

Г. А. Посыпанова, Л. Б. Горшкова, А. В. Родина, Ю. П. Семочкина,
В. Г. Перевозчикова, Е. Ю. Москалева, М. Г. Ратушняк, Е. А. Воронцов,
С. Л. Кузнецов, И. А. Тубашева, А. И. Муравьева, С. Е. Северин

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИМЕРНОЙ ФОРМЫ ЭТОПОЗИДА В СОСТАВЕ БИОДЕГРАДИРУЕМОГО СОПОЛИМЕРА МОЛОЧНОЙ И ГЛИКОЛЕВОЙ КИСЛОТ

Национальный исследовательский центр Курчатовский институт, Россия, 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1; e-mail: nrcki@nrcki.ru; moskalevaey@mail.ru

Описан способ получения противоопухолевого препарата этопозид (ПФЭ) в виде частиц субмикронного размера на основе сополимера молочной и гликолевой кислот — полилактидгликолида — с молярным соотношением мономерных звеньев 50:50 (PLGA 50/50). Показано, что ПФЭ обладает высокой цитотоксической активностью в отношении опухолевых клеток человека разных типов. Активность ПФЭ в отношении клеток линии K562^{ADR}, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью, выше, чем активность свободного этопозид. При использовании модели солидной формы перевиваемого лимфолейкоза мышей линии P388 показано, что *in vivo* ПФЭ обладает высокой противоопухолевой активностью и пролонгированным, по сравнению со свободным этопозидом, противоопухолевым действием.

Ключевые слова: этопозид; полилактидгликолид; противоопухолевое действие.

Этопозид — противоопухолевый препарат, относящийся к полусинтетическим эпиподофиллотоксинам, производным 4'-диметилэпиподофиллотоксина, который содержится в экстракте мандрагоры [1]. Фармакологически активным является его *транс*-изомер. Механизм действия этопозид связан со способностью ингибировать активность ДНК-топоизомеразы II — фермента, участвующего в формировании репликативной вилки для обеспечения репликации ДНК. Роль топоизомеразы II заключается в создании и воссоединении разрывов в обеих цепочках молекулы ДНК для ослабления ее суперспирализации [2]. Этопозид стабилизирует комплекс ДНК с топоизомеразой II и препятствует воссоединению разрывов, что приводит к накоплению двунитевых разрывов в ДНК и, вследствие этого, к ингибированию биосинтеза ДНК и пролиферации опухолевых клеток и к их гибели. Цитотоксическое действие в отношении нормальных клеток наблюдается только при использовании этопозид в высоких дозах.

Этопозид рекомендован для лечения герминогенных опухолей яичка, яичников, рака легкого, рака коры надпочечников, рака мочевого пузыря, острого монобластного и миелобластного лейкоза, неходжкинской лимфомы, лимфогранулематоза, саркомы Капоши, саркомы Юинга, рака желудка, хорионэпителиомы, нейробластомы [3].

В настоящее время высокие дозы этопозид (от 2 до 4 г/м²) используются также при трансплантации костного мозга у пациентов с рефрактерными и рецидивирующими лейкозами, а также с солидными опухолями [4, 5].

При увеличении дозы биодоступность этопозид снижается [6]. Одним из способов повышения биодоступности и специфичности действия этопозид может быть его использование в полимерной форме [7–9]. При включении этопозид в состав различных поли-

мерных носителей субмикронного размера обнаружено повышение активности [9, 10] и снижение неспецифической токсичности этопозид [11]. Перспективными полимерами для получения лекарственных веществ в полимерной форме, в том числе этопозид, являются биосовместимые биodeградируемые сополимеры молочной и гликолевой кислот (полилактидгликолиды, PLGA), разрешенные в клинической практике [11].

В связи с этим целью работы явилось получение и исследование противоопухолевой активности полимерной формы этопозид (ПФЭ), полученной на основе полилактидгликолида с молярным соотношением мономерных звеньев 50:50 (PLGA 50/50) в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

Экспериментальная часть

Получение ПФЭ на основе биосовместимого биodeградируемого сополимера PLGA

В работе использовали следующие материалы: субстанция этопозид (Santa Cruz Biotechnology, Inc., США); сополимер молочной и гликолевой кислот 50/50 (PURAC biochemicals, Нидерланды); поливиниловый спирт (ПВС), молекулярная масса 30000–70000, D-Маннит, метилен хлористый — все Sigma-Aldrich (США); диметилсульфоксид (ДМСО, Riedel-de Haën (Германия)).

Получение ПФЭ осуществляли методом одинарных эмульсий в системе «масло/вода» [12]. Раствор субстанции этопозид и сополимера PLGA 50/50 в хлористом метиле при перемешивании на магнитной мешалке RST Basic (КА, Германия) при комнатной температуре постепенно добавляли к 0,5 % водному раствору ПВС, который использовали для стабилизации эмульсии. Смесь компонентов эмульгировали погружным гомогенизатором Ultra Turrax[®] T-25 basic (КА, Германия). Из эмульсии с помощью роторного

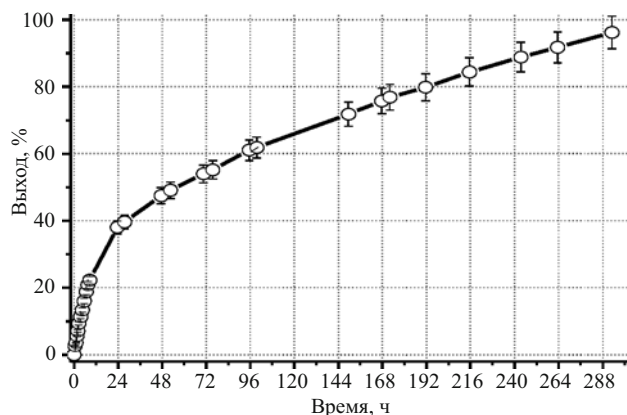


Рис. 1. Кинетика высвобождения этопозиды из препарата ПФЭ в условиях равновесного диализа в растворе PBS при pH 7,5 и температуре 37 °С.

испарителя LABOROTA 4000 efficient (Германия) упаривали в вакууме хлористый метилен. Полученную суспензию пропускали через стеклянный пористый фильтр, фильтрат в приёмной колбе смешивали с водным раствором D-маннита. Смесь замораживали при перемешивании с помощью жидкого азота и высушивали в течение 20 ч на аппарате для лиофильной сушки (Christ Alpha I-6, Германия). Лиофилизированный продукт измельчали шпателем, помещали в пластиковый контейнер с герметичной крышкой и хранили при температуре 2 – 8 °С.

Определение содержания этопозиды в ПФЭ. Содержание этопозиды в лиофилизированном препарате ПФЭ определяли методом ВЭЖХ с использованием системы Agilent 1100 с диодноматричным УФ-детектором. Исследуемый образец ПФЭ в количестве 15 мг помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в 1 мл ДМСО при перемешивании и доводили до 10 мл водой. Для хроматографии использовали свежеприготовленный раствор. Условия хроматографии стандартного и исследуемого растворов этопозиды: колонка Luna C18 (2), Phenomenex, 250 × 4,6 мм, с размером частиц сорбента 5 мкм; температура колонки 25 °С; подвижная фаза А — 5 % раствор ацетонитрила в воде, подвижная фаза В — ацетонитрил, подвижная фаза D — 0,678 % раствор фосфорной кислоты, 5 % раствор ацетонитрила в воде; детекция при 290 нм; градиентная программа: 10 % D, 25 % В от 0 до 17 мин, 10 % D, 25 % В — 10 % D, 90 % В за 18 мин, 10 % D, 90 % В от 35 до 40 мин; скорость потока — 1 мл/мин; объём вводимой пробы 20 мкл. Время удерживания основного

пика при хроматографии образцов этопозиды составило около 13,5 мин.

Определение размера частиц. Размер полученных частиц изучали методом динамического светорассеяния с использованием анализатора частиц Zetasizer Nano ZS ZEN 3600 (Malvern Instruments, Великобритания). Навеску препарата 1 мг смешивали с 5 мл воды, встряхивали в течение 1 мин и анализировали. Распределение размеров (диаметров) частиц по интенсивности светорассеяния и другие параметры определяли с помощью программы Zetasizer Software 6.32 (Malvern Instruments Ltd, Великобритания).

Кинетика высвобождения этопозиды из полимерной композиции. Исследование кинетики выхода этопозиды из ПФЭ в модельном эксперименте осуществляли в условиях равновесного диализа при температуре 37 °С в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS; 0,15 М NaCl, 10 мМ фосфат натрия, pH 7,5). Диализ проводили в склянке тёмного стекла с пластиковой крышкой в 120 мл раствора PBS. Для перемешивания диализной жидкости использовали магнитный элемент в тефлоновой оболочке и магнитную мешалку. Одновременно в другой сосуд с крышкой помещали раствор PBS. Термостатирование обоих сосудов при 37 °С осуществляли в термостате Shellab Model 1519E-2 (Sheldon Manufacturing, Inc., США). В качестве диализных мешков использовали ленту с пределом исключения 12 кДа “Dialysis tubing, high retention”, размер 23 мм × 15 мм (Sigma-Aldrich, США). Содержание этопозиды в диализате определяли спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность при длине волны 283 нм. В стеклянном флаконе на 10 мл с крышкой взвешивали 300,1 мг препарата ПФЭ (содержание этопозиды — 19,9 мг). Из сосуда для диализа отбирали 4 мл раствора PBS, прибавляли к навеске и перемешивали на магнитной мешалке в течение 7 мин. Полученную суспензию тщательно переносили в подготовленный диализный мешок, его герметизировали, опускали в сосуд для диализа, склянку плотно закрывали и помещали в термостат на магнитную мешалку. Одновременно в термостат помещали закрытый сосуд с раствором PBS. Через определённые промежутки времени проводили отбор проб по 3 мл из сосудов с диализатом и чистым PBS. Оптическую плотность диализата измеряли относительно раствора PBS. Затем пробы возвращали в соответствующие сосуды. Продолжительность эксперимента составила 12 сут. Опыты по изучению высвобождения этопозиды из ПФЭ повторяли трижды. За 100 % принимали общее количество этопозиды во взятой навеске образца ПФЭ.

Цитотоксическая и противоопухолевая активность ПФЭ

Культивирование и оценка выживаемости клеток. Клетки аденокарциномы молочной железы линии MCF-7, аденокарциномы прямой кишки линии SW837, аденокарциномы ободочной кишки линии Ca-co-2, карциномы сигмовидной кишки линии Colo 320HSR и легочные эмбриональные фибробласты линии LECN-4 культивировали в среде DMEM, содержа-

Таблица 1

Характеристика препарата ПФЭ

| Состав препарата ПФЭ | | Размер частиц, нм |
|----------------------|---------------|-------------------|
| Компонент | Содержание, % | |
| Этопозид | 8 | 440,7 ± 4,2 |
| PLGA 50/50 | 60 | |
| ПВС | 15 | |
| D-маннит | 17 | |

щей 10 % фетальной бычьей сыворотки и 50 мкг/мл гентамицина (Life Technologies, США). Клетки миелолейкоза линии K562 и резистентной к адриамицину сублинии K562^{ADR} культивировали в тех же условиях, но в среде RPMI1640 в CO₂-инкубаторе при 37 °С в увлажненной атмосфере, содержащей 5 % CO₂. За 24 ч до эксперимента клетки снимали с подложки и суспензию клеток переносили в культуральные 96-луночные планшеты. Исследуемый препарат — полимерный и свободный этопозид — вносили к клеткам не менее чем в 3 повторах для каждой исследуемой концентрации в диапазоне от 1 до 200 мкМ по этопозиду. При работе с ПФЭ при приготовлении растворов концентрацию рассчитывали, исходя из процентной доли этопозиды в полимерных препаратах. Выживаемость клеток после инкубации с препаратами оценивали с помощью МТТ-теста [13]. Для этого в лунки с клетками добавляли раствор МТТ, инкубировали 2–4 ч при 37 °С, после чего удаляли среду, кристаллы формазана растворяли в ДМСО и измеряли оптическую плотность при 570 нм на планшетном спектрофотометре iMark (BioRad, США). По полученным данным строили графики зависимости выживаемости клеток от концентрации препаратов и по ним рассчитывали значения IC₅₀ для характеристики чувствительности опухолевых клеток к свободному препарату и к ПФЭ.

Противоопухолевая активность ПФЭ в сравнении с этопозидом *in vivo*. Исследование проводили с использованием модели перевиваемого лимфолейкоза мыши линии P388 (коллекция Российского онкологического научного центра им. Н. Н. Блохина) в соответствии с рекомендациями по проведению доклинических исследований [14]. После размораживания клетки P388 внутрибрюшинно вводили 2 мышам линии DBA/2 для получения асцитной опухоли. Для проведения экспериментов суспензию опухолевых клеток из асцитной жидкости разводили в стерильном физиологическом растворе до концентрации 10⁷ клеток/мл и перевивали мышам линии DBA/2. Для развития солидной опухоли клетки лимфолейкоза P388 вводили подкожно в правую подлопаточную область в дозе 10⁶ клеток на особь в 0,1 мл. Противоопухолевое действие

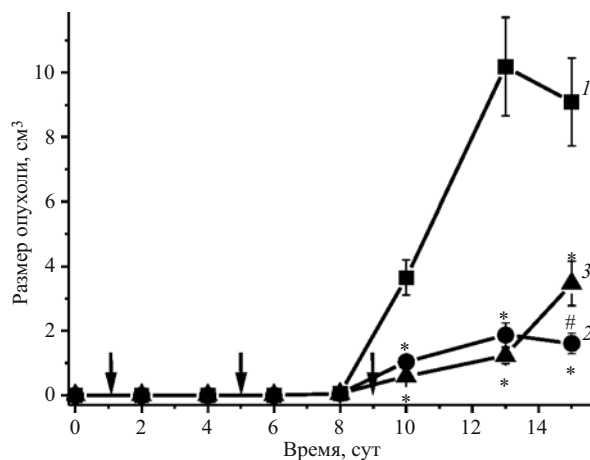


Рис. 2. Динамика роста солидной опухоли лимфолейкоза мыши линии P388 после лечения препаратами этопозиды в полимерной форме и в виде свободного препарата. Приведены средние значения размера опухоли и стандартное отклонение. Препараты вводили внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг по этопозиду на 1, 5 и 9 сут после прививки опухоли, суммарная доза 75 мг/кг: 1 — контроль — животным вводили физиологический раствор, 2 — ПФЭ, 3 — свободный этопозид. * Отличия от контроля по критерию Стьюдента достоверны ($p < 0,05$); # отличия между группами 2 и 3 по критерию Стьюдента достоверны ($p < 0,05$).

субстанции этопозиды и ПФЭ оценивали по ингибированию роста опухолей и изменению продолжительности жизни. Вес взятых в эксперименты животных линии DBA/2 составил ($23,2 \pm 2,4$) г. Для определения динамики роста опухолей измеряли размеры опухоли, начиная с момента формирования солидной опухоли ($V \geq 0,02$ см³). Объем опухоли рассчитывали по формуле: $V = a \cdot b^2/2$, где a — наибольший размер опухоли, b — наименьший размер опухоли. Степень торможения роста опухоли (ТРО) рассчитывали по формуле:

$$\text{ТРО, \%} = (V_{\text{контроль}} - V_{\text{опыт}}) / V_{\text{контроль}} \cdot 100,$$

где V — средний объем опухоли (см³) в опытной и контрольной группах соответственно на конкретное время после прививки опухоли. Увеличение продолжительности жизни животных оценивали после завер-

Таблица 2

Характеристика цитотоксической активности ПФЭ в сравнении со свободным этопозидом в отношении опухолевых и нормальных клеток человека и лимфолейкоза мыши

| Линия клеток | Значение IC ₅₀ , мкМ | |
|--|---------------------------------|--------------------------|
| | этопозид | ПФЭ |
| Аденокарцинома молочной железы, линия MCF-7 | 40,9 ± 3,2 [^] | 22,0 ± 7,8 |
| Аденокарцинома прямой кишки, линия SW837 | 78,0 ± 9,4 [^] | 39,0 ± 5,2* [^] |
| Аденокарцинома ободочной кишки, линия Caco-2 | 10,0 ± 2,5 | 9,5 ± 1,8 [^] |
| Карцинома сигмовидной кишки, линия Colo 320HSR | 20,0 ± 1,9 | 6,5 ± 1,8* [^] |
| Миелолейкоз, линия K562 | 22,0 ± 0,5 | 32,1 ± 5,8 |
| Миелолейкоз, резистентная к адриамицину сублиния K562 ^{ADR} | 74,3 ± 8,7 [^] | 32,2 ± 5,4* |
| Лимфолейкоз мыши линии P388 | 0,3 ± 0,1 | 0,3 ± 0,1 |
| Легочные эмбриональные фибробласты, линия LECN-4 | 20,7 ± 6,4 | 18,0 ± 2,8 |

* Отличия между субстанцией этопозиды и ПФЭ достоверны, $p < 0,05$;
[^] отличия от неопухолевых клеток человека достоверны, $p < 0,05$.

шения опыта и гибели всех животных, рассчитывая среднюю продолжительность жизни (СПЖ) в группе и вычисляя показатели увеличения продолжительности жизни (УПЖ %) по формуле:

$$\text{УПЖ (\%)} = (\text{СПЖ}_{\text{опыт}} - \text{СПЖ}_{\text{контроль}}) / \text{СПЖ}_{\text{контроль}} \cdot 100.$$

Статистическую обработку результатов проводили по методу Стьюдента с использованием компьютерной программы Origin. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Получение и характеристика препарата

Для получения ПФЭ смесь 50,2 мг субстанции этопозида и 350,6 мг сополимера PLGA 50/50 растворяли в 5 мл хлористого метилена при перемешивании на магнитной мешалке и нагревании до 40 °С в стеклянном флаконе с крышкой. Полученный раствор по каплям прибавляли к 18 г 0,5 % раствора ПВС в деионизованной воде в цилиндрическом сосуде на 100 мл при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке (700 об/мин) при комнатной температуре. Смесь продолжали перемешивать ещё 10 мин. Затем проводили эмульгирование погружным гомогенизатором при 24 тыс. об/мин с помощью диспергирующего элемента S25N-25F (3 раза по 30 с и двумя перерывами по 30 с). Из эмульсии упаривали в вакууме хлористый метилен с помощью роторного испарителя при температуре в бане не выше 25 °С. Полученную суспензию пропускали через стеклянный фильтр (пористость 40 – 100 мкм). Фильтрат собирали в приёмную грушевидную колбу на 250 мл с раствором 100 мг D-маннита в 1 мл воды. Смесь при перемешивании в колбе замораживали с помощью жидкого азота и лиофилизировали в течение 20 ч. Полученный лиофилизат измельчали, перегружали в герметичный пластиковый контейнер с навинчивающейся крышкой и помещали на хранение при температуре 2 – 8 °С. Выход продукта составил 557,3 мг (94 % от общей массы взятых ингредиентов — этопозида, сополимера PLGA 50/50, ПВС и D-маннита). Содержание этопозида в ПФЭ определяли методом ВЭЖХ как описано выше. Характеристика полученного препарата ПФЭ приведена в табл. 1.

Результаты и их обсуждение

Как следует из представленных данных, ПФЭ, помимо этопозида и биосовместимого биodeградируемого полимера PLGA, содержит криопротектор D-маннит и поверхностно активное вещество ПВС. Содерж-

жание этопозида в ПФЭ равно 8 %. Размер частиц составлял около 440 нм.

Данные, полученные при исследовании кинетики выхода этопозида из препаратов ПФЭ, представленные на рис. 1, свидетельствуют о том, что быстрая фаза высвобождения происходит в первые 12 ч, когда высвобождается около 20 % этопозида. Затем скорость его выхода замедляется, и полный переход препарата в раствор завершается только через 12 сут.

Для исследования стабильности ПФЭ заложены на хранение 2 образца партии № 04-03. Образцы помещены в холодильник в пластиковых контейнерах на 6 и 12 мес. Результаты анализа образца 04-03-01 через 6 мес хранения, осуществленные по утвержденным нормам определения качества экспериментальных образцов: описание; растворимость; подлинность; количественное определение; размер частиц; содержание примесей; остаточные органические растворители; показатель pH; содержание воды и суспендируемость, а также определение цитотоксической активности в отношении клеток линии MCF-7; показали, что образец ПФЭ в условиях долгосрочного хранения при температуре (5 ± 3) °С выдержал испытание в течение 6 мес и сохранил все исходные свойства.

Препарат ПФЭ с указанными в табл. 1 свойствами использован для исследования цитотоксической активности в отношении опухолевых и нормальных клеток в экспериментах *in vitro* и его противоопухолевой активности *in vivo*.

Цитотоксическая активность ПФЭ в сравнении со свободным этопозидом. Для исследования цитотоксической активности ПФЭ в отношении различных клеток *in vitro* в сравнении со свободным этопозидом (субстанция этопозид) использовали 5 линий опухолевых клеток и линию нормальных клеток человека. Кроме того, поставлены эксперименты на клетках лимфолейкоза мыши линии P388 в связи с тем, что далее планировалось проведение экспериментов *in vivo* с использованием этих клеток. Эффективность ПФЭ исследовали как в отношении исходной чувствительной линии клеток миелолейкоза человека K562, так и ее сублинии K562^{ADR}, характеризующейся резистентностью к адриамицину благодаря высокому уровню белка MDR1 — одного из белков, определяющих множественную лекарственную устойчивость клеток. По кривым выживаемости опухолевых клеток в зависимости от концентрации препаратов рассчитывали значение IC₅₀ — концентрацию препаратов, при которой выживаемость клеток составляет 50 % от контроля. Полученные значения IC₅₀ для ПФЭ и субстанции этопозида приведены в табл. 2. Приведены средние значения IC₅₀ и стандартная ошибка среднего.

Как следует из представленных данных, ПФЭ обладает высокой цитотоксической активностью в отношении широкого спектра опухолевых клеток разных типов, включая клетки линии K562^{ADR}, характеризующиеся множественной лекарственной устойчивостью. Так, значения IC₅₀ свободного этопозида для линий K562 и K562^{ADR} составили (22,0 ± 0,5) и (74,3 ± 8,7) мкМ, в то время как ПФЭ (32,1 ± 5,8) и

Таблица 3
Показатели противоопухолевой активности ПФЭ в сравнении со свободным этопозидом в модели перевиваемого лимфолейкоза мышей линии P388

| Группа животных | ТРО, % | СПЖ, сутки | УПЖ, % |
|--------------------|--------|------------|--------|
| Контроль | - | 19,5 ± 2,8 | - |
| ПФЭ | 88,2 | 25,7 ± 5,0 | 31,8 |
| Свободный этопозид | 75,0 | 24,0 ± 3,8 | 23,1 |

(32,2 ± 5,4) мкМ соответственно. Цитотоксическая активность (ЦТА) ПФЭ, оцениваемая по показателю IC₅₀, была, в зависимости от типа клеток, либо близка к ЦТА свободного этопозиды, либо превышала ЦТА субстанции этопозиды, о чем свидетельствуют более низкие значения IC₅₀. ЦТА ПФЭ в отношении нормальных клеток человека линии LECN-4 — легочных эмбриональных фибробластов — не отличалась от ЦТА свободного этопозиды. Важно отметить, что ЦТА свободной формы этопозиды в отношении нормальных клеток была либо более высокой, чем в отношении опухолевых клеток (линии MCF-7, SW837, K562^{ADR}), либо такой же, как в отношении опухолевых клеток (линии Saso-2, Colo 320HSR, K562). Несмотря на то, что ЦТА ПФЭ в отношении опухолевых клеток линии SW837 была достоверно выше, чем ЦТА свободного этопозиды, эти клетки оставались более устойчивыми к ПФЭ, чем нормальные. В отличие от свободного этопозиды клетки линий Saso-2 и Colo 320HSR были достоверно более чувствительны к ПФЭ, чем нормальные.

Для исследования противоопухолевой активности ПФЭ в сравнении со свободным этопозидом *in vivo* препараты вводили мышам внутрибрюшинно в суммарной дозе 75 мг/кг при трехкратном введении на 1, 5 и 9 сут после прививки опухолевых клеток в разовой дозе 25 мг/кг по этопозиду. Полученные результаты представлены на рис. 2 и в табл. 3.

Препараты вводили в дозе 25 мг/кг по этопозиду на 1, 5 и 9 сут после прививки опухоли, суммарная доза 75 мг/кг. Данные по ТРО приведены на 7 сут после отмены препаратов.

Представленные данные позволяют заключить, что при внутрибрюшинном введении мышам как ПФЭ, так и свободного этопозиды в указанных дозах достигается существенное ингибирование роста опухолей. При использовании ПФЭ эффект ингибирования был более длительным. Так через неделю после окончания введения препаратов средний размер опухоли в группе животных, получавших ПФЭ, был достоверно ниже, чем в группе животных, получавших свободный этопозид (рис. 2, кривые 2 и 3 соответственно). ТРО в этот период составляло 88,2 % для ПФЭ и 75,0 % для свободного этопозиды. Полученные данные свидетельствуют о пролонгировании противоопухолевого действия при использовании ПФЭ, что в свою очередь обеспечило и увеличение СПЖ ($p > 0,05$), по сравне-

нию с контрольной группой УПЖ животных, получавших ПФЭ и свободный этопозид, составило 31,8 и 23,1 % соответственно.

Таким образом, ПФЭ обладает высокой противоопухолевой активностью и после проведения более широких доклинических исследований препарата ПФЭ может быть рассмотрен вопрос о целесообразности его рекомендации для проведения клинических испытаний.

Работа выполнена при финансовой поддержке субсидии № 14.604.21.0072 по проекту: “Разработка технологии получения полимерных форм препаратов для лечения онкологических заболеваний” в рамках реализации ФЦП “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы”. Уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проекта) RFMEFI60414X0072.

ЛИТЕРАТУРА

1. J. A. Sinkule, *Pharmacotherapy*, 4(2), 61 – 73 (1984).
2. T. G. Gantchev and D. J. Hunting, *Anticancer Drugs*, 8(2), 164 – 173 (1997).
3. http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_277.htm#primeneniye-veshhestva-ehetopozid.
4. O. Bruserud, H. Reikvam, A. O. Kittang, et al., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 70(6), 765 – 782 (2012).
5. S. N. Wolff, M. F. Fer, C. M. McKay, et al., *J. Clin. Oncol.*, 1(11), 701 – 705 (1983).
6. J. Ciccolini, S. Monjanel-Mouterde, S. S. Bun, et al., *Ther. Drug Monit.*, 24(6), 709 – 714 (2002).
7. W. Y. Qian, D. M. Sun, R. R. Zhu, et al., *Int. J. Nanomedicine.*, 7, 5781 – 5792 (2012).
8. R. Saadati, S. Dadashzadeh, Z. Abbasian and H. Soleimanjahi, *Pharm. Res.*, 30(4), 985 – 995 (2013).
9. G. Yordanov, R. Skrobanska, A. Evangelatov, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 101, 215 – 222 (2013).
10. K. S. Yadav, S. Jacob, G. Sachdeva, K. K. Sawant, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 11(8), 6657 – 6667 (2011).
11. M. Snehalatha, K. Venugopal, R. N. Saha, et al., *Drug Deliv.*, 15(5), 277 – 287 (2008).
12. J.-M. Lu, X. Wang, C. Marin-Muller, et al., *Expert. Rev. Mol. Diagn.*, 9(4), 325 – 341 (2009).
13. T. J. Mossman, *Immunol. Meth.*, 65, 55 – 63 (1983).
14. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, Гриф и К, Москва (2012), сс. 640 – 654.

Поступила 25.11.15

CHARACTERIZATION OF THE ANTITUMOR ACTIVITY OF A POLYMERIC COMPOSITION OF ETOPOSIDE AND BIODEGRADABLE COPOLYMER OF LACTIC AND GLYCOLIC ACIDS

G. A. Posypanova, L. B. Gorshkova, A. V. Rodina, Yu. P. Semochkina, V. G. Perevozchikova, E. Yu. Moskaleva*, M. G. Ratushnyak, E. A. Vorontsov, S. L. Kuznetsov, I. A. Tubasheva, A. I. Murav'eva, and S. E. Severin

National Research Centre “Kurchatov Institute”, Moscow, 123182 Russia; * e-mail: moskalevaey@mail.ru

We describe a method of preparing a polymeric composite of anticancer drug etoposide (PFE) in the form of submicron particles based on a copolymer of lactic and glycolic acids (polylaktide glycolide) with a 50 : 50 molar ratio of monomer units (50/50 PLGA). It is shown that the PFE possesses high cytotoxic activity against human tumor cells of various types. Cytotoxic activity of PFE against K562ADR cell line characterized by multidrug resistance was higher than that of the free etoposide. Using the model of transplanted murine solid tumor P388, it was found that PFE exhibited higher and longer antitumor activity in vivo as compared to the free etoposide.

Keywords: etoposide; poly(lactide glycolide); antitumor activity.