interface Sci. 310 (2007).

РАЗРАБОТКА ДИСПЕРГИРУЕМЫХ В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ТАБЛЕТОК С НЕМЕДЛЕННЫМ ВЫСВОБОЖДЕНИЕМ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

В.Р. Тимергалиева, Р.И. Мустафин

Казанский государственный медицинский университет

Диспергируемые в ротовой полости лекарственные формы являются одним из перспективных направлений в области систем доставки лекарственных веществ. Преимуществами диспергируемых форм является поступление лекарственного вещества (ЛВ) непосредственно в кровь через слизистые оболочки ротовой полости, чему способствует высокое кровоснабжение ротовой полости, минуется «эффект первого прохождения через печень», в отличие от пероральных лекарственных форм.

Целью работы была разработка и исследование оптимальных образцов диспергируемых в ротовой полости таблеток на основе интерполимерных сочетаний (мет)акрилатных полимеров. Для этого были получены образцы интерполиэлектролитных комплексов (ИПЭК) на основе линейного полимера Eudragit EPO и сетчатого полимера - сополимера карбомера двух марок Noveon® AA-1 и Carbopol® 10 Ultrez.

Была проведена оценка структурных особенностей, исследована мукоадгезивная способность ИПЭК, получены лиофилизаты с ИПЭК и ЛВ - метформин и метронидазол, проведена сравнительная оценка кинетики высвобождения. На ИК-спектрах образцов ИПЭК появляется полоса поглощения при 1560 см^{-1} , отсутствующая у индивидуальных полимеров, которая обусловлена образованием ионных связей между карбоксилатными группами Carbopol® и протонированными диметиламиногруппами EPO.

Исследование мукоадгезивной способности образцов показало, что ИПЭК обладают мукоадгезивной способностью. Адгезивная способность также обусловлена отрицательным зарядом карбоксильных групп редкосшитого полимера на поверхности частиц ИПЭК, обеспечивающих взаимодействие с олигосахаридными цепями муцина.

После получения лиофилизированных таблеток была проведена оценка распадаемости, фиксировалось время полной дезинтеграции таблеток, после чего был исследован размер и заряд полученных частиц. Оценка кинетики высвобождения ЛВ из полученных быстродиспергируемых таблеток с использованием трех аппаратов для растворения: лопастной мешалки (метод 2) на тестере растворения DT 820 (Erweka, Германия), проточной ячейки (метод 3 по ГФ РФ) на тестере растворения Sotax CE 7Smart (Швейцария) в конфигурации «открытая петля», на ячейке Франца - диффузионная система PHOENIX™ DryHeatManual DiffusionSystemDB-6 (Telodyne Hanson Research, США). Согласно проведенным исследованиям высвобождение ЛВ из лиофилизированных таблеток начинается с момента помещения лекарственной формы в жидкую среду. При сравнительной оценке высвобождения метформина максимальная концентрация ЛВ достигается через 90 мин эксперимента (на ячейке Франца и «проточной ячейке»).

При оценке высвобождения метронидазола максимальная концентрация ЛВ также наблюдаются спустя 90 мин эксперимента (метод 2 и «проточная ячейка»). При исследовании на ячейке Франца благодаря диффузии через диализную мембрану, концентрация ЛВ нарастает постепенно и максимум достигается через 270 мин.

Таким образом, высвобождение из лиофилизированных таблеток начинается немедленно при помещении их в жидкую среду, результаты высвобождения на трех аппаратах сопоставимы. Благодаря наличию в составе таблеток ИПЭК, становится возможным высвобождение ЛВ в течении длительного времени.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ НАНОРЕАКТОРЫ ДЛЯ ДЕТОКСИКАЦИИ ПЕСТИЦИДА ПАРАОКСОН

З.М. Шайхутдинова^{1,2}, Д.Н. Шамбазова¹, Д.А. Татаринов², А.В. Богданов²,
Т.Н. Паширова^{1,2}, П. Массон¹

¹ НИЛ OpenLab Нейрофармакологии ИФМиБ КФУ, Казань

² Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, Казань
shajhutdinova.z@mail.ru

В настоящее время наблюдается экспоненциальный рост применения биокаталитических реакторов в наномедицине для терапии опухолевых и воспалительных процессов, детоксикации лекарств и ксенобиотиков, коррекции метаболических и генетических дефектов. В отличие от простых коллоидных носителей, биокаталитические нанореакторы и нанофабрики представляют собой компартменты, способные выполнять определенные функции во внутри- или межклеточной среде. Кроме того, стратегия развития нанореакторов является промежуточным звеном при создании искусственных клеток и тканей [1]. Нанореакторный подход не был применен в лечении/детоксикации при отравлении пестицидами. Ранее было установлено, что мутанты фосфотриэстеразы термофильных архей *Sulfolobus solfataricus* проявляют высокую эффективность в отношении фосфорорганических соединений [2].

Целью данной работы является создание нанореакторов с ферментом фосфотриэстеразой (ФТЭ) для детоксикации фосфорорганического пестицида параоксон. В качестве нанореакторов использовались полимерсомы, полученные в результате самосборки амфифильных блок-сополимеров на основе полиэтиленгликоля и пропиленсульфида при варьировании молекулярной массы, концентрации (0.1-2% масс.) и параметра их упаковки. Методом динамического рассеяния света и просвечивающей электронной микроскопии установлено, что размер нанореакторов составляет от 70 до 100 нм с индексом полидисперсности не превышающим 0.2, дзета-потенциал варьируется от -11 ± 1 до -25 ± 1 мВ. В результате *in vitro* симуляции в условиях реакции второго порядка наблюдалась инактивация параоксона менее чем за 10 секунд свободной и инкапсулированной ФТЭ в нанореакторе.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ, проект № 20-14-00155.

1. T.N. Pashirova, A.V. Bogdanov, P. Masson, *Chem.-Biol. Interact.*, 2021, **346**, 109577
2. L. Poirier, P. Jacquet, L. Plener, P. Masson, et al., *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2021, **28**, 25081-25106.

**МОДУЛИРОВАНИЕ РЕДОКС-АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОНА
ПОСРЕДСТВОМ МОДИФИКАЦИИ ДИТИОФОСФОРНОЙ КИСЛОТЫ**
М.В. Эсметьева, Р.А. Ишкаева, И.С. Низамов, И.Д. Низамов, Д.В. Салахиева, Т.И. Абдуллин
ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
E-mail: marina.esmeteva@mail.ru

Одной из главных причин возникновения дегенеративных, воспалительных и опухолевых заболеваний является окислительный стресс, возникающий в клетках в результате дисбаланса между продукцией активных форм кислорода (АФК) и антиоксидантной (АО) защитой. АО терапия является одним из основных подходов в лечении и профилактике этих заболеваний, однако, клинические исследования традиционных АО не подтвердили их терапевтическую активность. Преобладающим АО в клетках млекопитающих является трипептид глутатион (GSH), также играющий важную регуляторную роль, однако, терапевтические приложения GSH ограничены вследствие низкой стабильности и внутриклеточного проникновения. Перспективными модификаторами GSH являются фосфорорганические соединения, способные модулировать физико-химические и фармакологические свойства трипептида.

В работе получена новая амфифильная модификация GSH, основанная на образовании аммониевых солей восстановленного глутатиона (GSH) и окисленного глутатиона (GSSG) с О,О-диментилдитиофосфорной кислотой (DTP). Установлено, что DTP-компонент повышает АО и электрохимическую активность GSH и GSSG. При этом он является донором биоактивного газотрансмиттера H_2S , высвобождающегося в процессе гидролиза солей глутатиона и опосредующего взаимные превращение тиольной и дисульфидных групп. С использованием флуоресцентного красителя монохлорбимана (MCB) исследовано влияние соединений на уровень GSH в различных клетках глиобластомы. Обнаружено, что соли глутатиона с DTP обладают усиленной способностью модулировать внутриклеточный уровень GSH, предположительно, вследствие повышенной биодоступности и редокс-активности полученных производных.

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

1. R.A. Ishkaeva, et al. Dithiophosphate-induced redox conversions of reduced and oxidized glutathione. *Molecules* 2021, 26, 2973.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ И ПОИСК ИНГИБИТОРОВ ДЛЯ L-ГАЛАКТОН-1,4-ЛАКТОН ДЕГИДРОГЕНАЗЫ *ARABIDOPSIS THALIANA*

А.А. Чудин, Е.В. Кудряшова.

*Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
кафедра химической энзимологии
e-mail: andrew_18@inbox.ru*

Галактонолактон оксидоредуктаза *T. cruzi* (TcGAL) – фермент, катализирующий финальную стадию синтеза аскорбата в организме-паразите трипаноме (не способна усваивать аскорбиновую кислоту извне). Ингибитор данной оксидоредуктазы может стать эффективным лекарством против болезней, вызываемых этим организмом. Однако работа с TcGAL затруднена ввиду потери активности фермента в водной среде. Возможно использование систем обращённых мицелл (модель мембраны). Кроме того, предварительные эксперименты могут быть проведены с модельным ферментом галактон-1,4-лактон дегидрогеназой *Arabidopsis Thaliana* (AtGALDH), гомологичной по отношению к TcGAL и проявляющей активность как в водной, так и мицеллярной средах. В данной работе исследованы возможности применения различных электроноакцепторов (цитохром С, феназинметосульфат) для определения активности L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназы *Arabidopsis Thaliana* (AtGALDH) в системе обращённых мицелл АОТ методом спектрофотометрии. Найдено, что сочетание феназинметосульфата и красителя дихлорфенолиндифенола является наиболее оптимальным для определения активности AtGALDH. Используя разработанный метод, изучили влияние ликорина как ингибитора на активность AtGALDH в водной среде и в системе обращённых мицелл, а также установили механизм ингибирования ликорином.

Ключевые слова: L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназа; акцепторы электронов; ликорин; ФАД-зависимые дегидрогеназы; обращенные мицеллы АОТ; трипаносома.

Галактонолактон оксидоредуктаза *T. cruzi* (TcGAL) представляет собой мембранозависимый фермент, который катализирует финальную стадию биосинтеза аскорбата в трипаноме – паразитическом простейшем, вызывающим ряд заболеваний, таких как лейшманиоз и сонная болезнь. Трипаномы неспособны усваивать аскорбиновую кислоту из окружающей среды [1], поэтому эффективный ингибитор данной стадии может стать основой для создания лекарств против различных заболеваний. Однако, в силу того что TcGAL-мембранный митохондриальный фермент, его не удаётся получить методами генной инженерии в активной и растворимой форме – он образуется в виде «телец включения». Получить фермент в активной форме можно, если провести его рефолдинг в системе обращённых мицелл (модель мембраны), однако эффективно выделить TcGAL из мицеллярной системы в водную фазу пока не удастся. В связи вышеназванными ограничениями представляется разумным в предварительных экспериментах использовать модельный фермент L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназу *Arabidopsis Thaliana* (AtGALDH), гомологичный по отношению к TcGAL и проявляющий активность как в водной, так и в мицеллярной средах.

Таким образом, настоящая работа посвящена характеристике ряда электроноакцепторов для разработки метода определения активности AtGALDH в мицеллярных системах, а также поиску эффективных ингибиторов данного фермента.

В работе был охарактеризован ряд электроноакцепторов (ЭА) для AtGALDH в системе обращённых мицелл АОТ (0,1 М раствор ди-(2-этил)-гексилового эфира сульфоянтарной кислоты в н-октане в широком интервале степеней гидратации) методом спектрофотометрии. Показано, что природный ЭА цитохром С не может быть использован в системе обращённых мицелл, поскольку взаимодействует с мицеллярной матрицей, теряя кофактор, и утрачивает электроноакцепторные свойства. Среди искусственных ЭА, используемых при определении ферментативной активности ряда дегидрогеназ, наилучшие результаты обеспечило сочетание феназинметосульфата (PMS) и индикатора дихлорфенолиндифенола (DCPIP) ввиду

наибольшего соотношения основной и фоновой реакций и максимальной разницы коэффициентов молярного поглощения.

Изученное сочетание PMS и DCPIP было использовано для исследования влияния ликорина (алколоид) на активность AtGALDH. Ранее уже отмечалась высокая эффективность данного соединения как ингибитора по отношению к L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназе, полученной из других источников [2, 3], но не из *Arabidopsis Thaliana*. Показано, что ликорин при концентрациях 100-800 мкМ оказывает до 85% ингибирование AtGALDH в системе обращённых мицелл (в зависимости от степени гидратации, рис. 1). Поскольку мицеллы представляют собой модель мембраны, а AtGALDH и TcGAL – гомологичны, то можно предположить схожее действие ликорина на целевой фермент в трипанасоме.

**Ингибирование AtGALDH в 0,1 М АОТ при различных степенях гидратации W_0
(конечная концентрация ликорина в р-ре 800 мкМ, концентрация субстрата 1,2 мМ)**

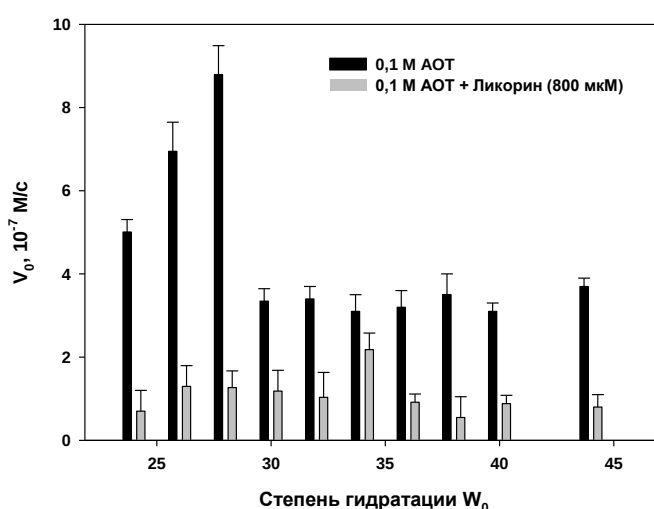


Рис. 1. Зависимость активности AtGALDH от степени гидратации в системе обращённых мицелл АОТ при отсутствии и наличии ликорина.

Несмотря на относительно невысокую степень ингибирования, ликорин представляется подходящей основой для создания лекарств против трипанасомных инфекций ввиду его нетоксичности и селективности. Также был впервые установлен смешанный механизм ингибирования AtGALDH ликорином в водной среде (фосфатный буфер, pH = 8,9).

Таким образом, подобран электроноакцептор – феназинметосульфат, который в сочетании с дихлорфенолиндофенолом позволяет определять активность AtGALDH в системе обращённых мицелл АОТ (модель мембраны). Данный подход был использован для изучения влияния ликорина на активность AtGALDH в мицеллярной среде. Обнаружен значимый ингибирующий эффект ликорина в отношении изучаемого фермента, а также установлен смешанный механизм действия. Полученные результаты в дальнейшем могут лечь в основу разработки лекарств против трипаносомных инфекций.

1. Kudryashova E.V., Leferink N.G., Slot I.G., van Berkel W.J. Galactonolactone oxidoreductase from *Trypanosoma cruzi* employs a FAD cofactor for the synthesis of vitamin C // *Biochim Biophys Acta*. 2011 Vol. 1814, № 5. P. 545–552.
2. Imai T., Karita S., Shiratori G., Hattori M., Nunome T., Oba K., Hirai M. L-galactono-gamma-lactone dehydrogenase from sweet potato: purification and cDNA sequence analysis // *Plant Cell Physiol*. 1998 Vol. 39, № 12. P. 1350-1358.
3. Arrigoni O., De Gara L., Paciolla C., Evidente A., De Pinto M., Liso R. Lycorine: a powerful inhibitor of l-galactono-γ-lactone dehydrogenase activity // *Plant Physiol*. 1997. Vol. 150 P. 362–364.

ТЕХНОЛОГИЯ И ХИМИЯ ПЕРСПЕКТИВНОЙ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ АНТИГИСТАМИННОГО ДЕЙСТВИЯ

В.И. Шляпкина, В.П. Агеев, Д.Э. Якобсон

ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева»

Введение. Одной из серьезных проблем медицинского сообщества является рост заболеваемости аллергией среди населения. Эта патология варьируется различными клиническими проявлениями и симптоматикой. По прогнозам ВОЗ, к 2050 году аллергическими заболеваниями будет поражена большая часть населения мира.

Задача исследования. Разработка технологии и анализ трансдермальной терапевтической системы (ТТС, пластырь) на основе антигистаминного препарата 3-го поколения дезлоратадина, предназначенной для профилактики аллергических заболеваний на протяжении не менее 7-ми дней.

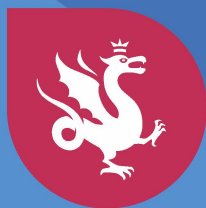
Материалы и методы. В качестве экспериментальной модели пластыря была выбрана матричная система. В роли действующего вещества выступал дезлоратадин – антигистаминное средство 3-го поколения, обладающее высоким сродством к H₁-гистаминовым рецепторам. Таблетки дезлоратадина в количестве 5 штук, что эквивалентно среднему курсу приема препарата (25 мг), измельчали до состояния мелкого порошка, который подвергался экстрагированию при помощи 50 мл метанола. Полученный раствор фильтровали через обеззоленную фильтровальную бумагу и подвергали анализу на подлинность при помощи УФ-спектрофотометрии.

К метанольному раствору дезлоратадина при постоянном перемешивании прибавляли высокомолекулярный поливинилпирролидон в количестве 2,5 грамма. Данный полимер выступал в качестве высвобождающего матрикса. Полученная сиропообразная жидкость перемешивалась в течение часа при температуре 50°C для испарения метанола и загустения. Затем, заливалась в форму, содержащую в качестве подложки адгезивный материал в виде гипоаллергенного перфорированного пластыря для чувствительной кожи, и высушивалась в течение 2-х суток при комнатной температуре. С целью изучения высвобождения дезлоратадина из матрикса был произведен тест растворения в соответствии с положениями общей фармакопейной статьи «Растворение для трансдермальных пластырей».

Результаты. Максимум поглощения для метанольного раствора дезлоратадина оставляет 242 нм, что соответствует максимуму поглощения дезлоратадина по литературным данным. Полностью готовая ТТС имела прямоугольную форму. Матрикс, содержащий дезлоратадин, имел размер 3 × 5 см, а также дополнительно обладал самостоятельной клейкостью, которая была обусловлена наличием поливинилпирролидона.

В ходе теста растворения было установлено, что максимальная концентрация дезлоратадина в среде растворителя была достигнута через 24 ч и оставалась неизменной на протяжении последующих двух суток.

Заключение. Анализ полученной трансдермальной терапевтической системы свидетельствует о перспективах применения с целью предупреждения развития острых аллергических реакций. Необходимы доклинические исследования безопасности и специфической активности данной ТТС на лабораторных животных в условиях моделирования аллергических заболеваний.



AMTEC • KAZAN

Образовательный центр
высоких медицинских
технологий

Казань, Оренбургский тракт, 138, блок 9

8 843 237-84-69

info@amtec-kazan.com

amtec-kazan.com



@amteckazan



AMTEC FOUNDATION

Благотворительный фонд
поддержки молодых ученых в медицине

8 843 245-34-44

info@amtec-fund.ru

amtec-fund.ru



amtec_fund