

К. С. Гилевская¹, Ж. В. Игнатович¹, М. Б. Голубева², Е. В. Королёва¹,
В. Е. Агабеков¹

МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЕ МЕТАНСУЛЬФОНАТА ИМАТИНИБА

¹ Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Республика Беларусь, Минск.

² Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Республика Беларусь, Минск; k_hilevskay@mail.ru

Методом послойного осаждения полиэлектролитов сформированы микрокапсулы (протамин-пектин)₄ и (протамин-пектин)₈, содержащие, в том числе, наночастицы серебра. Показано, что эффективность включения иматиниба метансульфоната в микрокапсулы составляет $(85,0 \pm 6,0)$ %. Получены микрокапсулы, содержащие до 50 масс. % метансульфоната иматиниба и обеспечивающие пролонгированное высвобождение включенного вещества. Установлено, что на модели клеток Molt-4, K-562 и KG-1 иматиниб, включенный в микрокапсулы, обеспечивает повышение цитостатической активности (снижение величины IC_{50} в 1,2 – 3,5 раза) по сравнению со свободным препаратом.

Ключевые слова: иматиниба метансульфонат; микрокапсулы; пектин; наночастицы серебра; послойное осаждение полиэлектролитов.

В настоящее время достижения фармакологии в создании новых лекарственных средств, обладающих высоким уровнем активности при минимальных побочных эффектах, во многом определяются как получением биологически активных соединений более селективного действия, так и разработкой новых лекарственных форм, в том числе пролонгирующих действие препарата [1 – 4]. Включение лекарственных веществ (ЛВ) в нано- и микроконтейнеры позволяет качественно менять их фармакокинетику и механизм доставки к опухолевым клеткам. Наиболее успешным примером таких систем являются препараты на основе липосом, содержащих противоопухолевые ЛВ: доксорубин — Doxil, Caelyx, Myocet, даунорубин — DaunoXome [1]. Для них доказано существенное увеличение времени циркуляции ЛВ в крови и его целевая доставка к опухолевым клеткам [3]. В связи с успешным созданием и применением липосомальных систем транспорта ЛВ возникает интерес также и к разработке биосовместимых частиц на основе природных и синтетических полимеров в качестве носителей лекарств [1, 4]. В 2005 г. начат выпуск Абраксана — новой лекарственной формы химиотерапевтического препарата паклитаксел, токсичность которого значительно снижена за счет включения ЛВ в альбуминовые наночастицы [3].

В качестве альтернативного материала для создания контейнеров ЛВ, кроме липосом, белков и синтетических полимеров, перспективным представляется использование природных полисахаридов, например пектина. Этот полимер обладает мукоадгезивными свойствами, биосовместим и полностью разлагается в организме.

Среди противолейкозных препаратов нового поколения широко известен гливек или иматиниба метансульфонат [5, 6]. В настоящее время существует лекарственная форма иматиниба для перорального введения — таблетки. Как и большинство противоопухолевых ЛВ, иматиниб из-за высокой токсичности имеет ряд

побочных эффектов: нейтропения, анорексия, миалгия, отеки, сердечная недостаточность и др. Поэтому разработка новой лекарственной формы иматиниба, например, для парентерального введения и/или обеспечения пролонгированного высвобождения, представляется весьма актуальной. Одним из способов уменьшения токсичности препаратов, изменения их фармакокинетики или обеспечения адресной доставки является включение действующего вещества в полимерные микрокапсулы или липосомы [1 – 3]. Так, включение иматиниба в липосомы позволяет пролонгировать время его высвобождения по сравнению с нативным иматинибом до 72 ч [5]. Использование в качестве носителей биологически активных соединений полиэлектролитных микрокапсул позволяет защитить действующее вещество от окисления, увеличить его биодоступность и также пролонгировать высвобождение [7 – 9].

Введение неорганической составляющей (наночастиц серебра или золота) в полимерную матрицу-носитель позволяет также изменять фармакокинетику действующего вещества и, кроме того, придавать лекарственному средству антибактериальное действие [10, 11].

Цель данной работы — включение метансульфоната иматиниба в биополимерные микрокапсулы на основе пектина и сульфата протамина и изучение их противоопухолевой активности.

Экспериментальная химическая часть

В работе использовали протамин сульфат (ПтС, $M_w \sim 5000$) “Sigma-Aldrich” (США), пектин низкометоксилированный Classic AB 901 (Пект-НМ, степень этерификации $\sim 35 - 42$ %, $M_v \sim 89000$) “Herbstreit&Fох” (Германия), нитрат серебра “Carl Roth” (Германия), метансульфонат иматиниба, синтезированный по разработанной нами ранее 7-стадийной схеме синтеза [12].

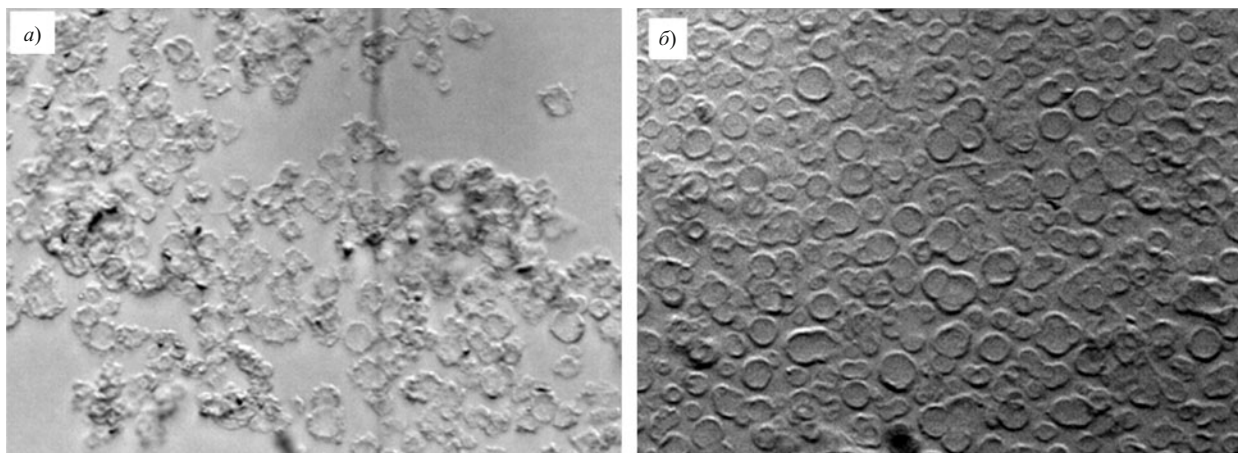


Рис. 1. Изображение микрокапсул, полученное с помощью оптического микроскопа с объективом $\times 40$: а) (протамин/пектин)₄, б) (протамин/пектин-Ag)₄. Увеличение в 400 раз, размер окна 38×50 мкм.

Получение микрокапсул протамин/полисахарид.

Мультислойные микрокапсулы получали методом послойного осаждения полиэлектролитов [13]. В качестве матриц для получения мультислойных микрокапсул использовали микрочастицы карбоната кальция, содержащие 2 масс. % пектина, синтезированные по методике [14]. Навеску CaCO_3 (0,5 г) редиспергировали в дистиллированной воде (20 мл), затем приливали 10 – 20 мл раствора протамин или пектина с концентрацией 3 – 5 мг/мл и выдерживали при перемешивании 10 мин на магнитной мешалке (ИКА Topolino, Германия, 800 – 1000 об/мин). Неадсорбированный полиэлектролит отделяли центрифугированием (центрифуга ОС-6М УХЛ 4.2, Россия) при 4000 об/мин 10 мин, осадок редиспергировали в 40 мл дистиллированной воды и снова центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин, промывку осадка водой повторяли дважды. Так как синтезированные карбонатные частицы имеют отрицательную величину ζ -потенциала поверхности ($\sim 12 - 16$ мВ), то поликатион протамин всегда адсорбировали первым. В качестве полианиона использовали пектин. После формирования мультислойной оболочки, содержащей 4 или 8 бислоев протамин — пектин, неорганическую матрицу удаляли, используя 0,1 н. раствор HCl . Полученные микрокапсулы (протамин/пектин)_n, где n — число бислоев протамин — пектин, равное 4 или 8, хранили в дистиллированной воде при температуре $4,0$ °С.

Для создания микрокапсульных оболочек в качестве полианионной компоненты также использовали композит пектин-Ag, полученный методом химического восстановления нитрата серебра [15]. К раствору низкометоксилированного пектина Classic AB 901 (3,4 мг/мл) при перемешивании на магнитной мешалке (ИКА Topolina, Германия, 1200 об/мин) приливали раствор AgNO_3 (массовое соотношение пектин: AgNO_3 составляло 100:1), выдерживали 10 мин и прибавляли 3 % раствор NaOH . Полученный гидрозоль серебра хранили в темном месте при температуре $(20,0 \pm 2,0)$ °С.

Величину ζ -потенциала поверхности полученных микрокапсул измеряли методом электрофоретического светорассеяния (Zetasizer Nano-ZS, Malvern) с использованием уравнения Смолуховского (растворитель — вода, температура — $25,0$ °С, индекс рефракции — 1,5). Особенности морфологии сформированных микрокапсул изучали просвечивающей электронной (ПЭМ, JEM-100 CX, Япония, ускоряющее напряжение 80 кВ, разрешающая способность по точкам 0,3 нм) и оптической микроскопией (Планар Микро-МБ, Беларусь). Для получения ПЭМ-микрофотографий микрокапсулы адсорбировали на коллодиевую пленку, нанесенную на опорную медную сетку, и сушили при комнатной температуре. Для получения оптических изображений суспензию микрокапсул наносили в камеру Горяева и исследовали в проходящем свете с помощью объективов $\times 20$ и $\times 40$ (увеличение 200 и 400 раз соответственно).

Для стерилизации образцов использовали раствор 70 % этилового спирта. Суспензию микрокапсул центрифугировали (4000 об/мин, 10 мин), к осадку (~ 10 г) приливали 40 мл этилового спирта и выдерживали в дезинфицирующем растворе в течение 24 ч, затем центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин, осадок редиспергировали в 40 мл стерильной воды, полученной с помощью шприцевого фильтра FilterBio из ацетата целлюлозы (размер пор 0,22 мкм), затем снова центрифугировали (4000 об/мин, 10 мин). Промывку стерильной водой повторяли дважды. Полученную суспензию микрокапсул хранили при $(4,0 \pm 2,0)$ °С.

Включение иматиниба в микрокапсулы протамин/пектин. К суспензии микрокапсул (2 мл) приливали 1 мл раствора иматиниба (10 мг/мл), выдерживали в течение 1 ч, центрифугировали (4000 об/мин, 15 мин) и определяли количество неадсорбированного иматиниба, анализируя супернатанты до и после сорбции. Для этого записывали спектр поглощения супернатанта на спектрофлуориметре CM 2203 (Solar, Беларусь) в 1 см кварцевой кювете (в диапазоне 200 – 400 нм) и рассчитывали концентрацию иматини-

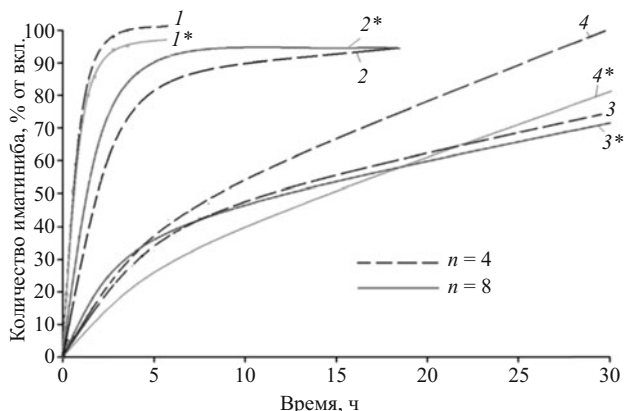


Рис. 2. Кинетические кривые высвобождения иматиниба из микрокапсул (протамин/пектин-Ag)n в средах с ионной силой 0,13 – 0,16 моль/л и различным значением pH при 37 °С: 1) HCl, pH 2,0; 2) фосфатно-солевой буфер, pH 7,4; 3) 0,9 % NaCl, pH 5,5; 4) NaOH, pH 9,0.

ба в нем по предварительно построенному калибровочному графику. Калибровочный график строили в координатах “зависимость поглощения (при $\lambda = 260$ нм) раствора иматиниба от его концентрации”.

Эффективность включения (ЭВ, %) иматиниба в микрокапсулы рассчитывали по формуле: $ЭВ = (m_0 - m_1) \cdot 100/m_0$, где m_0 и m_1 — количество иматиниба в исходном растворе и супернатанте, соответственно (мг).

Массовую долю (ω , %) включенного в микрокапсулы иматиниба определяли по формуле: $\omega = m_b \cdot 100/(m_{ск})$, где $m_b = m_0 - m_1$ — количество (мг) включенного вещества; $m_{ск}$ — масса (мг) лиофильно высушенных микрокапсул, содержащих иматиниб. Для получения лиофилизированных порошков микрокапсул, в том числе содержащих иматиниб, использовали лиофильную сушилку Labconco FreeZone 1.0 (при $-47,0$ °С в течение 16 ч и глубине разрежения 0,04 мБара).

Для изучения кинетики высвобождения иматиниба суспензию микрокапсул (5 мл) в диализном мешке (размер пор 14 кДа, Sigma D9277 – 100FT) помещали в модельную среду (50 мл) и инкубировали при 37,0 °С (водяная баня LOIP LB-140, Россия), перемешивая среду стеклянной палочкой. В качестве сред, моделирующих различные отделы желудочно-кишечного тракта человека, использовали водные растворы

Таблица 1
Время высвобождения 50 масс. % от включенного иматиниба из микрокапсул

Среда	t, ч		
	(протамин/пектин) ₄ *	(протамин/пектин-Ag) ₄	(протамин/пектин-Ag) ₈
HCl, pH 2,0	≤ 0,15 – 0,35	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
0,9 % NaCl, pH 5,5		14,0 ± 2,0	15,0 ± 2,0
ФСБ, pH 7,4		1,6 ± 0,2	1,1 ± 0,2
NaOH, pH 9,0		7,5 ± 1,0	12,0 ± 3,3

* Данные работы [13].

с различными значениями pH и ионной силы: раствор HCl/NaCl с pH 2,0 и I = 0,16 моль/л (кислотность сока желудка), раствор NaOH с pH 9,0 и I = 0,16 моль/л (кислотность сока прямой кишки), а также 0,9 масс. % раствор хлорида натрия с pH 5,5 и фосфатный солевой буфер (ФСБ) с pH 7,4 (кислотность плазмы крови). Для спектрофотометрического определения количества высвободившегося иматиниба в течение всего процесса инкубации отбирали аликвоты (10 – 20 мл) среды и заменяли их эквивалентным объемом свежего раствора.

Экспериментальная биологическая часть

Противоопухолевую активность препаратов испытывали в серии экспериментов *in vitro* на моделях стабильных клеточных линий опухолей человека — хронической миелогенной лейкемии K-562, Т-лимфобластной лейкемии Molt-3, лейкемии промиелоцитарной HL-60, острой миелогенной лейкемии KG-1, острой моноцитарной лейкемии ТНР-1 (суспензионные культуры), карциномы легкого А549, аденокарциномы молочной железы MCF-7, карциномы шейки матки М-Nela клон 11 (монослойные культуры), полученных в Российском банке клеточных культур (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). Цитостатическое действие препаратов оценивали с помощью МТТ-теста. Иматиниб растворяли и доводили до нужной концентрации 0,9 % раствором натрия хлорида. Цитотоксическую активность препаратов изучали при концентрациях иматиниба 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100 мкМ. Время инкубирования клеток с соединениями — 72 ч. По истечении этого времени в лунки с клетками вносили раствор МТТ. После 4-часового инкубирования среду из лунок удаляли, осадок растворяли диметилсульфоксидом. Оптическую плотность растворенного формазана измеряли спектрофотометрически на ридере для многолуночных планшетов “Витязь” (РБ) при длине волны 570 нм. Степень ингибирования роста клеток злокачественной опухоли (N, %) вычисляли, исходя из прямой корреляционной зависимости жизнеспособности клеток и интенсивности окраски суспензии. Для каждой концентрации тестируемого препарата вычисляли среднее значение 3 параллельных измерений и рассчитывали степень подавления роста клеток по формуле: $N = (1 - D_0/D_k) \cdot 100$ %, где D_0 — оптическая плотность образцов с испытуемыми соединениями, D_k — оптическая плотность образцов с растворителем (0,9 % раствор натрия хлорида). Для рассчитанных значений N расхождение между параллельными опытами не превышало 7 %.

Полученные микрокапсулы, не содержащие ЛВ, также исследовали на цитотоксичность с целью включения их вклада в противоопухолевую активность микрокапсулированных форм иматиниба метансульфоната. Клетки инкубировали с микрокапсулами в течение 48 и 72 ч.

Полученные микрокапсулы имеют средний размер 3,0–5,0 мкм и отрицательный ζ -потенциал (около 20 мВ), обусловленный, вероятно, наличием ионизированных карбоксильных групп пектина на поверхности. Мультислойные микрокапсулы на основе композита пектин-Ag (протамин/пектин-Ag)₄ и (протамин/пектин-Ag)₈ имеют четко выраженную сферическую форму и являются агрегативно более устойчивыми по сравнению с микрокапсулами (протамин/пектин)₄, не содержащими наночастицы серебра (рис. 1). Для большинства биологических испытаний необходимо поддержание асептических условий во время проведения экспериментов. В связи с этим была исследована устойчивость микрокапсул при обработке дезинфицирующим раствором 70 % этилового спирта. После выдерживания в течение 1 сут в этиловом спирте существенное изменение морфологии микрокапсул не наблюдалось, они сохраняли целостность оболочек, а величина ζ -потенциала поверхности изменялась незначительно (~ 10 %).

Эффективность включения метансульфоната иматиниба в сформированные микрокапсулы составляет (85,0 ± 6,0) % и существенно не зависит от типа используемого полианиона (пектин или пектин-Ag). Массовая доля включенного в микрокапсулы иматиниба достигает (50,0 ± 5,0) масс.%. Предварительная обработка микрокапсул дезинфицирующим раствором существенно не влияет на эффективность и количество включаемого в них иматиниба. При хранении микрокапсул, содержащих иматиниб, в дистиллированной воде (рН 5,5) в течение 2 недель выход вещества составляет менее 5,0 % от включенного.

Кинетику высвобождения иматиниба из микрокапсул *in vitro* изучали при температуре 37,0 °С, используя водные растворы с различными значениями рН и ионной силы, моделирующие среду желудочно-кишечного тракта человека и/или изотоничные плазме крови. Во всех исследуемых средах вне зависимости от значения рН и ионной силы суммарный выход иматиниба составляет не менее 90 % от включенного количества (рис. 2). В щелочном (рН 9,0) и 0,9 % растворе NaCl половина включенного иматиниба (V_{50}) высвобождается в ~ 5–10 раз медленнее, чем в кислой среде или фосфатном буфере, — в течение первых 8–16 ч (табл. 1). Следует отметить, что кинетика высвобождения иматиниба из микрокапсул в щелочном растворе (рН 9,0) зависит также от числа бислоев протамин/пектин-Ag в оболочке. Значение V_{50} для микрокапсул (протамин/пектин-Ag)₄ достигается за 6–8 ч, что в ~ 1,5 раза быстрее, чем для микрокапсул (протамин/пектин-Ag)₈ (табл. 1).

Высвобождение веществ из биodeградируемых матриц в большинстве случаев обусловлено диффузией и/или эрозией и деструкцией полимерной матрицы [16]. Так как микрокапсулы (протамин-пектин)_n устойчивы в кислых средах [13], то при рН 2,0 высвобождение иматиниба из микрокапсул происходит, главным

образом, за счет диффузии. Степень ионизации карбоксильных групп пектина значительно снижается в кислых средах, что приводит к ослаблению кулоновских взаимодействий между отрицательно заряженным материалом микрокапсул и положительно заряженным иматинибом. Кроме того, экранирование зарядов ионами низкомолекулярного электролита (NaCl) также приводит к ослаблению кулоновских взаимодействий между иматинибом и микрокапсулами и способствует высвобождению.

В растворе фосфатного буфера с рН 7,4 время высвобождения иматиниба сопоставимо со временем высвобождения в кислых средах. Однако выход вещества в среде ФСБ связан с деструкцией полиэлектролитных микрокапсул в солевом растворе. Так, на микрофотографиях образцов, выдержанных 15 ч в ФСБ, микрокапсулы отсутствуют. Аналогичный эффект высвобождения ЛВ из биополимерных микросфер в результате гидролитической деградации полимерной матрицы в фосфатном буфере описан в работе [17].

В щелочном растворе наблюдается набухание полимерного материала, которое может приводить к необратимому нарушению целостности микрокапсульных оболочек [13]. В то же время при рН 9,0 полностью ионизированные карбоксигруппы пектина, вероятно, прочнее удерживают иматиниб, что обуславливает пролонгированное высвобождение этого вещества из микрокапсул. Пролонгированность высвобождения иматиниба в 0,9 % NaCl связана, вероятно, с усилением гидрофобных взаимодействий между ЛВ и пектиновыми макромолекулами, входящими в состав микрокапсул.

При инкубировании полученных микрокапсул, не содержащих иматиниб, с культурами клеток лейкемии Molt-3, К-562, карциномы А549, MCF-7 и М-Hela клон 11 наблюдается незначительное (не более 17 %) подавление роста клеток.

Таблица 2
Значение IC_{50}^* (мкМ) для микрокапсулированных форм иматиниба

Клеточные линии	Иматиниб	кап-01	кап-02	кап-03
Гемобласты				
К-562	1,0	0,9	0,8	0,75
KG-1	55	30	20	25
Molt-4	25	20	15	7,0
ТНР-1	25	35	30	20
HL-60	9,0	30	15	12
Солидные опухоли				
A549	85	60	50	> 100
ОКР-GS	15	40	20	35
MCF-7	20	20	20	15
М-Hela клон 11	15	15	12	12

Примечание: * — концентрация, вызывающая 50 % подавление роста клеток; кап-01 — иматиниб, включенный в микрокапсулы (протамин/пектин)₄; кап-02 — иматиниб, включенный в микрокапсулы (протамин/пектин-Ag)₄; кап-03 — иматиниб, включенный в микрокапсулы (протамин/пектин-Ag)₈.

Основной моделью для исследования противоопухолевой активности иматиниба являются клетки хронической миелогенной лейкемии К-562. Эта линия отличается тем, что в клеточной популяции спонтанно появляются клетки с филадельфийской хромосомой. Из всех использованных для исследования моделей линия К-562 является наиболее чувствительной к воздействию иматиниба (табл. 2).

В условиях 72-часового воздействия исследованных препаратов на клетки хронической миелогенной лейкемии К-562 доступность инкапсулированного иматиниба не уменьшилась по сравнению с его свободной формой. Это свидетельствует о том, что величины IC_{50} препаратов одного порядка и имеют тенденцию к уменьшению в ряду иматиниб (1,0 мкМ) → кап-01 (0,9 мкМ) → кап-02 (0,8 мкМ) → кап-03 (0,75 мкМ) (табл. 2). Следует отметить также расширение диапазона эффективных концентраций у инкапсулированных форм по сравнению со свободным иматинибом. В условиях эксперимента противоопухолевый эффект иматиниба достигает 50 % в концентрации 1,0 мкМ, а инкапсулированные формы подавляют рост опухолевых клеток на 50 % в концентрации 0,5 мкМ.

При концентрации 10 мкМ иматиниб подавляет рост клеток на 54 %, все 3 капсулированные формы — на 80 %. Таким образом, инкапсулирование иматиниба в протамин/пектиновые микрокапсулы повышает его цитостатическое действие на клетки хронической миелогенной лейкемии.

Клетки острой миелогенной лейкемии KG-1 в данных условиях эксперимента были малочувствительны к цитостатическому действию иматиниба. При воздействии на клетки капсулированного иматиниба наблюдалось уменьшение показателя IC_{50} в 1,8 – 2,7 раза. Несколько расширился диапазон эффективных доз — 20 % ингибирующий эффект формы кап-01 и кап-02 проявили в концентрации 5 мкМ, кап-03 – 1,0 мкМ, тогда как иматиниб даже в концентрации 10 мкМ оставался практически неактивным. Следует отметить, что для кап-02 и кап-03 максимальная степень подавления роста клеток достигла 98 %, а для иматиниба и кап-01 – 89 %.

На модели клеток Т-лимфобластной лейкемии Molt-4, как и на предыдущих моделях (К-562 и KG-1), капсульные формы иматиниба показали повышение цитостатической активности по сравнению со свободным препаратом. Наблюдалось снижение величины IC_{50} в 1,2 – 3,5 раза. В концентрации 10 мкМ степень подавления роста клеток иматинибом составляет ~ 20 %, кап-02 — ~ 30 %, кап-03 — ~ 60 %. Препарат кап-01 проявил слабую противоопухолевую активность в концентрации 1 мкМ, подавляя рост клеток на 23 % и сохраняя этот уровень активности до концентрации 10 мкМ. При этом, как и в случае хронической миелогенной лейкемии, наибольшая цитостатическая активность характерна для формы кап-03.

На клетках острой моноцитарной лейкемии THP-1 капсульные формы оказались менее эффективны, чем

свободный иматиниб, и только препарат кап-03 не уступал ему по активности.

На модели промиелоцитарной лейкемии HL-60 формы кап-01 и кап-02 менее эффективны, по сравнению с кап-03, которая показала такую же активность, как и иматиниб.

С целью проверки предположения о возможности расширения области применения препарата на других видах опухолей выполнены испытания противоопухолевой активности инкапсулированного иматиниба на солидных опухолях. На клетках карциномы почки капсульные формы по величине IC_{50} были менее активны, чем иматиниб (табл. 2). На модели клеток карциномы легкого A549 показано, что формы кап-01 и кап-02 обладают более низкими значениями показателя IC_{50} (60 и 50 мкМ соответственно) по сравнению с иматинибом (85 мкМ). В случае использования микрокапсулированных форм в максимальной исследованной концентрации 100 мкМ степень подавления роста клеток увеличивается до 73 % (кап-01) и 91 % (кап-02), а для иматиниба не превышает 60 %. Препарат кап-03, показавший наибольшую эффективность на клетках гемобластозов, на данной модели не достиг даже 50 % эффекта. На моделях клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7 и карциномы шейки матки M-Hela клон 11 инкапсулированный иматиниб во всех 3 формах действовал практически на уровне свободного.

Таким образом, включение иматиниба метансульфоната в биополимерные микрокапсулы (протамин-пектин- Ag_n) позволяет сохранить его биодоступность и обеспечить пролонгированное высвобождение вещества. Установлено, что сравнительная эффективность противоопухолевой активности инкапсулированных форм зависит от типа опухолевых клеток и по результатам, полученным на моделях гемобластозов, можно сделать вывод, что наибольший интерес для дальнейшей разработки инкапсулированных форм иматиниба имеют препараты кап-02 и кап-03, представляющие собой микрокапсулы с иматинибом, в структуру которых входят наночастицы серебра.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках договора № X14 – 137.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Б. Демина, С. А. Скатков, А. И. Тенцова, *Фармация*, **4**, 37 – 41 (2012).
2. N. Kamaly, Z. Xiao., P. M. Valencia, et al., *Chem. Soc. Rev.*, **41**(7), 2971 – 3010 (2012).
3. К. Гонсалвес, К. Хальберштадт, К. Лоренсин, Л. Наир (ред), *Наноструктуры в биомедицине*, пер. с англ. Бином, Москва (2012), сс. 412 – 440.
4. М. А. Волкова, *Фарматека*, **14**(77), 8 (2003).
5. P. Ye, W. Zhang, T. Yang, et al., *Int. J. Nanomedicin*, **9**, 2167 – 2178 (2014).
6. Е. В. Королева, К. Н. Гусак, Ж. В. Игнатович, *Успехи химии*, **79**(8), 720 – 746 (2010).
7. V. Vergaro, F. Scarlino, C. Bellomo, et al., *Adv. Drug Delivery Rev.*, **63**(9), 847 – 864 (2011).

8. М. А. Печенкин, Н. Г. Балабушевич, И. Н. Зоров и др., *Хим.-фарм. журн.*, **47**(1), 49 – 56 (2013); *Pharm. Chem. J.*, **47**(1), 62 – 69 (2013).
9. F. Danhier, O. Feron, V. Préat, *J. Control. Rel.*, **148**, 135 – 146 (2010).
10. A. L. Daniel-de-Silva, T. Trindade, *Advances in Nanocomposite Technology*, Ch. 12, Dr. A. Hashim (ed.), InTech, Rijeka, Croatia (2011), pp. 275 – 299.
11. P. Sanpui, A. Murugadoss, P. V. Durga Prasad, et al., *Int. J. Food Microbiol.*, **124**, 142 – 146 (2008).
12. Патент Республики Беларусь 17047: МПК С 07D 401 / 04, С 07D 401 / 14 (2013).
13. К. С. Гилевская, Е. А. Грачева, В. Е. Агабеков, Доклады НАН Беларуси, **57**(3), 84 – 88 (2013).
14. К. С. Гилевская, Т. Г. Шутова, В. Е. Агабеков, *Материалы, технологии, инструменты*, **4**, 82 – 85 (2010).
15. Muhanna K. A. Al Muhanna, К. С. Гилевская, В. И. Куликовская и др., *Коллоид. ж.*, **77**(6), 683 – 690 (2015).
16. М. В. Григорьева, *Биотехнология*, **4**(2), 9 – 23 (2011).
17. А. П. Бонарцев, С. А. Яковлев, Е. В. Филатова и др., *Биомед. химия*, **57**(2), 232 – 240 (2011).

Поступила 07.12.15

MICROENCAPSULATION OF IMATINIB METHANESULFONATE

K. S. Gilevskaya^{1*}, Zh. V. Ignatovich¹, M. B. Golubeva², E. V. Koroleva¹, and V. E. Agabekov¹

¹ Institute of Chemistry of New Materials, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 220141 Belarus

² Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 220141 Belarus

* e-mail: k hilevskay@mail.ru

Protamine – pectin (PP) microcapsules (PP4, PP8) containing silver nanoparticles and encapsulated imatinib methanesulfonate were formed using the layer-by-layer (LbL) self-assembly method. The efficiency of imatinib encapsulation in PP LbL-microcapsules was $85.0 \pm 6.0\%$. Microcapsules containing up to 50 wt.% of imatinib and showing prolonged drug release profile were obtained. Cytotoxicity assays on model cancer cell cultures (Molt-4, K-562, KG-1) showed that the imatinib-containing microcapsules exhibited cytostatic activity (IC_{50} reduction within 1.2 – 3.5 times) compared to the free drug.

Keywords: imatinib methanesulfonate; microcapsules; pectin; silver nanoparticles; polyelectrolytes; layer-by-layer deposition.