

© Коллектив авторов, 2017

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

ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА БИОПОЛИМЕРНЫХ МИКРОКАПСУЛ ПРОТАМИН/ПЕКТИН-Ag, СОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНОЕ 2-АРИЛАМИНОПИРИМИДИНА

¹ Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Республика Беларусь, Минск;
e-mail: k_hilevskay@mail.ru

² Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Республика Беларусь, Минск.

Синтезированное производное 2-ариламинопиримидина (аналог иматиниба метансульфоната) включали в мультислойные полиэлектролитные микрокапсулы, полученные чередующейся адсорбцией протамина сульфата и нанокompозита пектин-Ag. Установлено, что эффективность включения в микрокапсулы вещества из его водного раствора с концентрацией 4 мг/мл составляет ~ 70 % и достигает 28 масс. %. Кинетика высвобождения вещества из микрокапсул существенно зависит от pH и ионной силы среды, максимально пролонгированный выход аналога иматиниба наблюдается в щелочных растворах. В опытах *in vitro* на суспензионных культурах гемабластозов показано, что микрокапсулирование производного 2-ариламинопиримидина позволяет изменить его противоопухолевую активность, снизив показатель IC₅₀ в 1,4 – 2,2 раза.

Ключевые слова: микрокапсулы; пектин; наночастицы серебра; аналог иматиниба; цитостатическая активность.

Разработка средств терапии онкологических заболеваний является одним из важнейших направлений фармацевтической науки. Успехи последних десятилетий в этой области связаны с созданием противолейкозных препаратов нового поколения, среди которых наиболее известна группа низкомолекулярных органических соединений – производных пиримидина: иматиниба мезилата (Novartis, 2001), дазатиниба (Bristol-Myers Squibb, 2006), нилотиниба (Novartis, 2007) и др. [1]. Однако многие из них обладают высокой токсичностью, что обуславливает существенное снижение качества жизни пациентов. В связи с этим актуальным является разработка принципиально новых лекарственных форм.

Современная стратегия рациональной разработки новых лекарственных препаратов включает, во-первых, моделирование и синтез мультитаргетных соединений за счет комбинирования в 1 химерной молекуле ключевых фармакофорных фрагментов соединений с различными видами биологической активности [2 – 4]; во-вторых, создание многофункциональной системы доставки лекарственного вещества (ЛВ), обеспечивающей преодоление многих биологических барьеров [5]. К компонентам системы доставки ЛВ относятся полимерные матрицы-носители (микрочастицы, капсулы, пленки), обеспечивающие функционирование и контролируруемую фармакокинетику и фармакодинамику целевого вещества [6], векторы для специфического нацеливания на клетки мишени [7] и

наночастицы, облегчающие проникновение в клетки и высвобождение биологически активного вещества в цитоплазму [7, 8].

Одним из способов создания подобных систем доставки ЛВ является микрокапсулирование, которое применяют в производстве различных продуктов и препаратов [9]. Для биомедицинских приложений несомненный практический интерес представляют микрокапсулы на основе полисахаридов, так как они нетоксичны, биосовместимы и обладают противвоспалительными, антибактериальными и мукоадгезивными свойствами [10]. Метод послойного осаждения полиэлектролитов (Layer-by-Layer Self Assembly, LbL) позволяет создавать ультратонкие микрокапсульные оболочки с контролируемой наноразмерной точностью [11]. Микрокапсулы, полученные этим методом, пригодны для pH-зависимого включения и высвобождения вещества [12] и, кроме того, при модификации оболочки наночастицами золота или серебра обеспечивают направленную доставку ЛВ [8].

В связи с этим цель данной работы — включение производного 2-ариламинопиримидина в биополимерные микрокапсулы и сравнение противоопухолевой активности его микрокапсулированной и нативной форм.

Экспериментальная часть

В работе использовали протамин сульфат (PtC, Mw ~ 5000) “Sigma-Aldrich” (США), нанокompозит

пектин-Аг (массовое соотношение пектин: Аг = 10:1), полученный методом химического восстановления нитрата серебра [13]. В качестве потенциального противоопухолевого соединения использовали синтезированное по разработанной нами ранее 7-стадийной схеме синтеза [14, 15] производное 2-ариламинопиримидина — метансульфонат 1-метил-4-{4-[(4-метил-3-[(4-пиридин-3-илпиримидин-2-ил)амино]фенил)амино]метил}бензоил}пиперазина (I).

Амид представляет собой полный структурный аналог ингибитора Vsg-Ab1 киназы иматиниба, при этом положение амидной группы изменено таким образом, что пиримидиновый фрагмент находится в кислотной части амида, а расположенная вблизи N-метилпиперазина кетогруппа связана с атомом азота гетероцикла, образуя вместе с ним амидную связь (рис. 1).

Получение микрокапсул протамина/полисахарид

Мультислойные микрокапсулы получали методом послойного осаждения полиэлектролитов [16], используя в качестве матриц микрочастицы карбоната кальция (3 – 5 мкм), содержащие 2 масс. % цитрусового пектина, синтезированные по методике [17]. Навеску CaCO₃ (0,5 г) редуцировали в дистиллированной воде (20 мл), затем приливали 10 – 20 мл раствора протамина с концентрацией 5 мг/мл или золь пектин-Аг и выдерживали при перемешивании 800 – 1000 об/мин в течение 10 мин на магнитной мешалке (ИКА Topolino, Германия). Неадсорбированный полиэлектролит отделяли центрифугированием в течение 10 мин при 4000 об/мин (центрифуга ОС-6М УХЛ 4.2, Россия), осадок редуцировали в 40 мл дистиллированной воды и снова центрифугировали при 4000 об/мин 10 мин, промывали осадок дистиллированной водой дважды. Так как синтезированные карбонатные частицы имеют отрицательную величину ζ-потенциала поверхности (~ 12 – 16 мВ), то поликатион протамин сульфат всегда адсорбировали первым. В качестве полианиона использовали пектин-Аг. После формирования мультислойной оболочки, содержащей 8 бислоев протамин/пектин-Аг, неорганическую матрицу удаляли, используя 0,1 н. раствор HCl. Полученные микрокапсулы (протамин/пектин-Аг)₈ хранили в дистиллированной воде при температуре 4 °С.

Величину ζ-потенциала поверхности полученных микрокапсул измеряли методом электрофоретического светорассеяния (Zetasizer Nano-ZS, Malvern, Великобритания) с использованием уравнения Смолуховского (растворитель — вода, температура — 25 °С, индекс рефракции — 1,5). Для получения оптических изображений (микроскоп Микро-МБ, Беларусь) суспензию микрокапсул наносили в камеру Горяева и исследовали в проходящем свете с помощью объективов × 20 и × 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, за-

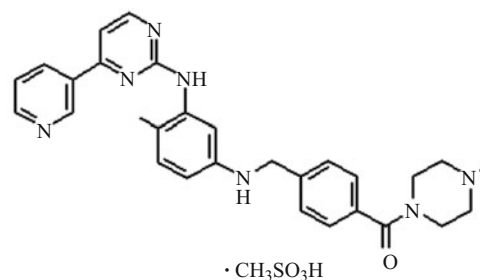


Рис. 1. Структурная формула I.

тем 10 мин центрифугировали при 4000 об/мин, осадок редуцировали 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 2 – 6 °С.

Включение аналога иматиниба в микрокапсулы

К суспензии микрокапсул (5 мл) приливали 1 мл раствора I (12 и 24 мг/мл), выдерживали в течение 1 ч, центрифугировали (4000 об/мин, 15 мин) и определяли количество неадсорбированного вещества, анализируя супернатанты до и после сорбции. Для этого записывали спектр поглощения супернатанта на спектрофлуориметре СМ 2203 (Solar, Беларусь) в 1 см кварцевой кювете (в диапазоне 200 – 400 нм) и рассчитывали концентрацию I в нем по предварительно построенному калибровочному графику (в координатах зависимость поглощения (при λ = 300 нм) раствора аналога иматиниба от его концентрации).

Эффективность включения (ЭВ, %) I в микрокапсулы рассчитывали по формуле:

$$\text{ЭВ} = \frac{(m_0 - m_1)}{m_0} \cdot 100,$$

где m_0 и m_1 — количество аналога иматиниба в исходном растворе и супернатанте, соответственно (мг).

Массовую долю (ω, %) включенного в микрокапсулы I определяли по формуле:

$$\omega = m_b \cdot 100 / (m_{\text{СК}}),$$

где $m_b = m_0 - m_1$ — количество (мг) включенного вещества; $m_{\text{СК}}$ — масса (мг) лиофильно высушенных микрокапсул, содержащих I. Для получения лиофили-

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

Среда	t, мин
HCl, pH 2,0	54
HCl + NaCl, pH 2,0	48
0,9 % NaCl, pH 5,5	108
ФСБ, pH 7,4	150
NaOH + NaCl, pH 9,0	162
NaOH, pH 9,0	-

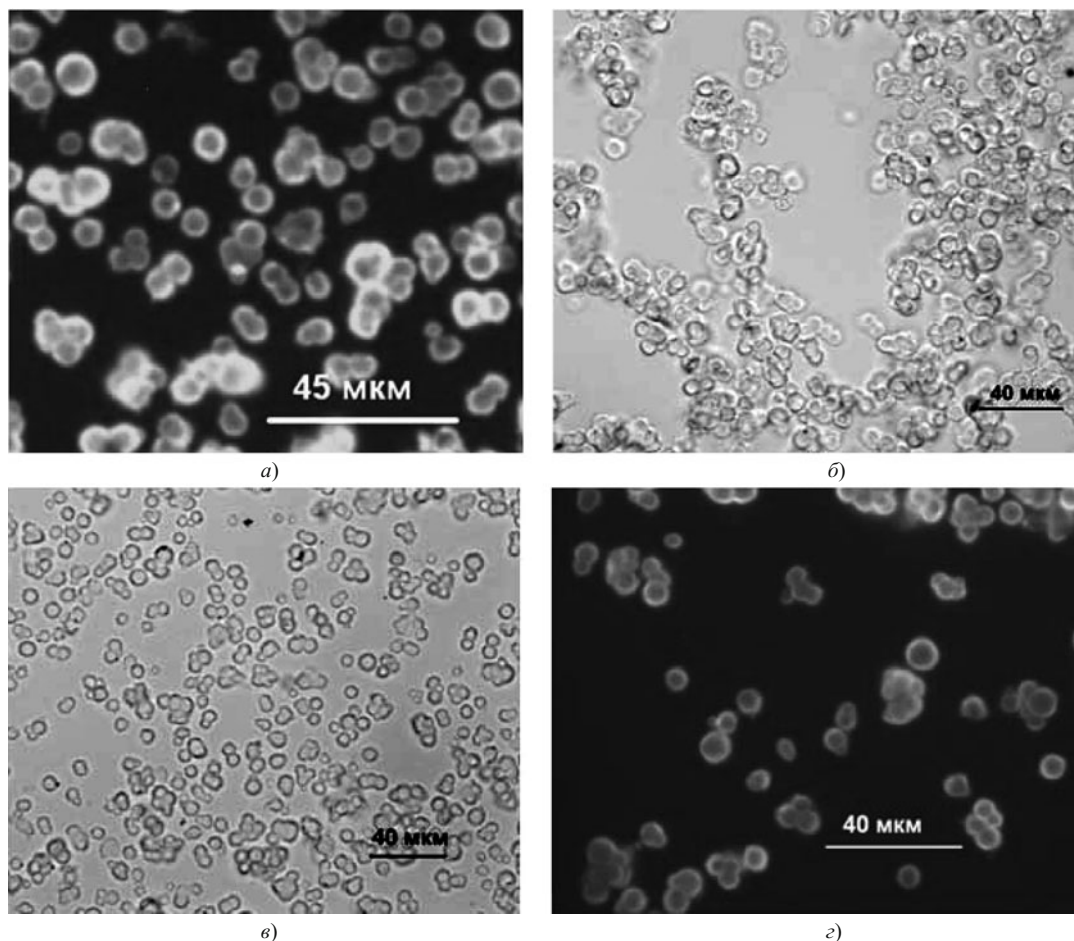


Рис. 2. Оптические фотографии микрокапсул, содержащих I, после хранения в течение 1 мес в растворах с различным pH: а) дистиллированная вода, pH 5,5 (режим флуоресценции); б) HCl, pH 2,0; в) NaOH, pH 9,0; г) NaOH, pH 9,0 (режим флуоресценции).

зированных порошков микрокапсул, в том числе содержащих аналог иматиниба, использовали лиофильную сушилку Labconco Free Zone 1 (при $-47\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 16 ч и глубине разрежения 0,04 мБара).

Для изучения кинетики высвобождения иматиниба суспензию микрокапсул (5 мл), содержащих аналог иматиниба, в диализном мешке (размер пор 14 кДа, Sigma D9277-100FT) помещали в модельную среду (50 мл) и инкубировали при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (водяная баня LOIP LB-140, Россия). В качестве сред, моделирующих различные отделы желудочно-кишечного тракта человека, использовали водные растворы 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 (для сока прямой кишки), а также 0,9 масс. % раствор хлорида натрия с pH 5,5 и фосфатно-солевой буфер (ФСБ) с pH 7,4 (для плазмы крови). Также для оценки влияния значения pH среды на профиль высвобождения I из микрокапсул использовали растворы, не содержащие хлорид натрия: раствор HCl (pH 2,0) и NaOH (pH 9,0). Для спектрофотометрического определения количества высвободившегося аналога иматиниба в течение всего процесса инкубации отбирали аликвоты (10–20 мл) среды, заменяя их эквивалентным объемом свежего раствора, и записывали спектр поглощения.

Экспериментальная биологическая часть

Цитотоксическую активность препаратов испытывали в серии экспериментов *in vitro* на моделях клеток гемобластозов: хроническая миелогенная лейкемия K-562 и лейкемия промиелоцитарная HL-60. Клеточные линии получены в Российском банке клеточных культур (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). Цитостатическое действие соединений и их связанных форм оценивали с помощью колориметрического теста.

Критерием оценки активности служило ферментативное восстановление живыми метаболически активными клетками неокрашенной соли тетразолия – 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолил бромида (МТТ) — с образованием голубых кристаллов формазана, который определяется оптически после его растворения.

Цитостатическая активность свободной и связанной формы I изучена в серии экспериментов в условиях *in vitro* в диапазоне конечных его концентраций от 0,01 до 100 мкМ в 3 параллельных измерениях. В качестве растворителя использовали 0,9 % раствор натрия хлорида. 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 растворя-

ли в диметилсульфоксиде (ДМСО). Оптическую плотность растворенного формазана измеряли спектрофотометрически на ридере для многолучных планшетов “Витязь” (Беларусь) при длине волны 570 нм. Степень ингибирования роста клеток злокачественной опухоли вычисляли, исходя из прямой корреляционной зависимости жизнеспособности клеток и интенсивности окраски суспензии.

Для каждой концентрации тестируемого препарата определяли среднее значение из 3 параллельных измерений и рассчитывали степень подавления роста клеток по формуле:

$$N = (1 - D_o/D_k) \cdot 100 \%,$$

где D_o — оптическая плотность образцов с испытуемыми соединениями, D_k — оптическая плотность образцов с растворителем (0,9 % раствор натрия хлорида).

Результаты и их обсуждение

Полученные микрокапсулы (ПтС/пектин-Аг)₈ имели диаметр ~ 5 – 8 мкм. Величина ζ-потенциала исходных микрокапсул составляла $-(36,0 \pm 1,0)$ мВ. Включение вещества в микрокапсулы (ПтС/пектин-Аг)₈ происходит, главным образом, за счет электростатического взаимодействия между положительно заряженными молекулами амида и отрицательно заряженным материалом полимерной микрокапсулы. Так, после включения в микрокапсулы I из растворов с концентрацией 2 и 4 мг наблюдается уменьшение их ζ-потенциала в 2 – 2,5 раза до $-(18,0 \pm 1,2)$ и $-(13,8 \pm 0,7)$ мВ соответственно. Кроме того, изображения образцов, полученные в режиме флуоресценции на оптическом микроскопе, подтверждают сорбцию I микрокапсулами (ПтС/пектин-Аг)₈. По сравнению с исходными, микрокапсулы, содержащие I,

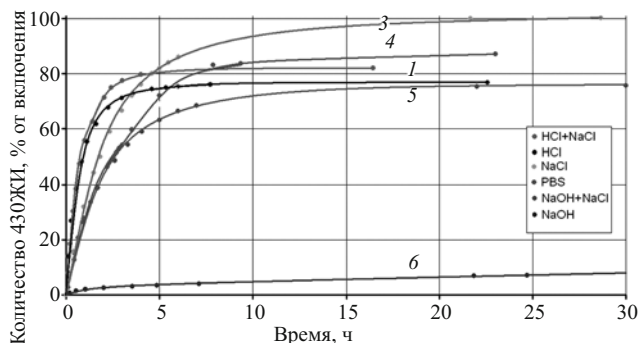


Рис. 3. Кинетика высвобождения аналога иматиниба из микрокапсул (протамин/пектин-Аг)₈ в средах с различной ионной силой и значением pH при 37 °С: 1) HCl + NaCl pH 2,0; 2) HCl pH 2,0; 3) 0,9 % NaCl, pH 5,5; 4) фосфатно-солевой буфер, pH 7,4; 5) NaOH + NaCl pH 9,0; 6) NaOH pH 9,0.

имеют интенсивное свечение в УФ-свете, причем противоопухолевое вещество находится не только в оболочке, но и равномерно распределено в их внутреннем объеме (рис. 2, а).

Эффективность включения I из его водных растворов с концентрацией 1 – 2 мг/мл в микрокапсулы (ПтС/пектин-Аг)₈ достигает 90 % и сопоставима с ЭВ иматиниба (85 – 90 %). При увеличении концентрации I в растворе в 2 – 2,5 раза эффективность его включения в микрокапсулы уменьшается до 70 – 75 %, в то время как значение ЭВ аналога иматиниба практически не изменяется. Массовая доля включенного I составляет $(13,5 \pm 0,4)$ и $(28,5 \pm 0,4)$ масс. % при использовании растворов с концентрацией 2 и 4 мг/мл соответственно. При хранении микрокапсул, содержащих иматиниб или его аналог, в дистиллированной воде (pH 5,5) в течение 2 недель выход вещества составляет менее 5 % от включенного. Кинетику высвобождения иматиниба из микрокапсул *in vitro* изучали при темпе-

Таблица 2
Цитостатическая активность аналога иматиниба I и его капсульной формы по тесту МТТ в культуре клеток хронической миелогенной лейкемии человека К-562

Препарат	Концентрация, мкМ	N
Иматиниб	0,01	$-0,07 \pm 0,7$
	0,1	$5,1 \pm 0,8$
	1,0	$6,3 \pm 0,7$
	10,0	$54,8 \pm 1,1$
	50,0	$93,9 \pm 1,6$
	100,0	$96,7 \pm 0,5$
I	0,1	$6,4 \pm 2,1$
	1,0	$10,7 \pm 2,0$
	10,0	$18,1 \pm 2,4$
	50,0	$64,4 \pm 1,1$
	100,0	$89,9 \pm 1,2$
КАП-I	0,1	$7,5 \pm 0,7$
	1,0	$10,3 \pm 0,8$
	10,0	$22,2 \pm 2,5$
	50,0	$95,1 \pm 1,4$
	100,0	$96,8 \pm 0,8$

Таблица 3
Цитостатическая активность аналога иматиниба и его капсульной формы КАП-I по тесту МТТ в культуре клеток лейкемии промиелоцитарной HL-60

Препарат	Концентрация, мкМ	N
Иматиниб	0,01	$-0,4 \pm 3,5$
	0,1	$3,6 \pm 4,4$
	1,0	$15,2 \pm 6,1$
	10,0	$17,0 \pm 2,0$
	50,0	$85,3 \pm 3,8$
	100,0	$90,5 \pm 4,4$
I	0,1	$-8,4 \pm 0,3$
	1,0	$-6,0 \pm 1,2$
	10,0	$10,7 \pm 1,9$
	50,0	$63,1 \pm 0,7$
	100,0	$79,5 \pm 4,0$
КАП-I	0,1	$2,5 \pm 4,5$
	1,0	$19,1 \pm 1,9$
	10,0	$27,9 \pm 4,6$
	50,0	$82,6 \pm 1,3$
	100,0	$88,7 \pm 0,8$

ратуре 37 °С, используя водные растворы с физиологическими значениями рН и ионной силы, моделирующие среду желудочно-кишечного тракта человека и/или изотоничные плазме крови. Во всех исследуемых средах (за исключением раствора NaOH с рН 9,0) суммарный выход аналога иматиниба составляет не менее 75 % от включенного количества (рис. 2).

Кинетика высвобождения аналога иматиниба в кислых средах (рН 2,0) существенно не зависит от присутствия низкомолекулярного электролита. Так, в растворе HCl и HCl + NaCl при рН 2,0 половина включенного I (V_{50}) высвобождается в течение первого часа, а максимальный (~ 80 %) выход вещества наблюдается через 3 – 4 ч. С увеличением значения рН среды от 2,0 до 9,0 в растворах с ионной силой 0,13 – 0,16 моль/л высвобождение вещества замедляется в 2 – 3 раза (табл. 1).

В растворе с рН 5,5 (0,9 % NaCl) и щелочных растворах (PBS и NaOH + NaCl) кинетическая кривая высвобождения I из микрокапсул достигает предельных значений через 10 – 15 ч. Следует отметить, что при изменении рН среды от 5,5 до 9,0 на 25 % уменьшается суммарное количество высвободившегося I из микрокапсул от практически 100 % в 0,9 % растворе NaCl (рН 5,5) до 75 % в растворе NaOH + NaCl (рН 9,0).

Лимитирующими при высвобождении лекарственных веществ из полимерных матриц являются диффузионные процессы между буфером и ЛВ и/или деструкция полимерной основы [18]. Микрокапсулы (ПтС/пектин-Ag)₈ устойчивы и сохраняют целостность оболочек в диапазоне рН от 2,0 до 9,0, а также в 0,9 % растворе NaCl (рис. 2, б – з). В связи с этим высвобождение I из микрокапсул в этих растворах обусловлено, главным образом, его диффузией.

В кислых средах диффузия ЛВ возможна из-за ослабления кулоновского взаимодействия между амидными группами I и микрокапсулами, обусловленного значительным снижением степени ионизации карбоксильных групп пектина (рК ~ 3 – 4), входящего в состав микрокапсул. Влияние NaCl на высвобождение вещества в кислых средах незначительно (рис. 2, кривая 1, 2): практически полный (75 – 80 %) выход I наблюдается в течение 4 – 5 ч.

С увеличением значения рН до 9,0 происходит ионизация карбоксильных групп пектина и усиливается их взаимодействие с молекулами I. Так, в растворе NaOH с рН 9,0 высвобождение вещества в течение 50 ч не превышает 7 % (рис. 2, кривая 6). Данные, полученные при микроскопическом исследовании в режиме флуоресценции образцов, выдержанных в растворе NaOH, подтверждают наличие вещества в обо-

лочке и внутреннем объеме микрокапсул (рис. 2, з). Однако на процесс высвобождения вещества в слабокислой, нейтральной и щелочной средах также оказывает влияние присутствие ионов низкомолекулярного электролита (NaCl), которые экранируют заряд ионизированных групп пектина и I, что приводит к диффузии вещества в буферный раствор. Так, при введении NaCl в раствор NaOH с рН 9,0 наблюдается высвобождение вещества до 75 % (рис. 1, кривая 5). Уменьшение высвобождения I на 25 % в этом случае по сравнению с практически 100 % его выходом в физиологическом 0,9 % растворе NaCl с рН 5,5, вероятно, связано с конкурированием процессов экранирования зарядов и усилением кулоновских взаимодействий, причем последние превалируют с увеличением значения рН в щелочных растворах.

В то же время в фосфатно-солевом буфере высвобождение вещества связано с необратимым разрушением микрокапсул, так как при исследовании образцов, выдержанных в ФСБ, методом оптической спектроскопии наблюдаются лишь бесформенные гелевые агрегаты. Подобный эффект наблюдался ранее [16] для микрокапсул на основе протамина и цитрусового пектина и предположительно связан с необратимым набуханием в фосфатно-солевом буфере как самой мультислойной оболочки микрокапсулы, так и пектинового геля в ее объеме.

При проведении испытания цитостатической активности капсулированного аналога иматиниба (КАП-I) в качестве препаратов сравнения использовали иматиниба метансульфонат и собственно I в нативной форме. Полученные данные свидетельствуют о том, что цитотоксический эффект капсулированного I является дозозависимым, а также зависит от типа клеток.

В указанных условиях эксперимента клетки хронической миелогенной лейкемии человека К-562 были более чувствительны к цитостатическому действию иматиниба и его аналога в свободной и капсульной формах (табл. 2), чем клетки промиелоцитарной лейкемии HL-60 (табл. 3).

На модели лейкемии К-562 показано, что противоопухолевый эффект иматиниба в концентрации 1 мкМ практически не выражен. В диапазоне концентраций от 1 до 10 мкМ он возрастает до 50 % уровня и достигает в среднем 93 и 96 % в концентрации 50 и 100 мкМ соответственно. Показатель IC_{50} для иматиниба составляет 8,5 мкМ (табл. 4).

У I способность подавлять рост клеток хронической миелогенной лейкемии выражена несколько слабее, чем у иматиниба. Так, в концентрации 10 мкМ I подавляет рост клеток на 18 %. В концентрации 50 мкМ противоопухолевый эффект достигает 64 % против 93 % у иматиниба. Максимального значения активности I достигает в концентрации 100 мкМ и составляет 90 %.

КАП-I в культуре клеток хронической миелогенной лейкемии К-562 имеет большую противоопухолевую активность по сравнению со свободным I. Так, КАП-I в концентрации (по I) 50 мкМ подавляет рост клеток

Таблица 4

Значение IC_{50} (мкМ) для аналога иматиниба и его капсульной формы

Клеточные линии	Иматиниб	I	КАП-I
К-562	8,5	20	14,5
HL-60	20	45	20

на 95 % против 64 % у свободного аналога. При этом достигается тот же уровень активности, как и у свободного иматиниба. Показатель IC_{50} для КАП-I составляет 14,5 мкМ, что в 1,4 раза меньше, чем у свободной формы I (табл. 4).

На модели клеток промиелоцитарной лейкемии HL-60 цитостатический эффект соединений выражен слабее (табл. 3). Значимый противоопухолевый эффект у иматиниба и I проявляется в диапазоне концентраций от 10 до 50 мкМ. Так, в концентрации 10 мкМ степень подавления роста клеток этими соединениями составляет 17 % для иматиниба и 11 % для I. В концентрации 50 мкМ иматиниб подавляет рост клеток линии HL-60 на 85 %, I — на 63 %. Максимальный цитостатический эффект достигается в концентрации 100 мкМ и составляет 91 % (иматиниб) и 80 % (I).

КАП-I на клетках промиелоцитарной лейкемии HL-60, как и в случае с линией К-562, проявляет большую цитостатическую активность по сравнению со свободным I. В концентрации 1 мкМ степень КАП-I ингибирует рост клеток на 19 %, в концентрации 10 мкМ — на 28 %. В диапазоне концентраций 10 – 50 мкМ наблюдается резкое увеличение противоопухолевого эффекта КАП-I до 83 % и существенно не изменяется при увеличении концентрации до 100 мкМ. Величина IC_{50} капсульной формы соединения I уменьшается в 2,25 раза по сравнению с IC_{50} свободной формы (табл. 4).

Таким образом, на клеточной модели хронической миелогенной лейкемии К-562, являющейся наиболее чувствительной к цитостатическому действию иматиниба, показано, что I ($IC_{50} = 20$ мкМ) значительно уступает по цитостатическому эффекту иматинибу ($IC_{50} = 8,5$ мкМ) (табл. 4). Включение I в полимерные капсулы на основе нанокомпозита пектин-Аг позволяет повысить противоопухолевую активность соединения, однако цитостатический эффект на клетках К-562 не достигает уровня иматиниба. В то же время на мо-

дели промиелоцитарной лейкемии HL-60 активность капсульной формы превышает активность свободного аналога по показателю IC_{50} в 2,25 раза и достигает уровня иматиниба.

ЛИТЕРАТУРА

1. B. Deadman, M. Hopkin, I. Waxendale, et al., *Organic Biomolec. Chem.*, Vol. 11, 1766 – 1800 (2013).
2. Г. Кубиньи, *Рос. хим. ж.*, **50**(2), 2 – 15 (2006).
3. Е. В. Королева, Ж. И. Игнатович, Ю. В. Синютнич и др., *Ж. орган. химии*, **52**(2), 159 – 196 (2016).
4. S. Mahboobi, S. Dove, A. Sellmer, et al., *J. Med. Chem.*, **52**, 2265 – 2279 (2009).
5. М. В. Леонова, *Леч. дело*, **2**, 21 – 31 (2009).
6. Ю. Б. Белоусов, М. В. Леонова, *Клин. фармакол. и тер.*, № 5, 66 – 71 (2008).
7. Ю. Б. Белоусов, М. В. Леонова, *Клин. фармакол. и тер.*, № 2, 62 – 69 (2009).
8. A. Skirtach, A. Javier, O. Kreft, et al., *Chem. Int. Ed.*, **45**, 4612 – 4617 (2006).
9. М. С. Вилесова, Н. И. Айзенштадт, М. С. Босенко и др., *Рос. хим. ж.*, **XLV**(5 – 6), 1 – 10 (2006).
10. Е. А. Харенко, Н. И. Ларионова, Н. Б. Демина, *Хим.-фарм. журн.*, **43**(4), 21 – 29 (2009); *Pharm. Chem. J.*, **43**(4), 200 – 208 (2009).
11. F. Hua and Y. Lvov, in: *The New Frontiers of Organic and Composite Nanotechnology*, V. Erokhin (ed.), Wiley-VCH, London, Berlin (2007), pp. 123 – 146.
12. М. Antipina, M. Kiryukhin, A. Skirtach, et al., *Int. Materials Rev.*, **59**(4), 224 – 244 (2014).
13. Muhanna K. A. Al Muhanna, K. С. Гилевская и др., *Коллоид. ж.*, **77**(6), 683 – 690 (2015).
14. Е. В. Королева, Ж. В. Игнатович, К. Н. Гусак и др., *Ж. орган. химии*, **51**(1), 104 – 111 (2015).
15. Патент Республики Беларусь 17047, МПК С 07D 401 / 04, С 07D 401 / 14 (2013).
16. К. С. Гилевская, Е. А. Грачева, В. Е. Агабеков, *Докл. НАН Беларуси*, **57**(3), 84 – 88 (2013).
17. К. С. Гилевская, Т. Г. Шутова, В. Е. Агабеков, *Материалы, технологии, инструменты*, **4**, 82 – 85 (2010).
18. М. В. Григорьева, *Биотехнология*, **4**(2), 9 – 23 (2011).

Поступила 28.07.16

PREPARATION AND PROPERTIES OF PROTAMINE/PECTIN-AG BIOPOLYMER MICROCAPSULES CONTAINING 2-ARYLAMINOPYRIMIDINE DERIVATIVE

K. S. Gilevskaya¹, 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

A 2-arylamino-pyrimidine derivative (analog of imatinib mesylate) was synthesized and included into multilayer polyelectrolyte microcapsules prepared by alternate adsorption of protamine sulfate and pectin-Ag nanocomposite. It was found that the efficiency of substance encapsulation from its aqueous solution (4 mg/mL) was about 70% and reached up to 28 wt.%. The kinetics of substance release significantly depends on pH and ionic strength of the medium. Maximum prolonged release of imatinib analog was observed in alkaline solutions. *In vitro* experiments on suspension cultures of hemoblasts showed increased antitumor activity (with IC_{50} value decreased 1.4 – 2.2 times) of the encapsulated form of 2-arylamino-pyrimidine derivative.

Keywords: microcapsules; pectin; silver nanoparticles; imatinib analog; cytostatic activity.