

Фармакотерапия онкозаболеваний: поиск новых препаратов и подходов

✉ Контактное лицо: Белова Мария Владимировна. E-mail: maniaabel@gmail.com

Резюме

Введение. Настоящая публикация представляет собой материалы традиционной научной конференции студентов старших курсов Института фармации Сеченовского университета и факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова под общим девизом «Drug. Лекарство или... сложности перевода», которая состоялась 27 мая 2022 года. Каждый год темой такой конференции становятся самые актуальные медико-социальные проблемы, связанные с эффективностью и безопасностью лекарств. Данная конференция была приурочена к проходившему в это время X Юбилейному международному междисциплинарному конгрессу по заболеваниям органов головы и шеи, и посвящена проблеме фармакотерапии онкологических заболеваний.

В России, как и в мире, онкологические заболевания широко распространены и занимают второе место среди причин смертности. Так, согласно статистическим данным, каждый 40-й человек в России имеет онкологическое заболевание.

Тысячи исследователей во всем мире стремятся понять этиологию рака, повысить эффективность диагностики и лечения заболевания, обеспечивая медленный, но неуклонный прогресс в решении этих проблем.

Ранняя диагностика и своевременное целенаправленное лечение являются залогом успешной терапии и благоприятного исхода.

В прозвучавших докладах были рассмотрены основные направления создания противоопухолевых лекарственных препаратов, обеспечивающих большую эффективность и безопасность лечения, современные подходы к ранней диагностике рака с помощью микроРНК как маркеров опухоли. Большой интерес вызвало сообщение о возможности предсказания токсичности препаратов еще до стадии химического синтеза на основании компьютерного драг-дизайна. Также было уделено внимание проблемам паллиативного лечения и реабилитации онкологических пациентов, психологическим, этическим и юридическим аспектам этого. Обсуждение и медицинская оценка этих вопросов безусловно вызовет интерес достаточно широкой аудитории. Далее приведены лишь три сообщения из прозвучавших, дающие представление о «классических» методах, новом направлении в лечении, и технологической реализации таргетной терапии опухоли.

Ключевые слова: онкология, фармакотерапия, таргетная терапия опухолей, диагностика, микроРНК, токсичность

Pharmacotherapy of Oncological Diseases: Search for New Drugs and Approaches

✉ Corresponding author: Maria V. Belova. E-mail: maniaabel@gmail.com

Abstract

Introduction. This publication represents the materials of the traditional scientific conference of senior students of the Institute of Pharmacy of the Sechenov University and the Faculty of Fundamental Medicine of the Lomonosov Moscow State University under the general motto "Drug. Medicine or... Difficulties in translation", which took place on May 27, 2022. Every year the topic of such a conference is the most pressing medical and social problems related to the effectiveness and safety of medicines. This conference was timed to coincide with the 10th anniversary international congress on diseases of the head and neck organs, which was taking place at that time, and was devoted to the problem of pharmacotherapy of oncological diseases.

In Russia, as well as in the world, oncological diseases are widespread and occupy the second place among the causes of death. So, according to statistics, every 40th person in Russia has an oncological disease.

Thousands of researchers around the world are striving to understand the etiology of cancer, improve the efficiency of diagnosis and treatment of the disease, ensuring slow but steady progress in solving these problems.

Early diagnosis and timely targeted treatment are the key to successful therapy and a favorable outcome.

The presentations discussed the main directions in the development of anticancer drugs that provide greater efficacy and safety of treatment, modern approaches to early cancer diagnosis using microRNA as tumor markers. Of great interest was the report on the possibility of predicting the toxicity of drugs even before the stage of chemical synthesis on the basis of computer-aided drug design. Also, attention was paid to the problems of palliative care and rehabilitation of cancer patients, psychological, ethical and legal aspects of this. Discussion and medical assessment of these issues will certainly arouse the interest of a fairly wide audience. The following are only three reports from those that have sounded, giving an idea of the "classical" methods, a new direction in treatment, and the technological implementation of targeted tumor therapy.

Keywords: oncology, pharmacotherapy, targeted tumor therapy, diagnostics, miRNA, toxicity

ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ – КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ КЛАССОВ

К. А. Балацкая, В. А. Затулина, М. В. Белова

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет),
119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

CHEMOTHERAPEUTIC DRUGS – A BRIEF DESCRIPTION OF THE MAIN CLASSES

Xenia A. Balatskaya, Vera A. Zatulina,
Maria V. Belova

I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov
University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

Противоопухолевая химиотерапия – метод лечения больных со злокачественными новообразованиями с использованием препаратов, которые способны тормозить пролиферацию опухолевых клеток (цитостатическое действие) или приводить к их полной гибели и апоптозу (цитотоксическое действие).

При помощи химиотерапии можно уменьшить размер опухоли перед операцией, уничтожить раковые клетки, которые могли остаться после хирургического вмешательства, свести к минимуму развитие метастазов, а также улучшить результаты других видов лечения.

К принципам химиотерапии относят выбор активных при данной опухоли препаратов, назначение адекватных доз, их коррекция и соблюдение режимов введения с учетом индивидуальной клинической ситуации. Терапия обычно проводится циклами или курсами длительностью от 3 до 6 месяцев в зависимости от стадии опухолевого процесса.

Классификация противоопухолевых веществ основана на принципах действия и химическом строении. Выделяют:

- Алкилирующие агенты.
- Антиметаболиты.
- Противоопухолевые антибиотики.
- Препараты растительного и животного происхождения.

Алкилирующие агенты довольно разнородны по химическому строению, но все обладают высокой общей токсичностью. Механизм их действия основан на алкилировании гуаниновых оснований (за счет образования ковалентных связей) обеих цепочек двуспиральной молекулы ДНК, что приводит к изменению пространственного строения молекулы и блокировке процессов транскрипции и репликации. В результате злокачественные клетки разрушаются и их воспроизведение прекращается. Наиболее известными препаратами этой группы являются хлорэтиламины (хлорметин, «Мелфалан» и т. д.); производные нит-

розоомочевин («Кармустин», «Ломустин» и т. д.); этиленимины (тиофосфамид, гексафосфамид, бензотэф); эфиры дисульфоновых кислот (бусульфан, треосульфат); комплексные соединения платины («Цисплатин», «Карбоплатин»); триазины (дакарбазин, прокарбазин). Большинство этих препаратов сильно угнетают ростки кроветворения в костном мозге, а также подавляют клеточный и гуморальный иммунитет. Разрушение быстро делящихся клеток приводит к нарушению целостности слизистых: кишечника, ЖКТ, ротовой полости [1, 2].

Антиметаболиты – аналоги веществ, обеспечивающих нормальные биохимические процессы в клетке. По химическому строению подобны витаминам, пуриновым и пиримидиновым основаниям. Механизм их действия обусловлен вступлением в конкурентные отношения с нормальными метаболитами и блокированием обменных процессов в клетках, что приводит к нарушению передачи генетической информации и пролиферации клеток [2, 3]. К препаратам этой группы относятся антифолаты – «Метотрексат» (наиболее часто используют при опухолях шеи и головы, также при хорионэпителиоме и раке молочной железы); ингибиторы тимидилат-синтетазы – «Ралтитрексид»; фторпиримидины – 5-фторурацил, тегафур, фторфуран (применяются при неоперабельных формах рака желудка и кишечника); антагонисты пуринов – «Меркаптопурин»; ингибиторы рибонуклеозиддифосфатредуктазы – гидроксикарбамид. Препараты рассматриваемой группы лишь отчасти избирательны в отношении опухолевых клеток, так как поражают еще и быстро пролиферирующие нормальные клетки, в результате чего происходит угнетение кроветворения, повреждение слизистых оболочек ЖКТ. Обладают нейро-, нефро- и гепатотоксичностью, вызывают алопецию [1].

Противоопухолевые антибиотики оказывают комбинированное иммунодепрессивное и антибактериальное действие, но не применяются в качестве антимикробных средств [1]. Механизм их действия заключается в ингибировании синтеза нуклеиновых кислот путем нарушения вторичной спирализации ДНК и в связывании с липидами клеточных мембран, изменяя транспорт ионов [3]. К противоопухолевым антибиотикам относятся антрациклины («Рубомицин», карминомицин, доксимицин, идарубицин, валрубицин, даунорубицин), которые наиболее эффективны; флеомицины (блеомицин, блеомицитин, пепломицин); производные ауреловой кислоты («Оливомицин», пликамицин); прочие антибиотики (брунеомицин, митомицин), действующие аналогично алкилирующим агентам; актиномицины (дактиномицин). Противоопухолевым антибиотикам свойственны высокая антимитотическая активность и низкая избирательность действия, в результате чего все подобные препараты обладают потенциально необратимой куму-

лятивной дозозависимой кардиотоксичностью¹ [2–3]. Для уменьшения дозы и снижения частоты и выраженности токсических эффектов их применяют в комбинации с другими противоопухолевыми средствами.

Противоопухолевый эффект препаратов растительного происхождения основан на способности алкалоидов растений блокировать митоз клеток в стадии метафазы, оказывая, таким образом, антимитотическое действие [3]. Препараты данной группы делят на:

1. Микротрубочковые ингибиторы, такие как винкаалкалоиды, содержащиеся в растении барвинок розовый (винбластин, винкристин, эрибулин); таксаны, синтезируемые из европейского тисса (паклитаксен, иксабепилон). Механизм их действия заключается в денатурации белка тубулина с последующей его деполяризацией, приводящей к распаду митотического веретена, отсутствию анафазы и гибели клеток. А механизм таксанов – это стимуляция полимеризации клеточного тубулина и сдвиг равновесия в сторону образования дефектных трубочек [2].
2. Ингибиторы топоизомераз ДНК I, II. К первой группе относят топотекан и иринотекан, а ко второй – этопозид и тенипозид. Они препятствуют респирализации и репликации ДНК, тормозят вступление клеток в митоз, в результате чего происходит их гибель [3].

Антимитотическое действие средств растительного происхождения делает их крайне токсичными для всех видов клеток организма. Особенно ярко выражен нейротоксический эффект: наблюдаются нарушения нервно-мышечной передачи, неврологические осложнения, в том числе парестезия, двигательные расстройства, выпадение сухожильных рефлексов и др. [1].

Говоря о препаратах растительного происхождения, стоит также обратить внимание на препараты конопли. Синтез аналогов классических каннабиноидов начался в 60-е годы XX века, впервые они были воссозданы американской компанией Pfizer. Каннабиноиды, выделяемые из растения *Cannabis sativa*, могут являться потенциальными противоопухолевыми препаратами. В ряде исследований было выявлено, что данные вещества обладают антипролиферативным и проапоптотическим эффектами, известно, что они препятствуют неоваскуляризации опухоли, миграции раковых клеток, адгезии, инвазии и метастазированию [4]. Однако клиническое использование Δ9-тетрагидроканнабинола и подобных ему веществ ограничено ввиду их воздействия на психику человека. Психоактивные эффекты опосредованы непосредственной стимуляцией CB₁-рецепторов,

находящихся в ЦНС. Избежав влияния на рецепторы, находящиеся в головном мозге, можно добиться эффектов, описанных ранее. Поэтому в последнее время возрастает интерес к веществам сходных с каннабидиолом, который влияет преимущественно на CB₂-рецепторы, расположенные в селезенке, поджелудочной железе и иммунокомпетентных клетках.

Все эффекты каннабиноидов опосредованы через эндоканнабиноидную систему – универсальную сигнальную систему, выполняющую в организме важные функции: от регуляции баланса энергии, метаболизма углеводов и липидов до участия в реализации иммунного ответа. При стимуляции CB-рецепторов происходит активация связанных с ними G-белков, в результате чего происходят изменения в клеточных функциях.

Дронабинол и «Набилон» (аналоги Δ9-тетрагидроканнабинола) на сегодняшний день применяются как противорвотные для купирования отрицательных проявлений химиотерапии, помогая повысить качество жизни онкобольных [4]. Наиболее перспективным считается разработка препаратов, влияющих на CB₂-рецепторы, ведь в большей степени при борьбе с онкозаболеваниями важно воздействие на иммунную систему человека.

Несмотря на достаточно высокую эффективность, препараты, используемые в химиотерапии, чрезвычайно токсичны для здоровых клеток организма ввиду избирательности их действия. Именно поэтому необходимо создавать препараты таргетной терапии, которые, в отличие от химиотерапевтических лекарственных средств, действуют непосредственно на клетки опухоли, не вызывая общей интоксикации организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аляутдина Р. Н., ред. Фармакология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2022. 352 с.
2. Романов Б. К., Дмитриева Н. Б., Зацепилова Т. А. Противоопухолевые препараты. *Российский медицинский журнал*. 2018;24(3):146–150. DOI: 10.1882/0869-2106-2018-24-3-146-150.
3. Сергеева П. В., Шимановского Н. Л., ред. Биологическая фармакология. М.: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2010. 624 с.
4. Bajtel Á., Kiss T., Tóth B., Kiss S., Hegyi P., Vörhendi N., Csopor-Löffler B., Gede N., Hohmann J., Csopor D. The Safety of Dronabinol and Nabilone: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *Pharmaceuticals* (Basel). 2022;15(1):100. DOI: 10.3390/ph15010100.

REFERENCES

1. Alyautdina R. N., editor. Pharmacology. Moscow: GEOTAR-Media; 2022. 352 p. (In Russ.)
2. Romanov B. K., Dmitrieva N. B., Zatssepilova T. A. Antitumor drugs. *Medical Journal of the Russian Federation*. 2018;24(3):146–150. (In Russ.) DOI: 10.1882/0869-2106-2018-24-3-146-150.
3. Sergeeva P. V., Shimanovsky N. L., editors. Biological pharmacology. Moscow: LLC "Medical Information Agency"; 2010. 624 p. (In Russ.)
4. Bajtel Á., Kiss T., Tóth B., Kiss S., Hegyi P., Vörhendi N., Csopor-Löffler B., Gede N., Hohmann J., Csopor D. The Safety of Dronabinol and Nabilone: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *Pharmaceuticals* (Basel). 2022;15(1):100. DOI: 10.3390/ph15010100.

¹ Основные аспекты фармакотерапии злокачественных новообразований. Доступно по: <https://www.rlsnet.ru/library/articles/onkologiya/osnovnye-aspekty-farmakoterapii-zlokachestvennykh-novoobrazovaniy-66>. Ссылка активна на 31.03.2023.

ИММУННАЯ ТЕРАПИЯ – НОВОЕ В ЛЕЧЕНИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е. Г. Власова, В. В. Смирнов

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет),
119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

IMMUNE THERAPY IS NEW DIRECTION IN THE TREATMENT OF CANCER

Eva G. Vlasova, Valery V. Smirnov

I. M. Sechenov First MSU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov
University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

Иммунная терапия – подход к лечению онкологических заболеваний с точки зрения иммунных реакций организма на появление в организме опухолевых клеток [1].

Иницилирующим шагом является «иммуногенная» (т. е. не вследствие апоптоза) смерть опухолевых клеток, приводящая к повышению экспрессии и появлению на их поверхности таких маркеров, как кальретикулин, одновременно с выделением из гибнущих клеток АТФ и ядерного негистонового высокомолекулярного группового белка-1 (HMGB1). Выделение перечисленных иммуногенных факторов во время гибели опухолевых клеток приводит к развитию местной воспалительной реакции. После этого дендритные клетки мигрируют в дренирующий лимфатический узел, где происходит процессинг фагоцитированных опухолевых антигенов и их презентация созревшими дендритными клетками для наивных Т-лимфоцитов [2]. За счет одновременного взаимодействия главного комплекса гистосовместимости (МНС) в комплексе с презентируемым антигеном и Т-клеточного рецептора (TCR) (сигнал 1), а также ко-стимуляции CD28-рецепторов на поверхности Т-клеток (сигнал 2) происходит активация Т-эффекторных клеток [3].

Следующим этапом должны произойти миграция и инфильтрация активированного эффекторного Т-лимфоцита в опухоль, где будет реализована киллерная функция опухоль-специфичной иммунокомпетентной клетки. Попавшие в опухолевое микроокружение активированные Т-эффекторные клетки способны к цитолиту злокачественных клеток, которые презентуют на своей поверхности антигены в комплексе с МНС I класса [1, 4].

Очевидно, что, как и любая сложная схема взаимодействия, противоопухолевый иммунный цикл регулируется практически на всех этапах по принципу динамического равновесия, чтобы избежать избыточной активации цикла и появления аутореактивных клонов Т-клеток. К сожалению, те же механизмы, которые используются для «сдерживания» этих процессов, могут быть использованы и опухолевыми клетками для избегания иммунного ответа, направ-

ленного на них. Целью же современной иммунотерапии является восстановление нормального функционирования противоопухолевого иммунного цикла. С этой целью разработано множество методов, воздействующих на те или иные его этапы. Мы рассмотрим только несколько: ингибиторы контрольных точек иммунного ответа, моноклональные антитела к различным мишеням, адаптивная клеточная терапия.

Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа или просто чекпойнт-ингибиторы – одна из наиболее актуальных групп онко-иммунологических препаратов. В рамках иммунного ответа чекпойнты отвечают за уменьшение иммунного ответа и сокращение числа активированных Т-лимфоцитов и их киллерной способности, например для предотвращения избыточной стимуляции иммунитета и аутоиммунных реакций. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) уже зарегистрировано несколько препаратов из данной группы, относящихся к двум разным подгруппам с разными точками действия: цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4 (CTLA-4) и рецептор запрограммированной клеточной смерти 1 и его лиганд (PD-1 и PD-L1).

Антитела – антагонисты к CTLA-4. Ипилимумаб (Yervoy®, Bristol-Myers Squibb Company, США), зарегистрированный в 2011 г., стал первым одобренным к применению препаратом из этой группы. Являющийся моноклональным антителом, препарат связывается с CTLA-4 на поверхности незрелых Т-лимфоцитов. В норме CTLA-4 связывает комплексы B7-1 и B7-2 на поверхности дендритных клеток, не позволяя реализоваться «второму» активирующему сигналу от CD28 и подавляя каскад реакций от TCR при презентации антигена Т-лимфоциту. Кроме того, CTLA-4 экспрессируется и в Т-регуляторных клетках, которые с его помощью уменьшают способность дендритных клеток к эффективной презентации антигена. Таким образом, блокада активности CTLA-4 на клетках иммунной системы снижает влияние отрицательной регуляции и позволяет в большей степени реализоваться уже существующему иммунному ответу на опухоль.

Антитела – антагонисты к PD-1. Следующим этапом развития иммунотерапии рака стала регистрация в 2014 г. моноклональных антител, блокирующих PD-1, – ниволумаба (Opdivo®, Bristol-Myers Squibb Company, США) и пембролизумаба (Keytruda®, ООО «МСД Фармасьютикалс», Россия); и в 2016–2017 гг. – блокирующих PD-L1 – атезолизумаба (Tecentriq®, F. Hoffmann-La Roche Ltd, Швейцария), авелумаба (Bavencio®, ООО «Мерк», Россия), дурвалумаба (Imfinzi®, AstraZeneca AB, Швеция). PD-1 – рецептор, расположенный на поверхности активированных Т-лимфоцитов и предотвращающий активацию сигнального каскада PI3-киназы. В итоге это приводит к уменьшению пролиферации, цитотоксичности и высвобождения цитокинов из активированных Т-лимфоцитов.

Наряду с CTLA-4 и PD-1 многие из белков-регуляторов противоопухолевого иммунного цикла изучаются в качестве потенциальных точек воздействия при лечении онкологических заболеваний. Для части из них уже идут клинические исследования соответствующих препаратов.

Ген активации лимфоцитов 3 (LAG3) экспрессируется во многих иммунокомпетентных клетках, в том числе и в активированных Т-лимфоцитах и Т-регуляторных клетках. При взаимодействии TCR и комплекса «МНС II + антитело» антигенпрезентирующей клетки LAG3 блокирует взаимодействие CD4 с МНС класса II, что приводит к подавлению активирующего сигнала лимфоциту.

Логично предположить, что наряду с многочисленными ингибиторами противоопухолевого иммунного цикла существуют и его активаторы – агонисты.

Антитела – агонисты к 4-1BB. Одна из наиболее изученных молекул данного семейства – 4-1BB (CD137, tumor necrosis factor receptor superfamily, member 9), экспрессируемая на поверхности Т-лимфоцитов, NK-клеток и моноцитов. Стимуляция Т-клеток с помощью специфического лиганда, 4-1BBL, синтезируемого антигенпрезентирующими клетками, через каскад реакций и регуляторов приводит к уменьшению частоты апоптоза лимфоцитов. Доклинические исследования показали противоопухолевый эффект антител – агонистов 4-1BB как в условиях монотерапии, так и в комбинации с различными видами иммунотерапии [5].

Адаптивная клеточная терапия построена на идее применения активированных различными способами иммунных клеток. Основные методики получения компетентных противоопухолевых клеток в настоящее время – это отбор и размножение *ex vivo* лимфоцитов, инфильтрировавших опухоль (TIL), и дополнительная модификация лимфоцитов с помощью генных технологий привнесения субъединиц TCR или химерного антигенного рецептора (CAR) в Т-клетки (CAR-T). Вероятно, самой перспективной на данный момент является именно последняя методика. В июле 2017 г. FDA одобрило применение CAR-T терапии для лечения острого лимфобластного лейкоза у пациентов с 3 до 25 лет¹.

Иммунотерапия онкологических заболеваний за последнее десятилетие доказала свою эффективность во множестве клинических исследований. К сожалению, ни одно из этих лекарств, скорее всего, не станет «серебряной пулей» для всего спектра онкологических заболеваний. Для грамотного выбора тактики лечения, способного подарить пациенту дополнительные годы жизни и уберечь от ненужных трат

времени и средств на заведомо неработающую терапию, требуются способы предсказания их эффективности, применяемые индивидуально для каждого пациента. Таким образом, ключевой парадигмой развития онкоиммунологии должна стать прецизионная, предсказательная медицина, построенная на сочетании новейших методов молекулярно-генетической диагностики, биоинформатики и клинической медицины. По нашему мнению, только такая комбинация позволит подбирать оптимальное лечение для пациента на основе уникальных свойств его организма, злокачественной опухоли и ее микроокружения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tsarev I. L., Melerzanov A. V. Review of approaches to immunotherapy in oncology. *Research and practice in medicine*. 2017;4(3):51–65. (In Russ.) DOI: 10.17709/2409-2231-2017-4-3-5.
2. Kakimi K., Karasaki T., Matsushita H., Sugie T. Advances in personalized cancer immunotherapy. *Breast Cancer*. 2017;24(1):16–24. DOI: 10.1007/s12282-016-0688-1.
3. Kroemer G., Galluzzi L., Kepp O., Zitvogel L. Immunogenic Cell Death in Cancer Therapy. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:51–72. DOI: 10.1146/annurev-immunol032712-100008.
4. Cerundolo V., Hermans I. F., Salio M. Dendritic cells: a journey from laboratory to clinic. *Nat Immunol*. 2004;5(1):7–10. DOI: 10.1038/ni0104-7.
5. Curran M. A., Kim M., Montalvo W., Al-Shamkhani A., Allison J. P. Combination CTLA-4 blockade and 4-1BB activation enhances tumor rejection by increasing T-cell infiltration, proliferation, and cytokine production. *PLoS One*. 2011;6(4):e19499. DOI: 10.1371/journal.pone.0019499.

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ОРИГИНАЛЬНОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ЦИФЕТРИЛИН

Е. А. Панкратова¹, Г. М. Родионова¹,
З. С. Шпрах²

¹ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Минздрава России (НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина) 115478, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24

DEVELOPMENT OF QUALITY CONTROL METHODS FOR THE LIPOSOMAL DOSAGE FORM OF THE ORIGINAL DOMESTIC DRUG CIFETRILIN

Elizaveta A Pankratova¹, Galina M. Rodionova¹,
Zoya S. Shprakh²

¹ I. M. Sechenov First MSU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

² FSBI "National Medical Research Center of Oncology. N. N. Blokhin", 24, Kashirskoe highway, Moscow, 115478, Russia

Работа выполнена как дипломная на базе НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей (НИИ ЭДито) «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России.

Нейроэндокринные опухоли – патология, характеризующаяся нарушениями работы гипофиза и желез внутренней секреции. Заболеваемость данной патологией неуклонно растет [1]. Прогноз выживаемости зависит от стадии заболевания, на которой был обнаружен злокачественный рост. Основу лекарственной терапии при нейроэндокринных опухолях составляют аналоги соматостатина.

В 2014 году в НИИ ЭДТО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России была синтезирована субстанция оригинального лекарственного средства цифетрилин [2]. Аналог гипоталамического фактора соматостатина замедляет рост клеток опухолей за счет связывания с рецепторами соматостатина SSTRs 1–5. Препараты фармакологической группы аналогов соматостатина используются в терапии нейроэндокринных опухолей различной локализации, прежде всего, ЖКТ и бронхолегочной системы.

Цифетрилин представляет собой пентапептид, метиловый эфир α -трет-бутилоксикарбонил-S-тетрагидропиранил-L-цистеинил-L-фенилаланил-D-триптофил- α -карбобензоксид-L-лизил-L-треонина (рисунок 1). Карбоксильные функциональные группы молекулы защищены переводением в метиловый эфир по реакции этерификации [2], обеспечивая большую стабильность соединения.

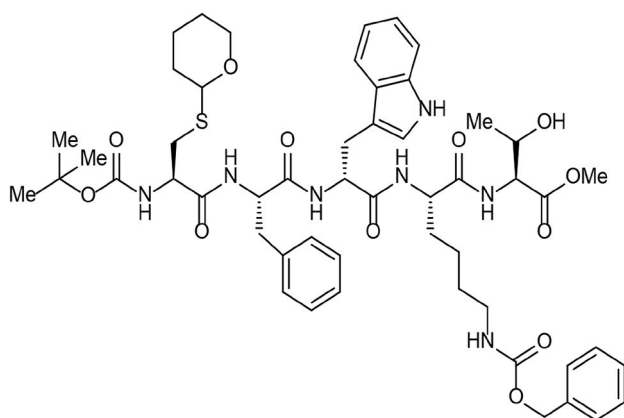


Рисунок 1. Цифетрилин

Figure 1. Cyfetridine

В связи с тем, что молекула цифетрилина гидрофобна, на основе синтезированной субстанции в лаборатории разработки лекарственных форм НИИ ЭДТО была создана пероральная лекарственная форма «Цифетрилин таблетки 6 мг», которая в настоящее время уже прошла 1 фазу клинических исследований у пациентов с нейроэндокринными опухолями [3–5].

С целью повышения биодоступности цифетрилина, возможности его парентерального введения, что приведет к повышению эффективности и снижению

побочных эффектов терапии, в НИИ ЭДТО разработан инъецируемая липосомальная лекарственная форма цифетрилина [6, 7]. Кроме активного компонента, липосомы включают следующие вспомогательные вещества (ВВ): сахароза (ООО ТД «ХИММЕД», Россия), соевый фосфатидилхолин (СФХ) S PC $\geq 98\%$ (Lipoid GmbH, Германия), холестерин $\geq 99\%$ (Sigma-Aldrich, Япония), полиэтиленгликоль-2000-дистеароил-фосфатидилэтанолламин (ПЭГ-2000-ДСФЭ) 18:0/18:0 (Lipoid GmbH, Германия).

Цель исследования: разработка методики контроля качества липосомальной лекарственной формы оригинального аналога соматостатина цифетрилина и применение ее для оценки однородности дозирования, а также стабильности липосомальной лекарственной формы цифетрилина при хранении.

Материалы и методы

Разработку методики количественного определения цифетрилина в липосомальной форме осуществляли методом УФ-спектрофотометрии¹ на спектрофотометре Cary 100 (Varian, Inc., США). Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы STATISTICA 10 (MS Excel, SPSS) (StatSoft Inc., США).

Разработка методики количественного определения цифетрилина в липосомальной форме

Дизайн разработки методики количественного определения активного ингредиента в лекарственной форме включал экспериментальное изучение спектров поглощения активного ингредиента и ВВ, выбор концентрации растворов и длины волны, при которой следует проводить измерение.

УФ-спектр раствора цифетрилина в 95%-м спирте имеет несколько максимумов поглощения. Наибольшее значение удельного показателя поглощения регистрируется при длине волны 282 ± 2 нм, то есть данный максимум имеет аналитическое значение. На рисунке 2 приведен спектр поглощения спиртового раствора цифетрилина.

Максимум поглощения в спектре раствора липосомальной лекарственной формы, не содержащей активного ингредиента (спектр раствора ненагруженных липосом), наблюдали при длине волны 283 нм (рисунок 3), что практически совпадает с максимумом цифетрилина. Следовательно, проводить измерение оптической плотности следует относительно раствора ненагруженных липосом, что делает методику специфичной в отношении цифетрилина.

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. Доступно по: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 31.03.2023.

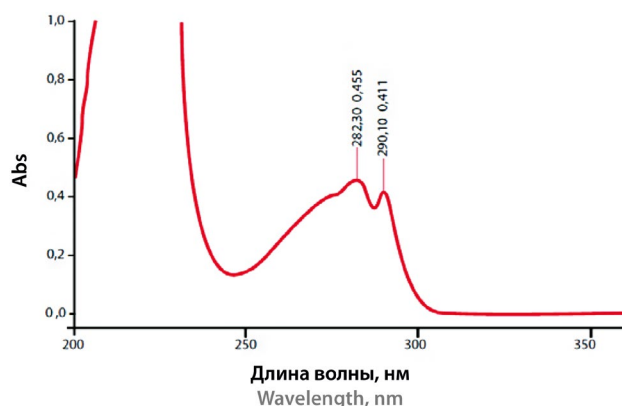


Рисунок 2. Спектр поглощения цифетрилина

Figure 2. Absorption spectrum of ceftriaxone

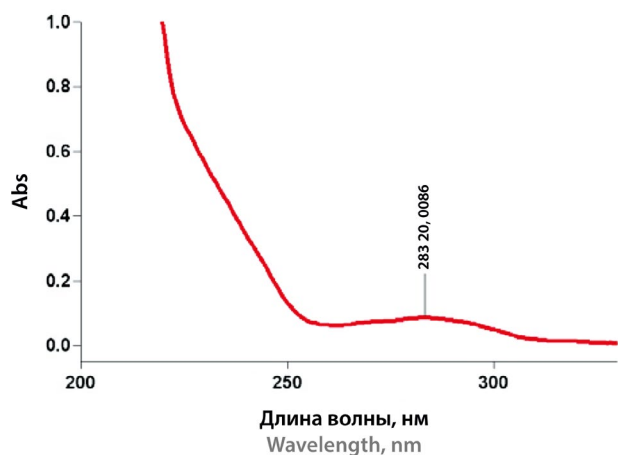


Рисунок 3. Спектр поглощения липосомальной лекарственной формы без добавления активного ингредиента

Figure 3. Absorption spectrum of a liposomal dosage form without active ingredient addition

Количественное определение цифетрилина в липосомальной лекарственной форме проводили методом спектрофотометрии¹. Для снижения систематических и случайных ошибок в методику введен способ расчета по стандартному образцу (СО).

В качестве испытуемого раствора использовали спиртовой раствор липосомальной лекарственной формы цифетрилина, СО – субстанцию цифетрилина с установленным количественным содержанием действующего вещества, раствора сравнения – спиртовой раствор ненагруженных липосом.

Методика

Испытуемый раствор. Липосомальную дисперсию цифетрилина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 6 мл воды очищенной,

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. Доступно по: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 31.03.2023.

встряхивают в течение 2 минут, прибавляют 50 мл спирта 95%-го, встряхивают до полного растворения. Доводят объем раствора до метки спиртом 95%-м и энергично встряхивают в течение 10 минут. Раствор используют свежеприготовленным.

Раствор стандартного образца. Около 6 мг (точная навеска) СО цифетрилина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 2 мл воды очищенной и 3 мл спирта 95%-го, взбалтывают в течение 30 мин или обрабатывают ультразвуком и доводят объем раствора спиртом 95%-м до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

Раствор сравнения. Дисперсию ненагруженных липосом помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 6 мл воды очищенной, встряхивают в течение 2 минут, прибавляют 50 мл спирта 95%-го, встряхивают до полного растворения. Доводят объем раствора спиртом 95%-м и энергично встряхивают в течение 10 минут. Раствор используют свежеприготовленным.

Измеряли оптическую плотность испытуемого раствора и раствора СО цифетрилина на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны (282 ± 2) нм в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

На рисунке 4 приведен спектр поглощения раствора липосомальной лекарственной формы цифетрилина, полученный по данной методике.

Содержание цифетрилина (X , мг/мл) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(A - A_{\text{сп.}}) \cdot a_0 \cdot 100}{A_0 \cdot 50},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора СО цифетрилина; $A_{\text{сп.}}$ – оптическая плотность раствора ненагруженных липосом; a_0 – навеска СО цифетрилина, мг.

Результаты количественного определения цифетрилина в липосомальной лекарственной форме представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты количественного определения цифетрилина в липосомальной лекарственной форме

Table 1. The results of the quantitative determination of ceftriaxone in a liposomal dosage form

№ образца лекарственной формы Dosage form sample number	Оптическая плотность, A Optical density, A	Содержание цифетрилина, мг/мл Content of ceftriaxone, mg/ml
1	0,544	6,33
2	0,545	6,34
3	0,547	6,38
4	0,542	6,29
5	0,545	6,34
6	0,549	6,41

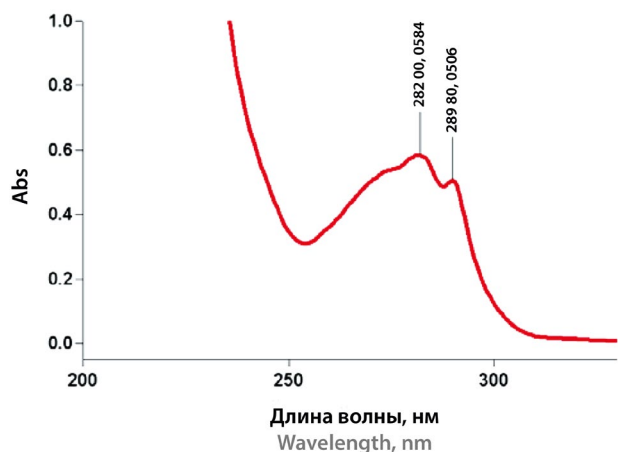


Рисунок 4. Спектр поглощения липосомальной лекарственной формы цифетрилина

Figure 4. Absorption spectrum of a liposomal dosage form of ceftriaxone

Определение однородности дозирования цифетрилина в липосомальной лекарственной форме методом спектрофотометрии

Для получения более стабильной в хранении ЛФ липосомальная дисперсия была лиофилизирована.

Для лиофилизированной липосомальной лекарственной формы цифетрилина проводили определение однородности дозирования в соответствии с ОФС.1.4.2.0008.15 «Однородность дозирования» методом спектрофотометрии, способ 1 в условиях испытания «Количественное определение»¹.

От испытуемой серии препарата отбирали случайным образом пробу в количестве 30 единиц, из них в произвольном порядке отбирали 10 единиц для проведения первого этапа испытания. Оставшиеся 20 единиц лекарственной формы сохраняли для проведения второго этапа испытания в случае несоответствия результатов требованиям показателей приемлемости.

Измеряли оптическую плотность 10 образцов порознь испытуемого раствора и раствора СО цифетрилина на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны (282 ± 2) нм в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм. Параллельно проводили определение раствора СО цифетрилина относительно раствора сравнения (в условиях испытания «Количественное определение»).

Содержание действующего вещества в каждой единице испытуемого препарата, выраженное в процентах от номинального значения, обозначали как величину A :

$$A = \frac{B}{L} \cdot 100,$$

где B – содержание цифетрилина в единице испытуемого препарата, полученное как указано в разделе «Количественное определение»; L – номинальное содержание цифетрилина в единице испытуемого препарата.

Для каждой из 10 отобранных единиц испытуемого препарата ($n = 10$) определяли массу по разности масс заполненной и полностью опорожненной упаковки с точностью взвешивания $\pm 0,0002$ г. С использованием полученных результатов в каждой из 10 единиц препарата вычисляют содержание действующего вещества в процентах (x_i) от номинального значения.

Вычисление показателей приемлемости проводили в соответствии с Государственной Фармакопеей Российской Федерации XIV издания². Для полученной совокупности значений x_i рассчитали величины среднего арифметического ($\bar{x}_{cp.}$) и стандартного отклонения (S). Соответственно, найденной величине $\bar{x}_{cp.}$ выбрали эталонное значение дозы (M) и рассчитали значения первого (AV) и при необходимости второго ($|M - x_i|_{\max}$) показателей приемлемости результатов испытания на «однородность дозирования». В таблице 2 приведены результаты исследования однородности дозирования и значения показателей приемлемости.

Результат испытания на однородность дозирования можно признать удовлетворительным, поскольку при $n = 10$ первый показатель приемлемости $AV \leq L1$ и для величин x_i выполняется условие $|M - x_i| \leq 0,01 \cdot L2 \cdot M$.

Изучение стабильности лиофилизированной липосомальной лекарственной формы цифетрилина при хранении

Для изучения сохранности лиофилизированной липосомальной лекарственной формы цифетрилина проводили ее исследования в процессе хранения в сухом, защищенном от света месте при температуре -18°C . Испытание проводили на одной серии образцов в день производства серии через 6 и 12 месяцев хранения.

Содержание цифетрилина в лиофилизированной липосомальной лекарственной форме непосредственно после получения составило 6,18 мг во флаконе. Через 6 месяцев хранения показания не изменились. Через 12 месяцев хранения при количественном определении цифетрилина в единице лекарст-

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. Доступно по: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 31.03.2023.

² Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. Доступно по: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 31.03.2023.

Таблица 2. Результаты исследования однородности дозирования
Table 2. Results of Dosing Uniformity Study

n	x _i , мг	w _i , мг	x _i , %	S	A	k	X, %	M	AV	L1
1	6,99	729,85	115,21	1,09	116,50	2,4	113,77	101,5	14,90	15
2	7,00	728,68	115,19		116,67					
3	6,70	746,80	112,99		111,67					
4	7,04	722,12	114,80		117,33					
5	6,39	779,88	112,54		106,50					
6	6,95	729,41	114,48		115,83					
7	6,98	716,23	112,89		116,33					
8	7,08	713,46	114,07		118,00					
9	6,61	754,87	112,68		110,17					
10	6,58	759,21	112,81		109,67					

венной формы отмечено существенное и достоверное возрастание оптической плотности испытуемого раствора в максимуме поглощения при аналитической длине волны (282 ± 2) нм. Одновременно наблюдали возрастание оптической плотности раствора ненагруженных липосом, которые хранились в таких же условиях (таблица 3).

Таблица 3. Результаты анализа липосомальной лекарственной формы цифетрилина по показателю «Количественное определение при хранении»

Table 3. The results of the analysis of the liposomal dosage form of cimetidine in terms «Quantitative determination during storage»

Серия Series	Оптическая плотность испытуемого раствора, A Optical density of the test solution, A		Оптическая плотность раствора ненагруженных липосом, A Optical density of the unloaded liposomes solution, A	
	0	12 месяцев 12 months	0	12 месяцев 12 months
c.030321	0,457	0,596	0,085	0,170
c.050421	0,458	0,540		
c.060421	0,451	0,544		

Полученные данные свидетельствуют о том, что в процессе хранения в предложенных условиях происходят изменения физико-химических свойств лиофилизированной липосомальной лекарственной формы цифетрилина из-за деструкции ВВ, входящих в ее состав.

Следует отметить, что исследования фармацевтической субстанции показали, что цифетрилин при хранении в сухом защищенном от света месте при

температуре не выше 8 °С (холодильная камера), то есть при значительно более высокой температуре, выдерживает хранение практически без изменений в течение трех лет [2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика количественного определения цифетрилина в липосомальной лекарственной форме – спектрофотометрия в ультрафиолетовой области спектра.

Проведено исследование однородности дозирования цифетрилина в лабораторных образцах лиофилизированного лекарственного средства, получены результаты, удовлетворяющие требованиям Государственной фармакопеи и нормативной документации.

Проведенное исследование стабильности лиофилизированной липосомальной лекарственной формы цифетрилина при хранении в течение 6 и 12 месяцев показало необходимость совершенствования состава вспомогательных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Stueven A. K., Kayser A., Wetz C., Amthauer H., Wree A., Tacke F., Wiedenmann B., Roderburg C., Jann H. Somatostatin analogues in the treatment of neuroendocrine tumors: past, present and future. *Int J Mol Sci.* 2019;20(12):3049. DOI: 10.3390/ijms20123049.

2. Шпрах З. С., Ярцева И. В., Игнатьева Е. В., Смирнова А. П., Сушнина Л. П., Устинкина С. В., Смирнова Л. И., Будько А. П., Зимакова Н. И. Синтез и химико-фармацевтические характеристики аналога соматостатина, обладающего противоопухолевой активностью. *Химико-фармацевтический журнал.* 2014;48(3):19–22.

3. Коняева О. И., Кульбачевская Н. Ю., Ермакова Н. П., Чалей В. А., Меркулова И. Б., Абрамова Т. В., Бухман В. М., Шпрах З. С. Предклиническое токсикологическое изучение аналога гипоталамического гормона цифетрилина. *Российский биотерапевтический журнал.* 2018;17(2):63–70.

4. Шпрах З. С., Борисова Л. М., Киселева М. П., Смирнова З. С. Доклиническое изучение противоопухолевой активности Цифетрелина на экспериментальных опухолях животных. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2019;82(8):27–31.
5. Шпрах З. С., Игнатьева Е. В., Ярцева И. В., Дмитричева Н. А., Смирнова Л. И. Разработка и валидация методики количественного определения цифетрелина в таблетках. *Российский биотерапевтический журнал*. 2016;15(3):55–61.
6. Dmitrieva M., Shprakh Z., Orlova O., Ignatyeva E., Lantsova A., Nikolaeva L., Krasniuk I. Selection of the composition of a liposomal dosage form of a russian somatostatin analogue with antitumor activity. *Inter J Appl Pharm*. 2020;12(6):65–68. DOI: 10.22159/ijap.2020v12i6.39253.
7. Sanarova E., Lantsova A., Oborotova N., Polozkova A., Dmitrieva M., Orlova O., Nikolaeva L., Borisova L., Shprakh Z. Development of a liposomal dosage form for a new somatostatin analogue. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019;81(1):146–149.
- Synthesis and chemical-pharmaceutical characteristics of somatostatin analog with antitumor activity. *Chemical-pharmaceutical journal*. 2014;48(3):19–22. (In Russ.)
3. Konyaeva O. I., Kulbachevskaya N. Yu., Ermakova N. P., Chaley V. A., Merkulova I. B., Abramova T. V., Bukhman V. M., Shprakh Z. S. Pre-clinical toxicological study of the analogue of the hypothalamic hormone cyfetriline. *Russian Journal of Biotherapy*. 2018;17(2):63–70. (In Russ.)
4. Shprakh Z. S., Borisova L. M., Kiseleva M. P., Sмирнова З. С. Pre-clinical study of the antitumor activity of Cifetrelina on experimental animal tumors. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2019;82(8):27–31. (In Russ.)
5. Shprakh Z. S., Ignatieva E. V., Yartseva I. V., Dmitricheva N. A., Sмирнова Л. И. Development and validation of a method for the quantitative determination of cyfetrelin in tablets. *Russian Journal of Biotherapy*. 2016;15(3):55–61. (In Russ.)
6. Dmitrieva M., Shprakh Z., Orlova O., Ignatyeva E., Lantsova A., Nikolaeva L., Krasniuk I. Selection of the composition of a liposomal dosage form of a russian somatostatin analogue with antitumor activity. *Inter J Appl Pharm*. 2020;12(6):65–68. DOI: 10.22159/ijap.2020v12i6.39253.
7. Sanarova E., Lantsova A., Oborotova N., Polozkova A., Dmitrieva M., Orlova O., Nikolaeva L., Borisova L., Shprakh Z. Development of a liposomal dosage form for a new somatostatin analogue. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019;81(1):146–149.

REFERENCES