



МОДУЛЬНЫЕ НАНОТРАНСПОРТЕРЫ: ДОСТАВКА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Л.Раткин, к.т.н. / rathkeen@bk.ru

Одна из основных проблем, рассмотренных на заседании Президиума Российской академии наук в ноябре 2012 года, – создание модульных нанотранспортеров (МНТ) для доставки противораковых препаратов.

Заседание открыл исполняющий обязанности Президента РАН академик А.Некипелов, вручивший диплом иностранного члена РАН профессору факультета физики и астрономии Университета Шеффилда и содиректору Национального центра по технологиям полупроводниковых структур на основе соединений III-V М.Сколнику (Великобритания), специализирующемуся в физике низкоразмерных наноструктур.

В сообщении д.б.н. А.Соболева (Институт биологии гена – ИБГ) РАН и академика РАН Г.Георгиева, посвященном разработке МНТ – многоцелевой платформы для доставки противораковых средств, были представлены основные направления медицинской противоопухолевой терапии. Рассматривались, в частности, методики, основанные на селективной доставке излучателей активного кислорода, альфа-частиц и оже-электронов в ядра опухолевых клеток, и вакцинация их генетически такими же модифицированными клетками, продуцирующими противоопухолевый белок TAG7.

Выступающие отметили, что впервые термин "наномедицина" применил Р.Фрайтас (младший) в 1999 году. По мнению этого ученого, в XXI должно произойти интенсивное развитие медицинской инженерии. В результате наномедицина станет определять дизайн и производство широкого спектра молекулярных конструкций, введение которых

в организм пациента обеспечит поддержание на нормальном уровне его здоровья. В числе основных задач наномедицинских исследований – создание самодвижущихся конструкций, выявляющих и вылечивающих дефектные клетки после проникновения в них. Возможно применение обычных методов транспортировки лекарств в организм, в частности, использование для доставки к клеткам-мишеням системы кровообращения.

Разработанные МНТ состоят из четырех модулей.

Первый представляет собой лигандный модуль (ЛМ), идентифицирующий клетки-мишени и создающий возможность поглощения ими МНТ. В качестве ЛМ могут выступать альфа-меланцитстимулирующий гормон, эпидермальный фактор роста, интерлейкин-3, соматостатин, обеспечивающие определение опухолевых клеток-мишеней в различных органах.

Второй модуль отвечает за выход МНТ из мембранных пузырьков в цитоплазму.

Третий содержит аминокислотную последовательность ядерной локализации для доставки МНТ в ядро клетки-мишени.

Четвертый – собственно носитель противоопухолевого лекарства.



А.Некипелов



М.Сколник



А.Соболев

Размер искусственного белка МНТ составляет около 10 нм. Использование МНТ для доставки фотосенсибилизаторов в раковые клетки *in vitro* повышает в 1000-3000 раз их эффективность по сравнению со свободными фотосенсибилизаторами (ФС), которые в комплексе с МНТ приобретают клеточную специфичность. Аналогичный эффект наблюдается при применении альфа-частиц и оже-электронов.



С.Лукьянов

Ряд работ по изучению цитотоксичности доставляемого с использованием МНТ ¹²⁵I-эмиттера оже-электронов проводился в рамках международных проектов. Например, совместно с Университетом Дьюка (США) был реализован грант Национального института здоровья (США) № NS20023, в соответствии с которым по заданию Специального исследовательского центра по первичным опухолям центральной нервной системы, проводилось, в частности, лечение мультиформной глиобластомы.



М.Угрюмов

Все модули МНТ полнофункциональны и сохраняют свою активность в нанотранспортерах. Например, МНТ обеспечивают в слабокислой среде создание пор в липидной мембране (условия внутри эндосом). В ядрах клеток – структурах, наиболее чувствительных к активным формам кислорода, ФС не локализуются.

После введения МНТ накапливаются в раковых клетках, преимущественно – в ядрах. В исследованиях по фотодинамической терапии (ФДТ) нанореакторы вводились иммунодефицитным мышам (ИДМ) с привитой эпидермоидной карциномой человека (ЭКЧ). Полученные результаты подтвердили низкую степень токсичности и неиммуногенности МНТ для мышей. Авторы отметили, что доставка с их помощью фотосенсибилизаторов повышает эффективность таких препаратов *in vivo*: например, ФДТ ЭКЧ, привитой ИДМ, значительно задерживает рост опухоли

и обеспечивает выживание 75% мышей (для свободных ФС – порядка 20%). Отмечено, что подобные результаты получены на двух линиях мышей с различными типами меланом.

В МНТ соединяются фрагменты генов, кодирующих соответствующие модули. Конечный МНТ биотехнологически синтезируется на основе кодирующей плазмиды. Доклинические испытания показали высокую эффективность лечения злокачественных новообразований. Доставляемые МНТ *in vivo* и *in vitro* противоопухолевые препараты обладают высокой степенью эффективности и клеточной специфичности, причем заменяемость модулей и синтез МНТ обуславливают перспективность их применения для лечения различных типов опухолей. Полученные результаты позволяют рассмотреть вопрос о возможности использования МНТ в клинической практике.

В обсуждении сообщения принял участие ряд ученых. В частности, профессор Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН академик С.Лукьянов и профессор Института биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН академик М.Угрюмов отметили высокий уровень проведенных исследований и необходимость финансирования их продолжения.

В целом в ходе обсуждения подчеркнуто:

- МНТ имеют высокую эффективность *in vivo* и *in vitro*;
- в опытах на мышах отмечены низкая токсичность и иммуногенность МНТ;
- модули МНТ заменяемы, что обуславливает их адаптацию для решения ряда задач;
- в составе МНТ компоненты сохраняют свои функциональные возможности;
- МНТ, локализуясь преимущественно в ядрах, накапливаются в опухолях;
- доставляемые МНТ антираковые препараты (ФС, эмиттеры альфа-частиц и оже-электронов) приобретают в 20-4000 раз большую эффективность и клеточную специфичность;
- МНТ хорошо экспрессируются, легко очищаются и лиофилизируются, могут храниться не менее полутора лет при комнатной температуре. ■

Фото: Л.Раткин



MODULAR NANOTRANSPORTERS: DELIVERY OF ANTICANCER DRUGS

L.Ratkin, PhD / rathkeen@bk.ru

One of the main issues discussed at the meeting of the Presidium of the Russian Academy of Sciences (RAS), in November 2012 was the creation of modular nanotransporters (MNT) for the delivery of anticancer drugs.

The meeting was opened by the Acting President of the RAS, Academician A.Nekipelov, who presented Diploma of foreign member of the RAS to Professor of the Faculty of Physics and Astronomy at University of Sheffield and Co-Director of the National Centre for Technologies of semiconductor structures based on III-V compounds M.Skolnik (UK) who specializes in physics of low-dimensional nanostructures.

The report by A.Sobolev, Doctor of Biological Sciences (Institute of Gene Biology - IGB) and of the RAS Academician G.Georgiev dedicated to the development of MNT - multi-purpose platform for the delivery of anticancer agents, were presented the main directions of medical anticancer therapy. There were considered, in particular, the methods based on the selective delivery of active oxygen emitters, alpha - particles and Auger electrons into the nucleus of tumor cells and vaccination of their genetically modified with the same cells producing anti-tumor protein TAG7.

Speakers noted that for the first time the term "nanomedicine" was used by R.Fraytas (junior) in 1999. According to this scholar, in the XXI century intensive development of medical engineering should occur. As a result nanomedicine will determine the design and manufacture of a wide range of molecular structures the introduction of which into the patient body will maintain a normal level of his health. The main task of nanomedical research is the creation of self-propelled designs that detect and cure defective cells after penetration into them. It is possible to use of conventional methods of transportation of drugs in the body, particularly the use of delivery to target cells of the blood circulatory system.

The designed MNT consist of four modules.

The first one is a ligand module (LM) to identify target cells and which creates the possibility of absorption of MNT. As LM can act: alpha-melanostimulating hormone, epidermal growth factor, interleukin-3, somastotin which provide the determination of certain tumor targets in different organs.

The second module is responsible for the output of the MNT from the membrane vesicles into the cytoplasm.

The third one contains the amino acid sequence of the nuclear localization for the delivery of MNT into the target cell nucleus.

The fourth one is the actual carrier of antitumor drugs.

The size of the artificial protein of MNT is about 10 nm. The use of MNT to deliver photosensitizers to cancer cells in vitro increases by 1,000-3,000 times their effectiveness compared with free photosensitizers (PS) which in combination with MNT get cell specificity. A similar effect is seen with alpha - particles and Auger electrons.

A number of papers on the study of cytotoxicity of ¹²⁵I-MNT Auger electron emitter to be delivered is held in the framework of international projects. For example, together with Duke University (USA) there has been implemented grant from the National Institute of Health (USA) No. NS20023, according to which on the instruction of the Special Research

Centre for primary tumors of the central nervous system, in particular, the treatment of glioblastoma multiforme was carried out.

All the MNT modules are fully functional and remain activity in nanotransporters. For example, MNT provide in weak acid medium the creation of pores in the lipid membrane (conditions within endosomes). In the nuclei of cells - the structures that are most sensitive to reactive oxygen species, FS are not localized.

After introduction of the MNT they are accumulated in cancer cells, mainly - in the nuclei. In studies of photodynamic therapy (PDT) the nanoreactors were injected into immunodeficient mice (IDM) grafted with human epidermoid carcinoma (ECS). The obtained results confirmed the low level of toxicity and immunological potency of MNT for mice. The authors noted that delivery with help of sensitizers increases the effectiveness of such drugs in vivo: for example, PDT ECS grafted IDM, significantly delays tumor growth and ensures the survival of 75% of mice (for free FS - about 20%). It is noted that similar results were obtained for the two strains of mice with different types of malignant melanomas.

In MNT gene fragments coding the respective modules are combined. The final MNT is synthesized biotechnologically based on encoding plasmid. The preclinical trials have shown high efficacy of treatment of malignant tumors. MNT to be delivered in vivo and in vitro for anticancer drugs have a high degree of efficiency and cell specificity, and in this case interchangeability of modules and synthesis of MNT provide perspective of their use in the treatment of various types of tumors. The obtained results allow to consider the problems of the possible use of the MNT in clinical practice.

In discussing the report a number of scientists took part. In particular, professor of the RAS Institute of Bioorganic Chemistry after Academicians M.M.Shemyakin and Y.A.Ovchinnikov Academician S.Lukyanov and professor of RAS Institute of Developmental Biology after N.K.Koltsov Academician M.Ugryumov have noted the high level of the conducted investigations and the need of financing their continuation.

In general, the discussion has emphasized the following:

- MNT has high efficiency in vivo and in vitro;
- In experiments on mice low toxicity and immunogenicity of MNT were noted;
- MNT modules are replaceable, this fact is responsible for their adaptation for solving a number of issues;
- Within MNT the components retain their functionality;
- MNT are localized mainly in the nuclei and are accumulated in tumors;
- MNT to be delivered for anticancer drugs (FS, alpha - particle emitters and Auger electrons) acquire efficiency by 20-4,000 times greater and cell specificity;
- MNT are well expressed, are easily cleaned and lyophilized, can be stored for at least one and a half years at room temperature. ■

Photo: L.Ratkin