

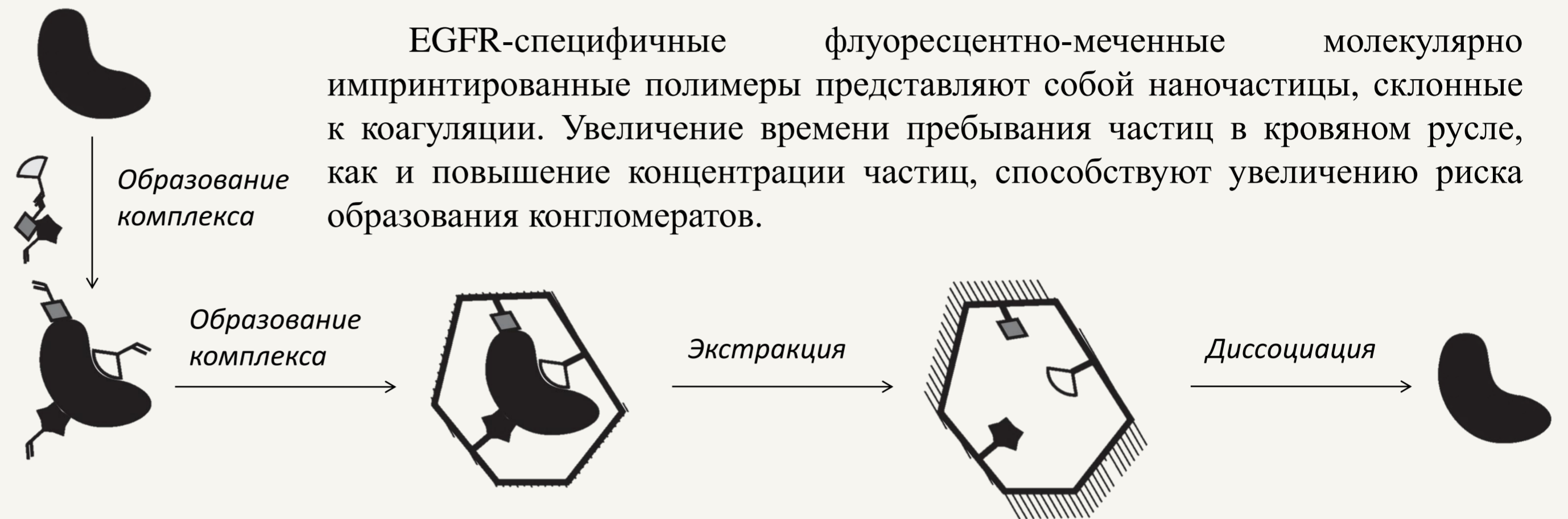
Т.А. Григорьева, А.В. Гарабаджиу, Дж. Мелино, В.Г. Трибулович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», Санкт-Петербург

rozentatiana@gmail.com

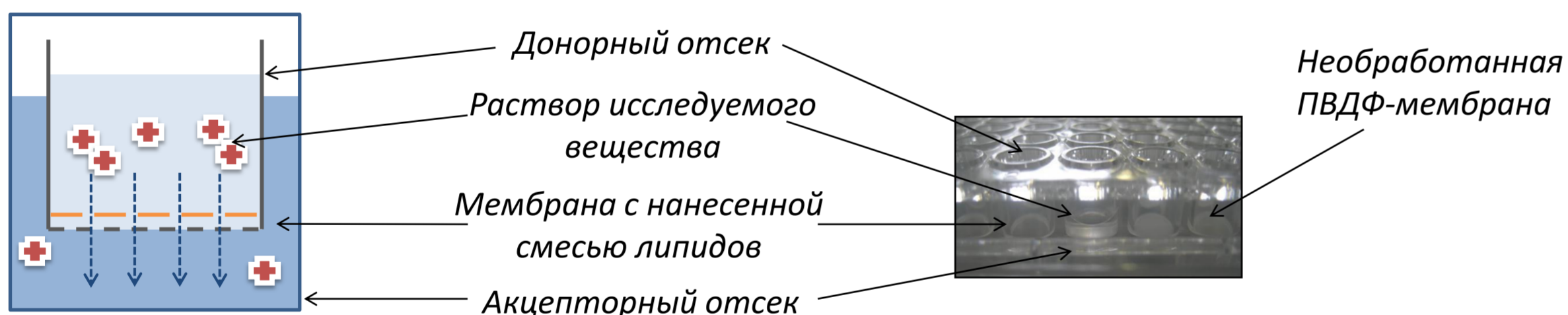
EGFR (рецептор эпидермального фактора роста) гиперактивируется при многих злокачественных опухолях мозга (в том числе при глиомах и метастазирующем в мозг немелкоклеточном раке легкого). В связи с этим активно ведутся разработки ингибиторов EGFR и исследования роли нарушений, связанных с рецептором, в развитии и лечении новообразований. В частности, для диагностики и лечения подобных заболеваний предлагается использовать EGFR-специфичные молекулярно импринтированные полимеры (МИП, MIPs).

В случае любых веществ, разработанных для воздействия на клетки мозга, помимо целевой активности, специфичности и проч., необходимо учитывать также наличие в мозгу высокоселективного фильтра, защищающего его от попаданию чужеродных объектов – гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).



Создание метода оценки способности МИПов преодолевать ГЭБ позволит идентифицировать частицы, которые способны быстро попадать в мозг. Применение таких препаратов даст возможность снизить дозировку, и, следовательно, риск побочных явлений при использовании EGFR-специфичных МИПов.

Для определения способности флуоресцентно-меченных МИП преодолевать ГЭБ был модифицирован метод ПАМРА (parallel artificial membrane permeability assay): за время t исследуемое вещество, раствор которого внесен в донорный отсек планшета, преодолевает искусственную липидную мембрану, нанесенную на ПВДФ-подложку и попадает в акцепторный отсек. Концентрация раствора в акцепторном отсеке (C_a) используется для расчета величины $\log P$.



Для измерения концентрации вещества в акцепторном отсеке в работе использовали мультимодальный ридер ClarioStar.



Параметры монохроматора:
 $\lambda_{ex}=492$ нм,
 $\lambda_{em}=515$ нм,
в случае K571-Vanco – 420 нм и 526 нм соответственно.

Предобработка исследуемых растворов:
2 цикла: 1 мин – встряхивание в шейкере, 2 мин – сонификация на ультразвуковой бане.

В работе была проведена оценка способности веществ преодолевать ГЭБ (величина $\log P_e$), а также скорости преодоления мембран (зависимость C_a/C от времени t).

$$\log P_e = \lg \left[Const * - \ln \left(1 - \frac{C_a}{C} \right) \right],$$

где C_a - концентрация исследуемого раствора в акцепторном отсеке,
 C – расчетная равновесная концентрация.

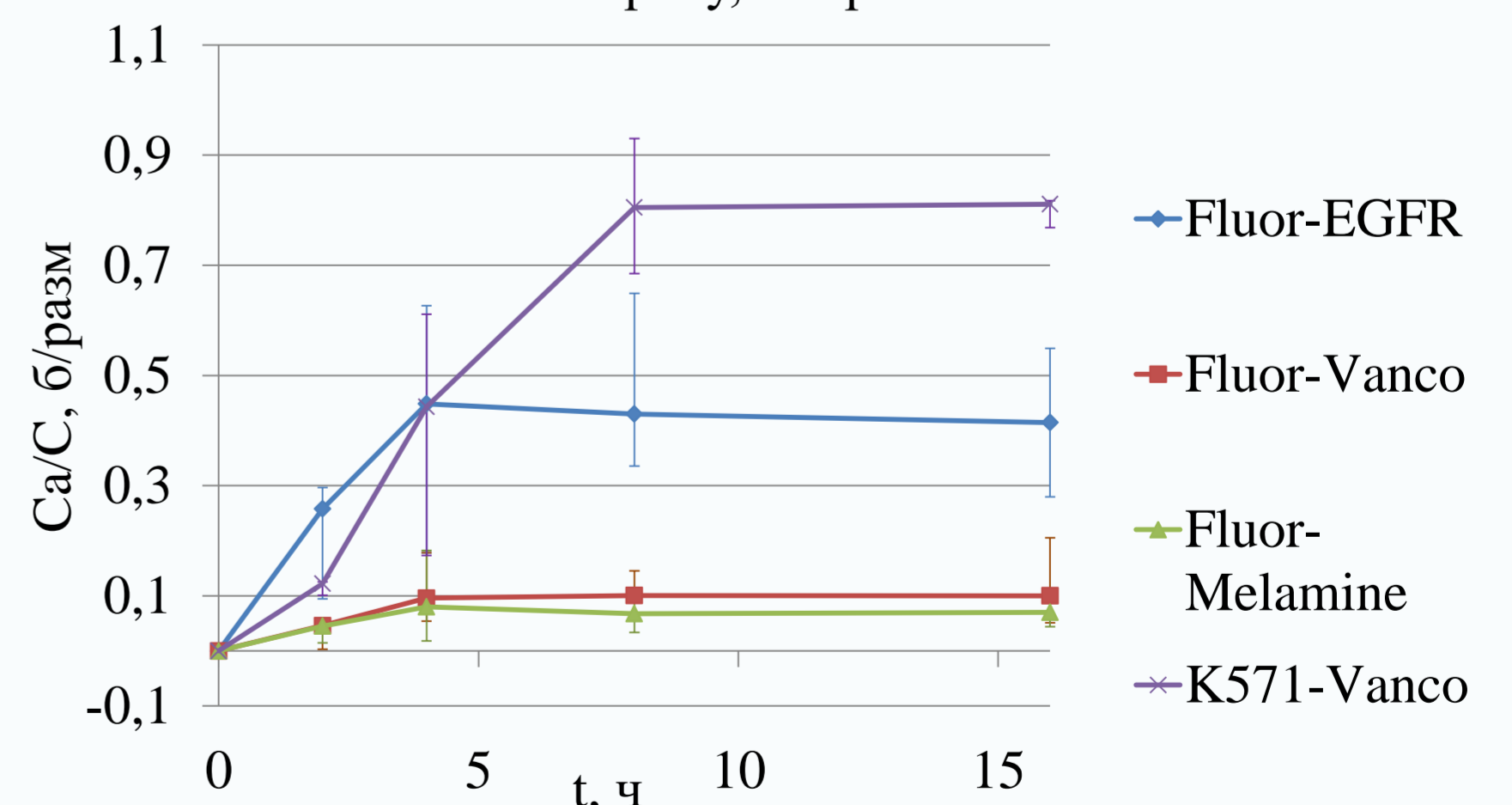
Значения $\log P_e$ исследованных соединений:

	Fluor-EGFR	Fluor-Vanco	Fluor-Melamine	K571-Vanco
$\log P_e$	-4,8	-6,1	-6,3	-5,1

Результаты:

- 1) Fluor-Melamine и Fluor-Vanco, в отличие от Fluor-EGFR и K571-Vanco, неспособны в достаточном количестве преодолевать ГЭБ ($\log P_e$ с учетом поправки на агрегацию $< -5,5$ после стандартных 16 часов инкубации).
- 2) Несмотря на склонность наночастиц к агрегации, скорость преодоления мембран достаточно высока для нивелирования этого эффекта – уже после 2 часов выдерживания значения $\log P_e$ составили -4,8 (Fluor-EGFR) и -5,1 (K571-Vanco).

Зависимость количества вещества, преодолевшего мембрану, от времени



Таким образом, использование модифицированного метода ПАМРА позволило установить, что Fluor-Melamine и Fluor-Vanco применимы только в случае опухолей, не требующих преодоления гематоэнцефалического барьера, в то время как Fluor-EGFR и K571-Vanco могут оказаться эффективными при лечении новообразований в мозге.