

DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-16-21
УДК 615.074

Изучение десорбции и высвобождения терпено-индольных алкалоидов винкристина и винбластина из эритроцитарных клеточных носителей

О. В. Тринева^{1*}, А. Д. Халахакун¹

¹ – ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», 394006, Россия, Воронеж, Университетская пл., 1

*Контактное лицо: Тринева Ольга Валерьевна. E-mail: trineevaov@mail.ru

Статья получена: 31.01.2018. Статья принята к печати: 26.04.2019

Резюме

Введение. Сотрудниками кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии были получены модифицированные формы известных в терапии онкологических заболеваний терпено-индольных алкалоидов (ТИА) – винкристина (VCR) и винбластина (VBL) путем их включения в эритроцитарные носители (ЭН) модифицированным методом гипосмотического лизиса в модифицированной (апротонный растворитель – диметилсульфоксид (ДМСО) и полиэтиленгликоль (ПЭГ 4000) и немодифицированной средах.

Цель. Целью работы являлось изучение десорбции и высвобождения ТИА – VCR и VBL из ранее полученных клеточных ЭН.

Материалы и методы. В проведенном эксперименте определены характеристики высвобождения инкапсулированных препаратов из эритроцитов. Установлено, что в течение 6 ч *in vitro* высвобождается ТИА-препаратов из эритроцитарной формы: VCR – 54,5305%, VCR : ПЭГ-4000 (1:5) – 53,3305%, VCR : PEG-4000 (1:10) – 40,1283%, VCR : ПЭГ-4000 (1:20) – 39,9869%, VCR : ДМСО (2 мг/мл) – 54,2354%, VBL – 68,0656%; VBL : PEG-4000 (1:10) – 63,8941%; VBL : PEG-4000 (1:20) – 60,7455%; VBL : PEG-400 (1:20) – 60,3529%; VBL : ДМСО (2 мг/мл) – 64,5006%. Скорость высвобождения из эритроцитарной формы, инкапсулированной в среде, модифицированной ДМСО, значительно выше, чем инкапсулированных в немодифицированной среде. Средняя скорость высвобождения ТИА из эритроцитарных форм, инкапсулированных в среде ПЭГ приблизительно одинакова.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты показывают, что высвобождение гемоглобина из ТИА инкапсулированных эритроцитов по сравнению с неинкапсулированными ЭН невелико. Полученные результаты показывают, что из ТИА инкапсулированных ЭН, в среднем, высвобождается $8,242 \pm 0,3135\%$ гемоглобина по сравнению с контрольными эритроцитами – 7,53% после 6 ч инкубирования при 37 °С. Выделения же гемоглобина из ТИА инкапсулированных эритроцитов в модифицированных средах меньше, чем инкапсулированных в немодифицированной среде.

Заключение. На основе этих результатов можно сделать предложение, что ПЭГ может связываться с эритроцитарной мембраной и стабилизировать ее.

Ключевые слова: винкрестин, винбластин, клеточные формы противоопухолевых препаратов, адресные системы доставки лекарственных веществ.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Для цитирования: Тринева О. В., Халахакун А. Д. Изучение десорбции и высвобождения терпено-индольных алкалоидов винкристина и винбластина из эритроцитарных клеточных носителей. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019; 8(2): 16–21.

Study of Desorption and Exemption of Terpeno-indole Alkaloids of Vinkristin and Vinblastin from Erythrocytic Cell Carriers

О. В. Trineeva^{1*}, A. D. Khalahakun¹

¹ – Voronezh State University, 1, University Square, Voronezh, 394006, Russia

*Corresponding author: Olga V. Trineeva. E-mail: trineevaov@mail.ru

Received: 31.01.2018. Accepted: 26.04.2019

Abstract

Introduction. Employees of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology have obtained modified forms of terpeno-indole alkaloids (TIA) and vincristine (VCR) and vinblastine (VBL) known in the treatment of cancer diseases by incorporating them into the erythrocyte carriers (EN) by the modified method of hypoosmotic lysis in the modified (aprotic solvent dimethyl sulfoxide (DMSO) and polyethylene glycol (PEG 4000) and unmodified media.

Aim. The aim of the work was to study the desorption and release of terpene-indole vincristine and vinblastine alkaloids from previously obtained cellular erythrocyte carriers.

Materials and methods. In the experiment performed, the release characteristics of encapsulated preparations from erythrocytes were determined. TIA preparations were released from erythrocyte form in 6 hours: VCR – 54.5305%, VCR : PEG-4000 (1:5) – 53.3305%, VCR : PEG-4000 (1:10) – 40.1283%, VCR : PEG-4000 (1:20) – 39.9869%, VCR : DMSO (2 mg/ml) – 54.2354%, VBL – 68.0656%; VBL : PEG-4000 (1:10) – 63.8941%; VBL : PEG-4000 (1:20) – 60.7455%; VBL : PEG-400 (1:20) – 60.3529%; VBL : DMSO (2 mg/ml) – 64.5006%. The rate of release from an erythrocyte form encapsulated in a medium modified with DMSO is significantly higher than that encapsulated in an unmodified medium. The average rate of TIA release from erythrocyte forms encapsulated in PEG medium is approximately the same.

Results and discussion. The results show that the release of hemoglobin from TIA encapsulated erythrocytes compared with non-encapsulated EN is small. The results show that, on average, $8.242 \pm 0.3135\%$ of hemoglobin is released from TIA encapsulated with EN, compared to control erythrocytes – 7.53% after 6 h of incubation at 37 °C. The release of hemoglobin from the TIA of encapsulated erythrocytes in modified media is less than that encapsulated in unmodified medium.

Conclusion. Based on these results, it can be suggested that PEG can bind to the erythrocyte membrane and stabilize it.

Keywords: vincristine, vinblastine, cellular forms of antitumor drugs, targeted drug delivery systems.

Conflict of interest: no conflict of interest.

For citation: Trineeva O. V., Khalahakun A. D. Study of desorption and exemption of terpeno-indole alkaloids of vinkristin and vinblastin from erythrocytic cell carriers. *Drug development & registration*. 2019; 8(2): 16–21.

ВВЕДЕНИЕ

Сотрудниками кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии были получены модифицированные формы известных в терапии онкологических заболеваний терпено-индольных алкалоидов (ТИА) – винкристина (VCR) и винбластина (VBL) путем их включения в эритроцитарные носители (ЭН) [1]. Для получения эритроцитарной клеточной формы VCR и VBL использовали модифицированный метод гипосмотического лизиса. При этом получали ЭН с загруженными ТИА препаратами. «Загрузку» эритроцитов ТИА проводили также при наличии в среде инкубации модифицирующих агентов: апротонного растворителя – диметилсульфоксида (ДМСО) и полиэтиленгликоля (ПЭГ 4000). Данный способ модификации позволяет решить одновременно проблемы направленного транспорта данных эффективных противоопухолевых препаратов и снижения частоты и силы побочных эффектов, а, следовательно, и увеличения комплаентности больных к назначенному лечению [2–31].

На эффективность загрузки эритроцитов может влиять внутреннее осмотическое давление и внешняя среда эритроцитов. Создание большого переходного осмотического градиента через мембрану эритроцитов может влиять на эффективность инкапсулирования молекулы внутри эритроцитов [7–31]. Рассмотрена возможность применения ПЭГ и ДМСО для создания высокого осмотического градиента через мембрану эритроцитов. ПЭГ препятствует агрегации эритроцитов и обладает свойством скрывать эпитопы антигенов мембраны клеток. Также ПЭГ обеспечивает надежную защиту от воздействия экстремальных факторов окружающей среды и минимизирует повреждения клеточных мембран. ДМСО является апротонным растворителем и применяется в осмотическом импульсном методе загрузки для создания большого переходного осмотического градиента через мембрану эритроцитов [7–31]. В данном эксперименте применяли ДМСО для создания высокой осмотической градиенты в инкубирующей среде.

Цель работы – изучение десорбции и высвобождения терпено-индольных алкалоидов винкристина и винбластина из ранее полученных клеточных эритроцитарных носителей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения устойчивости клеточных носителей к возможной десорбции и высвобождению ТИА, а также к выделению гемоглобина в кровеносном русле были проведены следующие исследования. ЭН с включенными VCR и VBL по описанной ранее методике [1] дважды отмывали изотоническим раствором натрия хлорида, а затем инкубировали в аутологичной плазме или изотоническом буфере при 37 °С в течение 5 мин, 10 мин, 20 мин, 40 мин, 60 мин, 120 мин, 240 мин, 360 мин. После периода каждой инкубации центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 мин, и собирали определенное количество супернатанта (8,0 мл) для анализа. Содержание ТИА препаратов в супернатанте определялось спектрофотометрически по ранее разработанной методике [32].

Содержание гемоглобина определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 540 нм. В качестве контрольной пробы применяли изолированные эритроциты, инкубированные в Na-фосфатном буферном растворе с pH=7,4 при 37 °С. Выделение гемоглобина (%) из эритроцитарной формы учитывали по отношению к содержанию гемоглобина в контрольной пробе. К 1,0 мл изолированных эритроцитов добавляли 9,0 мл воды очищенной и проводили полный гемолиз. Полученные данные гемолизата (оптические плотности) считали 100% выделением гемоглобина.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристики высвобождения VCR из инкапсулированных эритроцитов. Количественное содержание VCR определяли валидированным аналитическим методом [32]. При высокой концентрации ТИА в анализируемой пробе, для получения более достоверного результата, пробы разбавляли очищенной водой, таким образом, чтобы оптическая плотность разбавленного раствора находилась в диапазоне 0,2–0,8. Полученные результаты высвобождения VCR из инкапсулированных эритроцитов представлены в таблицах 1–3 и на рисунке 1.

Таблица 1. Общее количество высвободившегося VCR из различных эритроцитарных форм *in vitro*

Table 1. The total number of released VCR from various erythrocyte forms *in vitro*

Время инкубации (t), мин	Общее количество высвобожденного VCR				
	M (VCR), мкг*	M (VCR : PEG 4000 – 1:5), мкг*	M (VCR : PEG 4000 – 1:10), мкг*	M (VCR : PEG 4000 – 1:20), мкг*	M (VCR : ДМСО – 2 мг/мл), мкг*
5	8,15	32,38	24,14	28,54	26,56
10	47,60	64,69	55,95	59,76	100,49
20	100,46	104,82	93,78	104,77	178,64
40	232,79	198,24	136,62	158,87	260,71
60	396,24	360,79	282,15	256,77	347,52
120	443,22	444,57	366,28	376,88	518,99
240	507,46	540,43	463,97	512,69	660,70
360	569,93	635,00	593,66	591,57	747,01

Примечание. * – среднее значение.

Note. * – average value.

Характеристики высвобождения VBL из инкапсулированных эритроцитов. Полученные результаты высвобождения VBL из инкапсулированных эритроцитов представлены в таблицах 3–5 и на рисунках 2 и 3.

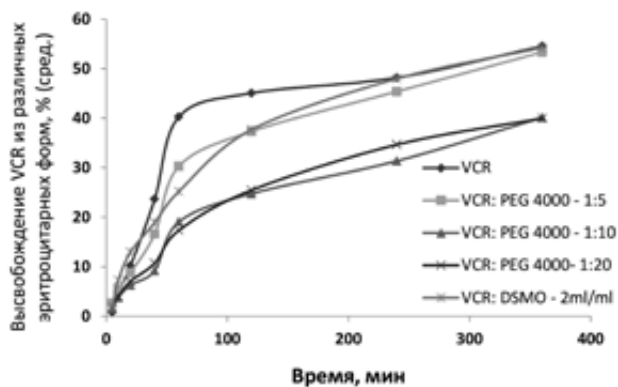


Рисунок 1. График высвобождения VCR из различных эритроцитарных форм *in vitro*

Figure 1. Schedule of VCR release from various erythrocyte forms *in vitro*

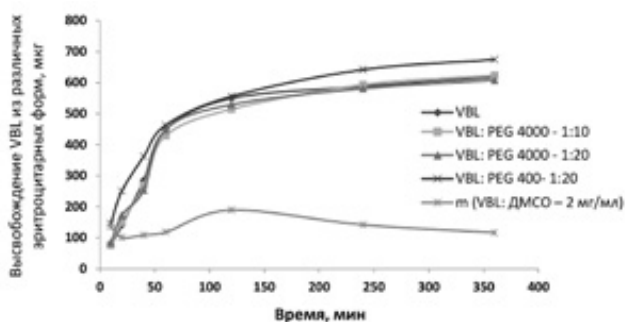


Рисунок 2. График высвобождения общего количества VBL из различных эритроцитарных форм *in vitro*

Figure 2. Schedule of the release of the total number of VBL from various erythrocyte forms *in vitro*

Таблица 2. Общее количество высвободившегося VCR из различных эритроцитарных форм *in vitro*, (%)

Table 2. Total VCR Release from various erythrocyte forms *in vitro*, (%)

Время инкубации (t), мин	Общее количество высвободившегося VCR				
	VCR, %*	VCR : PEG 4000 – 1:5, %*	VCR : PEG 4000 – 1:10, %*	VCR : PEG 4000 – 1:20, %*	VCR : ДМСО – 2 мг/мл, %*
5	0,83	2,72	1,63	1,93	1,93
10	4,84	5,43	3,78	4,04	7,30
20	10,22	8,80	6,34	7,08	12,97
40	23,67	16,65	9,23	10,74	18,93
60	40,29	30,30	19,07	17,36	25,23
120	45,07	37,34	24,76	25,48	37,68
240	48,18	45,39	31,36	34,66	47,97
360	54,53	53,33	40,13	39,99	54,24

Примечание. * – среднее значение.

Note. * – average value.

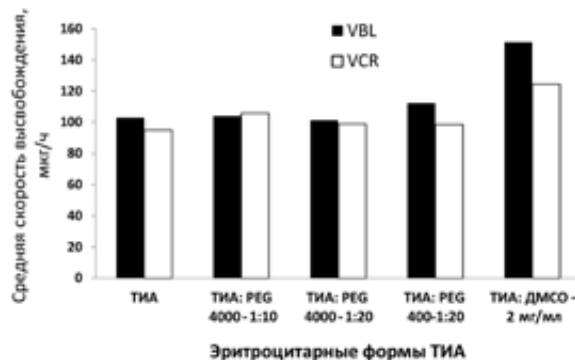


Рисунок 3. Средняя скорость высвобождения ТИА препаратов из инкапсулированных ЭН

Figure 3. The average rate of release of TIA preparations from encapsulated EN

Таблица 3. Общее количество высвободившегося VBL из различных эритроцитарных форм *in vitro*

Table 3. The total number of released VBL from various erythrocyte forms *in vitro*

Время инкубации (t), мин	Общее количество высвободившегося VBL				
	M (VBL), мкг*	M (VBL : PEG 4000 – 1:10), мкг*	M (VBL : PEG 4000 – 1:20), мкг*	M (VBL : PEG 400 – 1:20), мкг*	M (VBL : ДМСО – 2 мг/мл), мкг*
10	75,31	76,62	83,70	146,44	135,10
20	140,22	149,20	171,68	250,18	235,62
40	284,45	268,47	253,34	362,10	343,81
60	448,85	429,10	448,42	462,87	461,46
120	549,33	514,46	529,08	555,72	650,40
240	588,15	593,25	580,97	641,69	792,04
360	617,83	623,59	607,84	674,23	908,24

Примечание. * – среднее значение.

Note. * – average value.

Таблица 4. Общее количество высвободившегося VBL из различных эритроцитарных форм *in vitro* (%)

Table 4. The total number of released VBL from various erythrocyte forms *in vitro* (%)

Время инкубации (t), мин	Общее количество высвободившегося VBL				
	VBL, %*	VBL : PEG 4000 – 1:10, %*	VBL : PEG 4000 – 1:20, %*	VBL : PEG 400 – 1:20, %*	VBL : ДМСО – 2 мг/мл, %*
10	8,30	6,70	8,36	11,59	9,59
20	15,45	13,04	17,16	19,80	16,73
40	31,34	23,47	25,32	28,66	24,42
60	49,45	37,50	44,81	36,63	32,77
120	60,52	44,70	52,87	43,98	46,19
240	64,80	51,85	58,06	50,78	56,25
360	68,07	63,89	60,75	60,35	64,50

Примечание. * – среднее значение.

Note. * – average value.

Таблица 5. Скорость высвобождения ТИА препаратов из инкапсулированных ЭН

Table 5. The rate of release of TIA drugs from encapsulated EN

Метод получения иммобилизованной эритроцитарной формы	Общее количество высвободившегося препарата в течение 6 ч (мкг)*	Средняя скорость высвобождения препарата	
		мкг/мин	мкг/ч
VCR	569,93	1,58	94,99
VCR : PEG 4000 – 1:5	635,00	1,76	105,83
VCR : PEG 4000 – 1:10	593,66	1,65	98,94
VCR : PEG 4000 – 1:20	591,57	1,64	98,59
VCR : ДМСО – 2 мг/мл	747,01	2,08	124,50
VLB	617,83	1,72	102,97
VLB : PEG 4000 – 1:10	623,59	1,73	103,93
VLB : PEG 4000 – 1:20	607,84	1,69	101,31
VLB : PEG 400 – 1:20	674,23	1,87	112,37
VLB : ДМСО – 2 мг/мл	908,24	2,52	151,37

Примечание. * – среднее значение.

Note. * - average value.

Изучение условий высвобождения гемоглобина из ТИА загруженных эритроцитов. Высвобождение гемоглобина из эритроцитов после 6 ч инкубации при 37 °С представлено на рисунке 4.

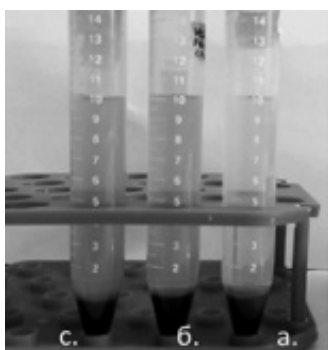


Рисунок 4. Высвобождение гемоглобина после 6 ч инкубации при 37 °С:

а – контрольная проба; б – VCR инкапсулированные эритроциты; в – VBL инкапсулированные эритроциты

Figure 4. Hemoglobin release after 6 hours of incubation at 37 °C:

а – control sample; б – VCR encapsulated red blood cells; в – VBL encapsulated red blood cells

Изучение условий высвобождения гемоглобина из ТИА загруженных эритроцитов

Полученные результаты высвобождения гемоглобина из инкапсулированных эритроцитов представлены в таблице 6 и на рисунке 5.

Полученные результаты показывают, что высвобождение гемоглобина из ТИА инкапсулированных эритроцитов по сравнению с неинкапсулиро-

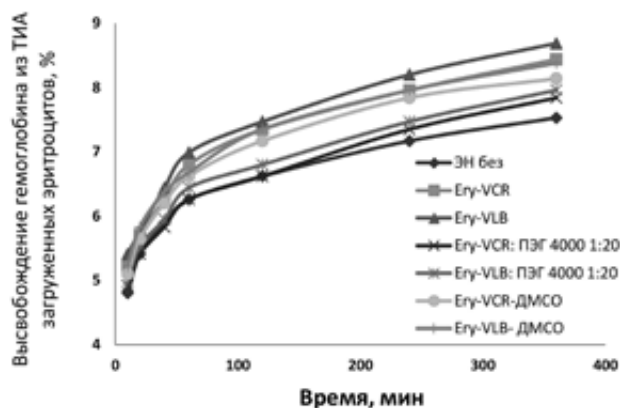


Рисунок 5. Кривые высвобождения гемоглобина (%) из ТИА загруженных эритроцитов *in vitro*

Figure 5. Hemoglobin release curves (%) from TIA loaded red blood cells *in vitro*

ванным ЭН невелико. Данный факт свидетельствует о минимальном нарушении цельности эритроцитов в процессе инкапсулирования. Полученные результаты показывают, что из ТИА инкапсулированных ЭН, в среднем, высвобождается $8,242 \pm 0,3135\%$ гемоглобина по сравнению с контрольными эритроцитами – $7,53\%$ после 6 ч инкубирования при 37 °С. Выделение же гемоглобина из ТИА инкапсулированных эритроцитов в модифицированных средах меньше, чем инкапсулированных в немодифицированной среде. На основе этих результатов можно сделать предположение, что ПЭГ может связываться с эритроцитарной мембраной и стабилизировать ее.

Таблица 6. Высвобождение гемоглобина из ТИА загруженных эритроцитов *in vitro*

Table 6. The release of hemoglobin from TIA *in vitro* loaded red blood cells

Время инкубации t (мин)	Выделение гемоглобина						
	ЭН – контрольная проба (%)	VCR (%)	VBL (%)	VCR : ПЭГ 4000 – 1:20 (%)	VBL : ПЭГ 4000 – 1:20 (%)	VCR : ДМСО (%)	VBL : ДМСО (%)
10	4,8	5,22	5,41	4,92	4,98	5,1	5,22
20	5,41	5,71	5,77	5,41	5,53	5,65	5,83
40	5,89	6,26	6,44	5,83	5,95	6,2	6,38
60	6,26	6,8	6,99	6,26	6,44	6,62	6,68
120	6,62	7,35	7,47	6,62	6,8	7,17	7,35
240	7,17	7,96	8,2	7,35	7,47	7,84	7,96
360	7,53	8,44	8,69	7,84	7,96	8,14	8,38

Примечание. * – Abs гемолизата – изолированные эритроциты – 1,646.

Note. * - Abs hemolysate - isolated red blood cells - 1,646.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведенном эксперименте определены характеристики высвобождения, инкапсулированных препаратов из эритроцитов. Установлено, что в течение 6 ч *in vitro* высвобождается ТИА-препаратов из эритроцитарной формы: VCR – 54,5305%, VCR : ПЭГ-4000 (1:5) – 53,3305%, VCR : PEG-4000 (1:10) – 40,1283%, VCR : ПЭГ-4000 (1:20) – 39,9869%, VCR : ДМСО (2 мг/мл) – 54,2354%. VBL – 68,0656%; VBL : PEG-4000 (1:10) – 63,8941%; VBL : PEG-4000 (1:20) – 60,7455%; VBL : PEG-400 (1:20) – 60,3529%; VBL : ДМСО (2 мг/мл) – 64,5006%. Скорость высвобождения из эритроцитарной формы, инкапсулированной в среде, модифицированной ДМСО значительно выше, чем инкапсулированных в немодифицированной среде. Средняя скорость высвобождения ТИА из эритроцитарных форм, инкапсулированных в среде ПЭГ приблизительно одинакова. ПЭГ может инкапсулироваться в эритроциты, поддерживая осмотический градиент эритроцитарной мембраны, а также ПЭГ может поддерживать стабильность мембраны и форму клетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тринеева О. В. и др. Морфологические и физико-химические свойства эритроцитарных носителей, инкапсулированных терпеноиндольными алкалоидами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018; 1(22): 40–44.
2. Заборовский А. В., Гуревич К. Г. Моделирование направленного транспорта лекарственных веществ. Часть I. Однократное введение. *Сибирский онкологический журнал*. 2017; 1(16): 59–65.
3. Заборовский А. В., Гуревич К. Г. Моделирование направленного транспорта лекарственных веществ. Часть II. Многократное введение. *Сибирский онкологический журнал*. 2017; 2(16): 36–41.
4. Ксейко Д. А., Генинг Т. П. Эффективность использования аутологичных клеток крови для адресной доставки в печень аскорбиновой кислоты с целью оптимизации коллоидно-осмотического давления крови после кровопотери. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2014; 2: 67–72.
5. Левин Г. Я., Соснина Л. Н. Использование ультрафиолетового облучения эритроцитов для увеличения их способности депонировать лекарственные препараты. *Медицинский альманах*. 2013; 3(27): 67–69.
6. Левин Г. Я., Соснина Л. Н. Исследование реологических свойств эритроцитов, модифицированных для направленного транспорта лекарственных веществ. *Фундаментальные исследования*. 2013; 2(1): 105–109.
7. Ивонин А. Г. и др. Направленный транспорт лекарственных препаратов: современное состояние вопроса и перспективы. *Известия Коми научного центра УрО РАН*. 2012; 1 (9).
8. Banskota S. et al. Cell-Based Biohybrid Drug Delivery Systems: The Best of the Synthetic and Natural Worlds. 2017; 17(1).
9. Bourgeaux V. et al. Drug-loaded erythrocytes: on the road toward marketing approval. *Drug design, development and therapy*. 2016; 10: 665–676.
10. Coker S. A. et al. A Study of the Pharmacokinetic Properties and the In Vivo Kinetics of Erythrocytes Loaded With Dexamethasone Sodium Phosphate in Healthy Volunteers. *Transfusion Medicine Reviews*. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2017.09.001>
11. Deloach J. et al. Effect of glutaraldehyde treatment on enzyme-loaded erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*. 1977; 496(2): 507–515.
12. Sun Y. et al. Advances of blood cell-based drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017; 96: 115–128.
13. Zocchi E. et al. Encapsulation of doxorubicin in liver-targeted erythrocytes increases the therapeutic index of the drug in a murine metastatic model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989; 86(6): 2040–2044.
14. Rossi L. et al. Engineering erythrocytes for the modulation of drugs' and contrasting agents' pharmacokinetics and biodistribution. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016; 106: 73–87.
15. Villa C. H. et al. Erythrocytes as Carriers for Drug Delivery in Blood Transfusion and Beyond. *Transfusion Medicine Reviews*. 2017; 31(1): 26–35.
16. Kravtsov R. et al. Erythrocytes as carriers for L-asparaginase. Methodological and mouse in-vivo studies. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 1990; 42(7): 473–476.
17. Field W. N. et al. A comparison of the treatment of thyroidectomized rats with free thyroxine and thyroxine encapsulated in erythrocytes. *International Journal of Pharmaceutics*. 1989; 51(2): 175–178.
18. Harisa G.E. et al. Characterization of human erythrocytes as potential carrier for pravastatin: An in vitro study. *International Journal of Medical Sciences*. 2011; 8(3): 222–230.
19. Hu C. M. J. et al. Erythrocyte-inspired delivery systems. *Advanced Healthcare Materials*. 2012; 1(5): 537–547.
20. Favretto M.E. [et al.] Human erythrocytes as drug carriers: Loading efficiency and side effects of hypotonic dialysis, chlorpromazine treatment and fusion with liposomes. *Journal of Controlled Release*. 2013; 170(3): 343–351.
21. Ihler G. M. Tsang H. C. Hypotonic hemolysis methods for entrapment of agents in resealed erythrocytes. *Methods in enzymology*. 1987; 149: 221–229.
22. Magnani M. et al. Erythrocyte Engineering for Drug Delivery and Targeting. Texas. Eurekah.com. 2002; 151.
23. Magnani M., DeLoach J. R. The Use of Resealed Erythrocytes as Carriers and Bioreactors: Advances in Experimental Medicine and Biology. Boston. *Springer US*. 1992; 341.
24. Skorokhod O. A. et al. Pharmacokinetics of erythrocyte-bound daunorubicin in patients with acute leukemia. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2004; 10(4): 155–164.
25. Bhimavarapu R. et al. Resealed erythrocytes as a targeted drug delivery system – an overview. *PHARMANEST An International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences*. 2012; 3(1): 47–64.
26. Wu Y. W. et al. Smart blood cell and microvesicle-based Trojan horse drug delivery: Merging expertise in blood transfusion and biomedical engineering in the field of nanomedicine. *Transfusion and Apheresis Science*. 2016; 54(2): 309–318.
27. Sprandel U. et al. Erythrocytes as Drug Carriers in Medicine. Boston, MA: *Springer US*. 1997; 149.
28. Sprandel U., Zöllner N. Osmotic fragility of drug carrier erythrocytes. *Research in Experimental Medicine*. 1985; 185(1): 77–85.
29. Thorpe S. R. et al. Enzyme Therapy. V. In Vivo Fate of Erythrocyte-entrapped β -Glucuronidase in β -Glucuronidase-deficient mice. *Pediatric Research*. 1975; 9(12): 918–923.
30. Tuhin F. T. et al. Essentials of Single-Cell Analysis: Series in BioEngineering. Berlin, Heidelberg: *Springer Berlin Heidelberg*. 2016; 325–346.
31. Updike S. et al. Asparaginase entrapped in red blood cells: action and survival. *Science*. 1976; 193(4254): 681–683.
32. Халахакун А.Д. Получение и стандартизация эритроцитарных носителей, инкапсулированных терпено-индольными алкалоидными противоопухолевыми препаратами: автореф. дис. канд. фарм. н. Москва. 2018; 26.

REFERENCES

- Trineeva O. V. et al. Morphological and physicochemical properties of erythrocyte carriers encapsulated with terpene-indole alkaloids. *Drug development & registration*. 2018; 1(22): 40–44 (In Russ.).
- Zaborovsky A. V., Gurevich K. G. Modeling of the directed transport of medicinal substances. Part I. Single management. *Siberian Oncology Journal*. 2017; 1(16): 59–65 (In Russ.).
- Zaborovsky A. V., Gurevich K. G. Modeling of the directed transport of medicinal substances. Part II. Repeated introduction. *Siberian Oncology Journal*. 2017; 2(16): 36–41 (In Russ.).
- Kseiko D. A., Gening T. P. Efficiency of using autologous blood cells for targeted delivery of ascorbic acid to the liver in order to optimize the colloid osmotic pressure of blood after blood loss. *Ulyanovsk Biomedical Journal*. 2014; 2: 67–72 (In Russ.).
- Levin G. Ya., Sosnina L. N. The use of ultraviolet irradiation of erythrocytes to increase their ability to deposit drugs. *Medical Almonas*. 2013; 3(27): 67–69 (In Russ.).
- Levin G. Ya., Sosnina L.N. Investigation of the rheological properties of erythrocytes modified for the directed transport of drugs. *Basic research*. 2013; 2(1): 105–109 (In Russ.).
- Ivonin A.G. and others. Directed transport of drugs: current state of the issue and prospects. *Proceedings of the Komi Scientific Center UB RAS*. 2012; 1(9) (In Russ.).
- Banskota S. et al. Cell-Based Biohybrid Drug Delivery Systems: The Best of the Synthetic and Natural Worlds. 2017; 17(1).
- Bourgeaux V. et al. Drug-loaded erythrocytes: on the road toward marketing approval. *Drug design, development and therapy*. 2016; 10: 665–676.
- Coker S. A. et al. A Study of the Pharmacokinetic Properties and the In Vivo Kinetics of Erythrocytes Loaded With Dexamethasone Sodium Phosphate in Healthy Volunteers. *Transfusion Medicine Reviews*. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2017.09.001>
- DeLoach J. et al. Effect of glutaraldehyde treatment on enzyme-loaded erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*. 1977; 496(2): 507–515.
- Sun Y. et al. Advances of blood cell-based drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017; 96: 115–128.
- Zocchi E. et al. Encapsulation of doxorubicin in liver-targeted erythrocytes increases the therapeutic index of the drug in a murine metastatic model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989; 86(6): 2040–2044.
- Rossi L. et al. Engineering erythrocytes for the modulation of drugs' and contrasting agents' pharmacokinetics and biodistribution. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016; 106: 73–87.
- Villa C. H. et al. Erythrocytes as Carriers for Drug Delivery in Blood Transfusion and Beyond. *Transfusion Medicine Reviews*. 2017; 31(1): 26–35.
- Kravtsoff R. et al. Erythrocytes as carriers for L-asparaginase. Methodological and mouse in-vivo studies. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 1990; 42(7): 473–476.
- Field W. N. et al. A comparison of the treatment of thyroidectomized rats with free thyroxine and thyroxine encapsulated in erythrocytes. *International Journal of Pharmaceutics*. 1989; 51(2): 175–178.
- Harisa G.E. et al. Characterization of human erythrocytes as potential carrier for pravastatin: An in vitro study. *International Journal of Medical Sciences*. 2011; 8(3): 222–230.
- Hu C. M. J. et al. Erythrocyte-inspired delivery systems. *Advanced Healthcare Materials*. 2012; 1(5): 537–547.
- Favretto M.E. [et al.] Human erythrocytes as drug carriers: Loading efficiency and side effects of hypotonic dialysis, chlorpromazine treatment and fusion with liposomes. *Journal of Controlled Release*. 2013; 170(3): 343–351.
- Ihler G. M. Tsang H. C. Hypotonic hemolysis methods for entrapment of agents in resealed erythrocytes. *Methods in enzymology*. 1987; 149: 221–229.
- Magnani M. et al. Erythrocyte Engineering for Drug Delivery and Targeting. Texas. Eureka.com. 2002; 151.
- Magnani M., DeLoach J. R. The Use of Resealed Erythrocytes as Carriers and Bioreactors: Advances in Experimental Medicine and Biology. Boston. *Springer US*. 1992; 341.
- Skorokhod O. A. et al. Pharmacokinetics of erythrocyte-bound daunorubicin in patients with acute leukemia. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2004; 10(4): 155–164.
- Bhimavarapu R. et al. Resealed erythrocytes as a targeted drug delivery system – an overview. *PHARMANEST An International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences*. 2012; 3(1): 47–64.
- Wu Y. W. et al. Smart blood cell and microvesicle-based Trojan horse drug delivery: Merging expertise in blood transfusion and biomedical engineering in the field of nanomedicine. *Transfusion and Apheresis Science*. 2016; 54(2): 309–318.
- Sprandel U. et al. Erythrocytes as Drug Carriers in Medicine. Boston, MA: *Springer US*. 1997; 149.
- Sprandel U., Zöllner N. Osmotic fragility of drug carrier erythrocytes. *Research in Experimental Medicine*. 1985; 185(1): 77–85.
- Thorpe S. R. et al. Enzyme Therapy. V. In Vivo Fate of Erythrocyte-entrapped β -Glucuronidase in β -Glucuronidase-deficient mice. *Pediatric Research*. 1975; 9(12): 918–923.
- Tuhin F. T. et al. Essentials of Single-Cell Analysis: Series in BioEngineering. Berlin, Heidelberg: *Springer Berlin Heidelberg*. 2016; 325–346.
- Updike S. et al. Asparaginase entrapped in red blood cells: action and survival. *Science*. 1976; 193(4254): 681–683.
- Halakhakun A.D. Production and standardization of erythrocyte carriers encapsulated with terpene-indole alkaloid antineoplastic drugs: Sc.D. Moscow. 2018; 26.