

©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ ВКЛЮЧЕНИЯ ДОКСОРУБИЦИНА В ФОСФОЛИПИДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ НА НАКОПЛЕНИЕ В ОПУХОЛИ И СПЕЦИФИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

Н.В. Медведева*, Т.И. Торховская, Л.В. Кострюкова, Т.С. Захарова, В.А. Кудинов, Е.О. Касаткина, В.Н. Прозоровский, О.М. Ипатова

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, 119121, Москва, ул. Погодинская, 10; эл. почта: nmedvedeva@ibmc.msk.ru

На модели опухоли у мышей с карциномой LLC исследовано специфическое действие лекарственной композиции на основе доксорубина, включенного в фосфолипидные наночастицы размером до 30 нм (Доксолип), полученной по разработанной в ИБМХ технологии. При внутрибрюшинном введении Доксолипа накопление доксорубина в опухоли было в 4,5 раза больше, чем для свободного доксорубина. Исследование эффективности доксорубина на развивающейся опухоли после однократного внутривенного введения через 48 ч после инокуляции опухоли показало, что 1) торможение роста опухоли для Доксолипа наблюдается на 6-е сутки, а для свободного доксорубина на 11-е сутки, причем в значительно меньшей степени; 2) противоопухолевый эффект на 8-е сутки при дозах 2 и 4 мг/кг для свободного доксорубина не проявлялся, а для Доксолипа имел дозозависимый характер, составляя, соответственно, 10% и 30%. На развившейся опухоли при внутрибрюшинном еженедельном (в течение 3-х недель, начиная с 7-и суток после инокуляции) введении (5 мг/кг) Доксолип снижал объем опухоли на 56% в сравнении с контролем (без лечения). Для свободного доксорубина этот показатель был в 2,8 раза ниже. Полученные данные свидетельствуют о том, что включение доксорубина в фосфолипидные наночастицы размером до 30 нм как систему транспорта способствует значительному увеличению его накопления в опухоли и приводит к увеличению специфической активности как при внутрибрюшинном, так и при внутривенном введении.

Ключевые слова: фосфолипидные наночастицы, доксорубин, карцинома LLC мышей, торможение роста опухоли, накопление в опухоли

DOI 10.18097/PBMC20176301056

ВВЕДЕНИЕ

Основным фактором, определяющим терапевтическую эффективность действия лекарств, является их способность накапливаться в очаге воспаления/поражения. Современным подходом, направленным на её повышение для вновь синтезированных и/или существующих лекарственных препаратов, является снабжение их транспортными системами. При этом увеличивается поступление лекарства в ткани/органы-мишени, улучшается фармакокинетика, снижаются побочные проявления. Особенно это важно для препаратов с низким терапевтическим индексом, который определяет широту безопасного действия лекарственного средства. Он характеризуется отношением среднелетальной к среднетерапевтической дозе препарата – LD_{50}/ED_{50} (“риск/выгода”). К таким препаратам, прежде всего, относятся противоопухолевые лекарственные средства в связи с их выраженными побочными проявлениями, усугубляющимися длительностью терапии [1].

Несмотря на серьезные побочные эффекты одним из наиболее распространённых в клинической практике противоопухолевых цитостатиков является доксорубин, ингибирующий рост и пролиферацию опухолевых клеток [2]. Обладая специфической флуоресценцией, позволяющей визуализировать его прохождение в клетки-мишени, доксорубин также широко используется в качестве модельного цитостатика при разработке систем транспорта в экспериментах *in vitro*. В связи с этим работы

в направлении конструирования системы транспорта для доксорубина остаются актуальными. Опубликовано много работ по включению доксорубина в наночастицы на основе полимеров, липидов или их комбинаций [1, 3, 4]. Для твёрдых липидных наночастиц на основе твина-80 с глицерилбегенатом (Compritol) [5], глицерилмонофосфата с фосфатидилхолином и галактозой [4], глицерилкапрата с полиэтиленгликоль(ПЭГ)-660-октестеаратом [6], а также полимерных наночастиц с добавлением фолата [3] показано увеличение цитотоксичности в сравнении со свободной субстанцией. В настоящее время несколько лекарственных препаратов, представляющих собой доксорубин/даунорубин, снабжённые транспортными системами, разрешены к применению в клинике: это липосомальные препараты Myocet, Caelyx, DaunoXome, Transdrug [7]. Однако дальнейшие исследования на примере препарата Caelyx показали, что, наряду с частичным снижением побочных проявлений самого доксорубина, отдельные компоненты композиций провоцируют серьезные аллергические реакции, и, кроме того, не происходит полного высвобождения доксорубина из липосом, покрытых ПЭГом [1, 8].

При разработке систем транспорта лекарств используют разные материалы (наночастицы золота, дендримеры, полимеры и т.п.). Однако наиболее перспективными остаются наночастицы на основе липидов – прежде всего из-за их биосовместимости и биodeградируемости. К недостаткам существующих

систем для доставки лекарственных соединений на основе липидов следует отнести относительно большого размер наночастиц (более 100 нм), а также использование органических растворителей и сурфактантов при их получении [5, 6].

В ИБМХ разработана оригинальная технология, позволяющая получать лекарства, снабжённые транспортной наносистемой на основе растительного фосфатидилхолина в виде ультратонкой эмульсии с размером частиц менее 50 нм. Эта система транспорта, кроме фосфолипидов, не содержит других компонентов, при её приготовлении не используются растворители и сурфактанты, она стабильна при хранении в виде лиофилизированного порошка. С использованием данной технологии была получена лекарственная композиция Доксолип, представляющая собой доксорубицин в составе фосфолипидных наночастиц размером менее 30 нм [9]. В экспериментах *in vitro* при инкубации с кровью нами было показано, что включение доксорубицина в фосфолипидные наночастицы снижает его связывание с эритроцитами и альбумином, повышая ассоциацию с липопротеинами [10]. Это может способствовать снижению кардиотоксичности и повышению доставки лекарства в ткань и клетки опухоли, на которых экспрессия рецепторов к липопротеинам существенно повышена [11].

Цель настоящей работы – исследовать влияние включения доксорубицина в фосфолипидные наночастицы на его накопление в тканях и опухоли, а также на противоопухолевую эффективность при внутривенном и внутрибрюшинном введении экспериментальным животным.

МЕТОДИКА

В работе использовали соевый фосфолипид фирмы Липоид ГмбХ (Германия) Lipoid S100 с содержанием фосфатидилхолина $\geq 96\%$, моногидрат мальтозы (MERCK, Германия) и субстанцию доксорубицина (хлорида) (“Dian Jiang, Chong Qing”, Китай). Фосфолипидную композицию доксорубицина с размером наночастиц до 30 нм на основе соевого фосфолипида получали согласно [9, 10]. Кратко: 5 г фосфолипида и 0,25 г субстанции доксорубицина в 100 мл 20% раствора мальтозы гомогенизировали под давлением 1000 атм и температуре 42-45°C в циклическом режиме в течение 4-6 мин с использованием микрофлюидайзера Microfluidizer M-110EH-30 (“Microfluidics corp.”, США), фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм, разливали по флаконам по 10 мл и лиофильно высушивали. Перед экспериментом содержимое флакона разводили до 10 мл дистиллированной водой. Доксорубицин также разводили дистиллированной водой.

Эксперименты на животных

Эксперименты *in vivo* проводили на мышах BDF1 весом 20-25 г с опухолью эпидермоидной карциномы лёгкого Льюис (LLC). Опухоль инокулировали животным подкожно в икроножную мышцу с внешней стороны, по 25 мг опухолевой ткани/мышь

в 0,3 мл 0,9% раствора NaCl. Введение препаратов осуществляли либо в хвостовую вену, либо внутрибрюшинно. Объём для внутривенного введения не превышал 150 мкл, при внутрибрюшинном введении – 200 мкл, концентрацию вводимого препарата рассчитывали исходя из дозы и веса животного.

Накопление доксорубицина в тканях опухоли и печени

Накопление доксорубицина в тканях опухоли и печени оценивали на животных с развившейся опухолью через 7 суток после инокуляции. Перед проведением эксперимента животных делили на две группы (по 10 в каждой). Свободный доксорубицин или Доксолип вводили внутрибрюшинно в дозе 15 мг/кг. Через 4 ч животных забивали и извлекали печень и опухоль. К навеске ткани добавляли 3-кратный объём физраствора или воды, гомогенизировали с помощью ультразвука. Доксорубицин экстрагировали добавлением к гомогенату 9-кратного объёма метанола. Количество доксорубицина определяли методом ВЭЖХ на приборе Agilent-1100, как описано ранее [10].

Оценка противоопухолевой эффективности

Противоопухолевую эффективность композиции оценивали по изменению общепринятого параметра ТРО (торможения роста опухоли) [12]:

$$\text{ТРО (\%)} = 100 \times (V_k - V_o) / V_k,$$

где V_k – средний объём опухоли в контрольной группе (без лечения), V_o – средний объём опухоли в группе, получавшей исследуемый препарат, в конце эксперимента или определённого временного интервала. Объём опухоли определяли по трём её размерам в трёх взаимно перпендикулярных направлениях, измеренным с помощью электронного штангенциркуля фирмы Mitutoyo Corp. (Япония).

Все эксперименты на животных были проведены в соответствии с требованиями Российского национального Комитета по биоэтике согласно руководству [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Накопление доксорубицина в тканях опухоли и печени

Сравнение накопления доксорубицина в опухолевой ткани и в печени мышей с привитой опухолью Льюис (LLC) было проведено после однократного внутрибрюшинного введения доксорубицина в свободном виде и в составе фосфолипидных наночастиц (Доксолип). В таблице 1 приведены результаты по определению содержания доксорубицина в исследуемых тканях через 4 ч после внутрибрюшинного введения препаратов. Из таблицы 1 видно, что после введения Доксолипа накопление лекарства в ткани опухоли было в 4,5 раза выше, чем после введения свободного доксорубицина – 5,4 мкг/г против 1,2 мкг/г, соответственно. При этом накопление доксорубицина в печени при введении Доксолипа почти не отличается от такового для свободного доксорубицина.

Таблица 1. Содержание доксорубина в тканях опухоли и печени мышей с карциномой Льюис через 4 ч после внутрибрюшинного введения Доксолипа и свободного доксорубина. Доза по доксорубину 15 мг/кг

Препарат	Количество доксорубина в ткани (мкг/г)	
	Опухоль	Печень
Свободный доксорубин (n=10)	1,2±0,1	2,5±0,2
Доксолип (n=10)	5,4±0,3 p<0,01	3,1±0,2 p<0,05

Примечание: p - достоверность различий по сравнению с группой животных, получавших свободный доксорубин; n - количество животных в группе.

Торможение роста опухоли под действием доксорубина при его введении в свободном виде и в составе фосфолипидных наночастиц

Исследование влияния доксорубина, введенного животным в составе фосфолипидных наночастиц, на торможение роста опухоли проводили при двух схемах эксперимента: однократное введение через 48 ч после инокуляции опухоли (развивающаяся опухоль) и еженедельное введение, начиная с 7-го дня после инокуляции, в течение 3-х недель.

В экспериментах с однократным внутривенным введением определяли: 1) динамику изменения параметра ТРО после введения Доксолипа или доксорубина в дозе 4 мг/кг (по доксорубину); 2) влияние дозы (2, 4, 8 и 10 мг/кг по доксорубину) на параметр ТРО через 8 суток после однократного внутривенного введения. На рисунке 1 приведены результаты сравнительного действия Доксолипа и доксорубина, введенных однократно внутривенно через 48 ч после инокуляции опухоли LLC, на развитие опухолевого процесса на 6, 8 и 11 сутки. Как видно из рисунка 1, для свободного доксорубина через 6 и 8 суток объем опухоли у экспериментальных животных был таким же, как в группе контроля (ТРО = 0). В этой группе животных торможение роста опухоли (ТРО) наблюдалось лишь на 11-е сутки: оно составляло 10% по сравнению с контролем. В то же время доксорубин, введенный внутривенно в составе фосфолипидных наночастиц, уже через 6 суток вызывал торможение роста опухоли на 40%.

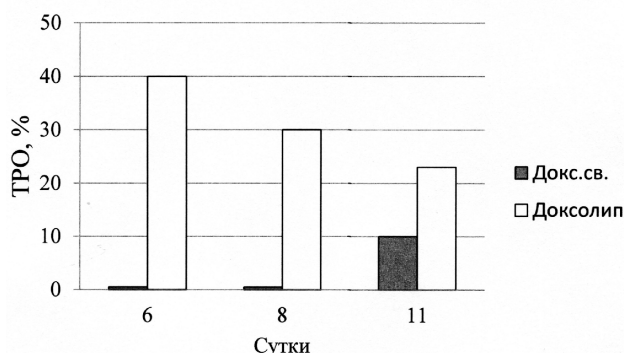


Рисунок 1. Изменение параметра ТРО у мышей с карциномой Льюис после однократного внутривенного введения Доксолипа и доксорубина в зависимости от времени. Доза по доксорубину - 4 мг/кг.

На рисунке 2 представлены значения параметра ТРО через 8 суток после однократного внутривенного введения экспериментальным животным свободной субстанции и Доксолипа в различных дозах. Из рисунка 2 видно, что при дозах доксорубина от 2 до 10 мг/кг рост опухоли замедлялся в большей степени при его введении в составе фосфолипидных наночастиц. При этом при дозах 2 и 4 мг/кг после введения Доксолипа наблюдали 10- и 30-процентное торможение роста опухоли в сравнении с контролем, соответственно. В то же время в группе, которой вводили свободный доксорубин, параметр ТРО практически не отличался от нуля (не было значимых отличий в размерах опухоли по сравнению с группой контроля). При дозах 8 и 10 мг/кг противоопухолевая эффективность Доксолипа была выше в сравнении со свободным лекарством, однако наблюдаемые различия в величине параметра ТРО были недостоверны.

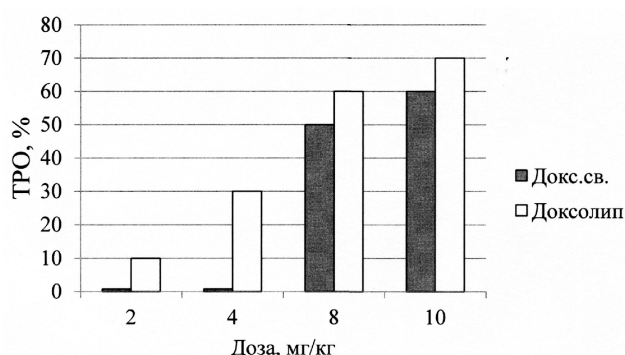


Рисунок 2. Торможение роста опухоли у мышей с карциномой Льюис через 8 дней после однократного внутривенного введения Доксолипа и свободного доксорубина при разных дозах по доксорубину. По оси абсцисс - доза по доксорубину, по оси ординат - параметр ТРО.

Таким образом, специфическая активность доксорубина в составе фосфолипидных наночастиц (Доксолип) при однократном введении значительно выше, чем свободного доксорубина: торможение роста опухоли при дозе 4 мг/кг для доксорубина в составе фосфолипидной композиции наблюдается уже на 6-е сутки после введения, в то время как для свободного доксорубина — только на 11-е сутки. Противоопухолевый эффект для Доксолипа более, чем в 2 раза выше: параметр ТРО составил 22% против 10% в группе, получавшей свободный доксорубин. Различия в ТРО наиболее выражены при дозах 2 и 4 мг/кг.

В экспериментах на уже развившейся опухоли (через 7 дней после инокуляции) введение препаратов осуществляли внутрибрюшинно в дозе 5 мг/кг на 7, 14 и 21 сутки после инокуляции опухоли. Эффективность лечения (вычисление параметра ТРО) оценивали на 10-ый и 22-ой день после инокуляции, то есть на третий день после первого и на следующий день после последнего введения Доксолипа или доксорубина. Полученные результаты приведены в таблице 2. Как видно

ДОКСОРУБИЦИН В ФОСФОЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦАХ

Таблица 2. Объёмы опухоли у мышей с карциномой Льюис при однократном еженедельном введении Доксолипа или свободного доксорубина в течение трёх недель

Сутки после инокуляции опухоли	Размер опухоли по группам животных, мм ³				
	Контроль (n=13) объём, мм ³	Доксорубин (n=10)		Доксолип (n=10)	
		Объём, мм ³	ТРО, %	Объём, мм ³	ТРО, %
10	1160±370	830±250	28	350±110 ^а	70%
22	6710±1200	5390±520	20	2930±810 ^{а,б}	56%

Примечание: а - достоверность различий по сравнению с группой контроля $p < 0,05$; б - достоверность различий по сравнению с группой, получавшей свободный доксорубин, $p < 0,05$. ТРО - торможение роста опухоли.

из таблицы 2, уже через трое суток после первого введения препаратов доксорубина (10-е сутки после инокуляции опухоли) наблюдалось торможение роста опухоли, при этом средний её объём у мышей, получавших Доксолип, был в 2,4 раза меньше, чем у животных, получавших свободный доксорубин: 350 по сравнению с 830 мм³. По отношению к контролю (1160 мм³) средний размер опухоли в группе, получавшей свободный доксорубин, был меньше в 1,4 раза (830 мм³), а при введении Доксолипа – меньше в 3,3 раза (350 мм³). На 22-е сутки эксперимента, после третьего введения препаратов, разница в действии Доксолипа и доксорубина сохранялась. Так, в группе животных, леченных свободным доксорубином, средний размер опухоли составлял 5390 мм³ и достоверно не отличался от среднего размера опухоли в группе контроля (6710 мм³). При введении Доксолипа размер опухоли был в 2,3 раза меньше, чем в группе контроля и в среднем составлял 2930 мм³. Параметр ТРО для свободного доксорубина составлял в течение эксперимента 20-30%, для Доксолипа – 50-70%. При этом средний размер опухоли на всех этапах лечения Доксолипом достоверно отличался от контроля ($p < 0,05$), а в конце эксперимента отличался также и от группы, получавшей свободный доксорубин. Для свободного доксорубина тенденцию к торможению развития опухолевого процесса наблюдали на протяжении всего эксперимента, но различия с контролем были не достоверны.

Таким образом, доксорубин, включённый в фосфолипидные наночастицы, проявлял более выраженный противоопухолевый эффект на мышцах с опухолью LLC в условиях внутривенного и внутрибрюшинного введения (рис. 1 и 2, табл. 2) как на развивающейся опухоли (через 48 ч после инокуляции), так и на опухоли через 7 суток после инокуляции (при трёхкратном еженедельном введении).

ОБСУЖДЕНИЕ

При разработке новых систем доставки лекарств существенным фактором, определяющим их эффективность, является повышенное накопления лекарства в органе-мишени по сравнению с его введением в свободном виде. Это может быть

достигнуто, в частности, за счёт аффинности транспортных частиц к клеткам-мишеням, что было показано в работе Mussi с соавт. для твёрдых липидных наночастиц [5]. Другой возможностью повышения доставки лекарств в клетки и ткани опухолей считают использование естественных транспортных систем организма – липопротеинов и белков плазмы крови [11]. Липопротеины плазмы крови, помимо транспорта полярных и неполярных липидов, имеют более широкое биологическое значение: связывание лекарств с липопротеинами крови способно изменять фармакокинетику, распределение по тканям, фармакологическую активность липофильных препаратов [14]. Ранее нами *in vitro* было показано повышение включения доксорубина в липопротеины плазмы для Доксолипа в сравнении со свободным доксорубином [10]. Согласно данным Kader с соавт. [15], доксорубин, связавшийся с липопротеинами, проявляет значительно большую цитотоксичность, чем свободный доксорубин: на клетках HeLa авторы показали более низкие величины IC₅₀ для доксорубина в ЛНП и в ЛВП – в 6 раз и в 13 раз, соответственно. Авторы объясняли такой эффект эндоцитозом за счёт повышенной экспрессии рецепторов к липопротеинам на опухолевых клетках [11, 15]. В связи с этим, повышение включения доксорубина в липопротеины плазмы [10] после внутривенного введения Доксолипа также даёт основание предполагать увеличение транспорта лекарства в опухолевую ткань. Таким образом, показанное в настоящей работе выраженное повышение накопления лекарства в ткани опухоли у экспериментальных животных при введении Доксолипа по сравнению со свободным лекарством (табл. 1) является следствием, по крайней мере, двух факторов: 1) способности фосфолипидов (фосфатидилхолина) повышать доставку транспортируемого соединения внутрь клетки за счёт аффинности к мембранам, и 2) дополнительного рецепторно-опосредованного транспорта лекарства липопротеинами крови. Способность доксорубина, снабжённого фосфолипидной наносистемой транспорта, к повышенному внутриклеточному накоплению подтверждается в проведенных нами ранее экспериментах *in vitro* – по более выраженному влиянию на экспрессию определённых белков клеточного протеома Her G2 [16].

Важной характеристикой для внутривенно вводимых лекарственных препаратов, является их прохождение через печень, где происходит метаболизм практически всех ксенобиотиков. Для доксорубина, введённого в составе препарата Доксолип, накопление в печени практически не отличалось от накопления доксорубина, введённого в свободном виде (табл. 1). Таким образом, более чем 4-кратное повышение накопления доксорубина в опухоли при одинаковом накоплении в печени способствует повышению специфической активности без увеличения гепатотоксичности для Доксолипа в сравнении со свободным доксорубином.

Торможение роста развивающейся опухоли (введение цитостатиков через двое суток после инокуляции) при внутривенном введении Доксолипа регистрировали на 5 суток раньше, чем для свободного доксорубина (рис. 1). Противоопухолевая активность Доксолипа проявлялась уже при малых дозах (2 и 4 мг/кг), при которых в группе, получавшей свободный доксорубин, не наблюдали отличия в размерах опухоли в сравнении с группой контроля (рис. 2). Терапевтический эффект напрямую зависит от концентрации действующего вещества в клетках-мишенях, поэтому наблюдаемые различия являются следствием большего поступления активного компонента внутрь клеток опухоли при введении Доксолипа. Таким образом одинаковый терапевтический эффект может быть достигнут при меньшей дозе доксорубина при его введении в составе фосфолипидных наночастиц.

В эксперименте на развившейся опухоли (7 суток после инокуляции) при еженедельном внутрибрюшинном введении на протяжении трёх недель различия активности Доксолипа и доксорубина проявились в ещё большей степени. У животных, получавших Доксолип в течение трёх недель, параметр ТРО был почти в 3 раза больше (табл. 2). При такой схеме введения повышенная противоопухолевая эффективность Доксолипа может быть связана с более длительным поддержанием терапевтической концентрации доксорубина в опухоли.

ВЫВОДЫ

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что включение доксорубина в состав фосфолипидных наночастиц диаметром менее 30 нм способствует более

эффективному поступлению лекарства в ткань и клетки опухоли. На опухоли LLC мышей показано более чем четырёхкратное увеличение накопления в опухоли LLC для доксорубина, введённого в составе фосфолипидных наночастиц (Доксолип), по сравнению с введением свободного лекарства, что сопровождается существенным повышением противоопухолевой активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Frank D., Tyagi C., Tomar L., Choonara Y.E., du Toit L.C., Kumar P., Penny C., Pillay V. (2014) *Int. J. Nanomedicine*, **9**, 589-613.
2. Tahover E., Patil Y.P., Gabizon A.A. (2015) *Anticancer Drugs*, **26**, 241-258.
3. Zheng M., Gong P., Zheng C., Zhao P., Luo Z., Ma Y., Cai L. (2015) *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **15**, 4792-4798.
4. Jain A., Kesharwani P., Garg N.K., Jain A., Jain S.A., Jain A.K., Nirbhavane P., Ghanghori R., Tyagi R.K., Katore O.P. (2015) *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **134**, 47-58.
5. Mussi S.V., Silva R.C., Oliveira M.C., Lucci C.M., Azevedo R.B., Ferreira L.A. (2013) *Eur. J. Pharm. Sci.*, **48**, 282-290.
6. Subedi R.K., Kang K.W., Choi H.K. (2009) *Eur. J. Pharm. Sci.*, **37**, 508-513.
7. Zhang L., Gu F.X., Chan J.M., Wang A.Z., Langer R.S., Farokhzad O.C. (2008) *Clin. Pharmacol. Ther.*, **83**, 761-769.
8. Wu L., Zou Y., Deng C., Cheng R., Meng F., Zhong Z. (2013) *Biomaterials*, **34**, 5262-5272.
9. Арчаков А.И., Инамова О.М., Медведева Н.В., Прозоровский В.Н., Торховская Т.И., Тихонова Е.Г., Зыкова М.Г., Воскресенская А.А. (2011) Патент РФ №2411935. Бюлл. "Изобретения (заявки и патенты)".
10. Зыкова М.Г., Инамова О.М., Прозоровский В.Н., Медведева Н.В., Воскресенская А.А., Захарова Т.С., Торховская Т.И. (2011) *Биомед. химия*, **57**, 200-205. doi:10.18097/pbmc20115702200
11. Ng K.K., Lovell J.F., Zheng G. (2011) *Acc. Chem. Res.*, **44**, 1105-1113.
12. Bernard A., Kimko H., Mital D., Poggesi I. (2012) *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, **8**, 1057-1069.
13. "Этические и правовые проблемы клинических испытаний и научных экспериментов на животных", ИФРАН, М., 1994.
14. Wasan K.M., Cassidy S.M. (1998) *Pharm. Sci.*, **87**, 411-424.
15. Kader A.I., Pater A. (2002) *J. Control Release*, **80**, 29-44.
16. Kuznetsova K.G., Kazlas E.V., Torkhovskaya T.I., Karalkin P.A., Vachrushev I.V., Zakharova T.S., Sanzhakov M.A., Moshkovskii S.A., Ipatova O.M. (2014) *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, **8**, 77-83.

Поступила: 25. 10. 2016.
Принята к печати: 23. 01. 2017.

INFLUENCE OF DOXORUBICIN INCLUSION INTO PHOSPHOLIPID NANOPARTICLES
ON TUMOR ACCUMULATION AND SPECIFIC ACTIVITY

*N.V. Medvedeva, T.I. Torkhovskaya, L.V. Kostryukova, T.S. Zakharova, D.A. Ignatov,
E.O. Kasatkina, V.N. Prozorovskiy, O.M. Ipatova*

Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; e-mail: nmedvedeva@ibmc.msk.ru

The specific activity of drug formulation of doxorubicin embedded into phospholipid nanoparticles with diameter less than 30 nm ("Doxolip") was studied in mice LLC carcinoma. Doxolip was prepared according to technology that was elaborated in Institute earlier. Doxorubicin tumor accumulation after intraperitoneal administration (at 4 h) was 4.5 times higher for Doxolip, than for free doxorubicin. The study of doxorubicin antitumor activity in developing tumor after single intravenous administration, 48 h after inoculation, showed, that: 1) tumor growth inhibition of Doxolip was observed at 6th day, while it was only at 11th day for free doxorubicin and revealed in less extent; 2) there was no antitumor effect of free doxorubicin at 8 days after administration of doses 2 and 4 mg/kg, but it was observed for Doxolip in dose-dependent manner, 10% and 30% correspondently. In experiment with developed tumor weekly Doxolip intraperitoneal administration (5 mg/kg, 3 weeks beginning from 7 days after inoculation) resulted in 56% decrease of tumor volume as compared with control. This parameter for free doxorubicin was 2.8 times lower. The obtained data indicate, that incorporation of doxorubicin into phospholipid nanoparticles with size up to 30 nm as delivery system increases its tumor accumulation and results to increase of specific activity both in intraperitoneal and in intravenous administration.

Key words: phospholipids nanoparticles, doxorubicin, mice LLC carcinoma, growth inhibition, tumor accumulation