

ISSN 1726-9784 (Print)
ISSN 1726-9792 (Online)



Российский Биотерапевтический Журнал

Rossijskij bioterapevticeskij zurnal

**Russian Journal
of Biotherapy**

2

**TOM/VOL. 25
2026**

2026 • ТОМ 25 • № 2

Российский Биотерапевтический Журнал

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Журнал зарегистрирован в CrossRef, статьи индексируются с помощью цифрового идентификатора DOI.

Российский Биотерапевтический Журнал

Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal

теоретический и научно-практический рецензируемый журнал

Основная задача издания – публикация информации о современных достижениях в области изучения патогенеза, диагностики и терапии иммуноопосредованных и онкологических заболеваний, результатов научных исследований, национальных и международных доклинических и клинических исследований.

Цели журнала – информирование читателя о результатах изучения новых биомаркеров онкологических и иммуноопосредованных заболеваний, использования биомаркеров в диагностике и терапии злокачественных новообразований и патологий иммунной системы, исследований в области лекарственной и клеточной терапии, а также по вопросам технологии создания лекарств, биомедицинских клеточных продуктов и биоматериалов, проведения доклинических и клинических исследований новых препаратов и методов лечения; обобщение научных и практических достижений в области диагностики и терапии иммунологических и онкологических заболеваний.

ОСНОВАН В 2002 г. профессором А.Ю. Барышниковым

2 ^{ТОМ 25}
'26

Учредитель:

ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России

Адрес учредителя и редакции:
115478, Москва, Каширское
шоссе, 24, стр. 2.

Тел.: +7 (499) 324-10-65
Факс: +7 (499) 324-22-74

E-mail: biotherapy_rbj@mail.ru
rbjournal@ronc.ru

Адрес издательства:

115478, Москва, Каширское
шоссе, 24, стр. 15, НИИ
канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел./факс: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru

www.abvpress.ru

Редактор Ю.Н. Бирюкова
Корректор Н.А. Виленкина

Дизайн: Е.В. Степанова
Верстка: О.В. Гончарук

*Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых
коммуникаций. Регистрационный
номер: № 77-11695 от 21.01.2002,
ПИ № ФС77-53039 от 04.03.2013.*

При полной или частичной
перепечатке материалов
ссылка на журнал «Российский
биотерапевтический журнал»
обязательна.

ISSN 1726-9784 (Print)
ISSN 1726-9792 (Online)

Российский биотерапевтический журнал.
2026. Том 25. № 2. 1–120.

© Оформление, верстка.

ООО «ИД «АБВ-пресс», 2026

Подписной индекс в каталоге агентства
«Роспечать» — 81679.

Отпечатано в типографии «Фотобук Маркетинг».
107023, Москва, ул. Электрозаводская, 14, стр. 1.
Тираж 1000 экз. Бесплатно.

<https://bioterapevt.abvpress.ru>

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Киселевский Михаил Валентинович, д.м.н., профессор, заведующий отделом онкоиммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Караулов Александр Викторович, академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Покровский Вадим Сергеевич, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией биохимических основ фармакологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заведующий кафедрой биохимии им. Т.Т. Берёзова ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (Москва, Россия)

Шпрах Зоя Сергеевна, д. фарм.н., заведующая отделом разработки лекарственных препаратов ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Соколова Зинаида Александровна, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Балдуева Ирина Александровна, д.м.н., доцент, заведующая научным отделом онкоиммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Бунятян Наталья Дмитриевна, д.фарм.н., профессор, главный научный сотрудник научного отдела клинической фармакологии ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (Москва, Россия)

Евсегнеева Ирина Валентиновна, д.м.н., профессор, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Краснов Виктор Павлович, член-корреспондент РАН, д.х.н., профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией асимметрического синтеза Института органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН (Екатеринбург, Россия)

Курбатова Екатерина Алексеевна, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией терапевтических вакцин ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (Москва, Россия)

Меерович Игорь Геннадьевич, к.б.н., научный сотрудник департамента фармации Eurofins Lancaster Laboratories, Inc. (Каламазу, США)

Мисюрин Андрей Витальевич, д.б.н., директор ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН (Москва, Россия)

Набиев Игорь Руфаилович, д.х.н., профессор, профессор лаборатории по исследованиям в области нанонаук Реймского университета (Реймс, Франция), ведущий ученый лаборатории нанобиоинженерии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (Москва, Россия)

Новиков Виктор Владимирович, д.б.н., профессор, профессор кафедры молекулярной биологии и иммунологии Института биологии и биомедицины Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, заведующий лабораторией иммунохимии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» (Нижний Новгород, Россия)

Панкратов Андрей Александрович, к.б.н., заведующий отделением экспериментальной фармакологии и токсикологии Московского научного исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена — филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Петров Александр Юрьевич, д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармации и химии Уральского государственного медицинского университета (Екатеринбург, Россия)

Рапопорт Наталья Яковлевна, д.х.н., профессор, почетный профессор департамента биомедицинской инженерии университета Юты (Солт Лейк Сити, США)

Соколова Татьяна Михайловна, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва, Россия)

Степанова Евгения Владиславовна, д.м.н., профессор базовой кафедры Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (Москва, Россия)

Титов Константин Сергеевич, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник ГБУЗ «Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы», профессор кафедры онкологии и рентгенорадиологии им. академика В.П. Харченко Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», президент АНО «Национальный альянс специалистов по опухолям наружных локализаций» (Москва, Россия)

Уласов Илья Валентинович, д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела современных биоматериалов, профессор Института регенеративной медицины ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Эстрин Юрий Захарович, д.ест.н., почетный доктор РАН, действительный член Австралийской академии наук, иностранный член РАН, профессор департамента материаловедения университета им. Монаша (Клэйтон, Австралия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Барышникова Мария Анатольевна, к.фарм.н., заведующая лабораторией экспериментальной иммунотерапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Бочарова Ольга Алексеевна, д.б.н., профессор, заведующая лабораторией иммунофармакологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Демидов Лев Вадимович, д.м.н., профессор, главный научный консультант отделения опухолей кожи ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Иванов Павел Константинович, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биокolleкции и препаратов на основе антител ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кадагидзе Заира Григорьевна, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии и инновационных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кубасова Ирина Юрьевна, к.м.н., ученый секретарь ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Шубина Ирина Жановна, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточного иммунитета и биотехнологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

При направлении статьи в редакцию журнала «Российский биотерапевтический журнал» авторам необходимо руководствоваться следующими правилами, составленными с учетом «Единых требований к рукописям, предоставляемым в биомедицинские журналы» (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals), разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов (International Committee of Medical Journal Editors).

Редакция просит авторов в подготовке рукописей руководствоваться изложенными ниже правилами. Рукописи, оформленные без соблюдения данных правил, редакцией рассматриваться не будут.

1. Общие правила

Статья в обязательном порядке должна сопровождаться официальным направлением учреждения, в котором выполнена данная работа, с подписью руководителя, заверенной печатью учреждения. При первичном направлении рукописи в редакцию в копии электронного письма должны быть указаны все авторы данной статьи. Обратную связь с редакцией будет поддерживать ответственный автор, обозначенный в статье (см. пункт 2).

Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

Присланные статьи проходят проверку в системе «Антиплагиат» и принимаются в случае удовлетворительного результата (определяемого для каждой из статей в индивидуальном порядке по соотношению оригинальных фрагментов текста, заимствованных фрагментов и наличия оформленных ссылок).

2. Оформление данных о статье и авторах

Первая страница должна содержать:

- 1) название статьи прописными буквами (шрифт **жирный**);
- 2) инициалы и фамилии всех авторов (шрифт **обычный**);
- 3) место работы каждого из авторов, адрес учреждения с указанием индекса (шрифт *курсив*);
- 4) ORCID авторов;
- 5) адрес электронной почты ответственного за связь автора (шрифт *курсив*).

Данные, указанные в пунктах 1–3, должны быть предоставлены на русском и английском языках.

Пример:

ПУБЛИКАЦИЯ СТАТЬИ В «РОССИЙСКОМ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ЖУРНАЛЕ»

И.И. Иванов¹, П.П. Петров²

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское ш., 24;

²ФГБУ «НИИ по поиску новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», Россия, 119021 Москва, ул. Большая Пироговская, 11

Контакты: Иван Иванович Иванов chem_analysis@ronc.ru

THE PUBLICATION OF THE ARTICLE IN «ROSSIYSKY BIOTHERAPEVTICHESKY JURNAL»

I.I. Ivanov¹, P.P. Petrov²

¹N.N. Blokhin NMRCO; 24 Kashyrskoe Sh., Moscow, 115522, Russia;

²FSBSI "G.F. Gause Research Institute of search for new antibiotics"; 11 Bolshaya Pirogovskaya St, Moscow, 119435, Russia

Последняя страница должна содержать:

- 1) Сведения об авторе, ответственном за связь с редакцией:
 - фамилия, имя, отчество полностью;
 - занимаемая должность;
 - ученая степень, ученое звание;
 - контактный телефон;
 - рабочий адрес с указанием индекса;
 - адрес электронной почты.
- 2) Скан подписей всех авторов статьи.

3. Оформление текста

Статьи принимаются в формате doc, docx, rtf.

Шрифт – Times New Roman, размер 12, междустрочный интервал 1,5. Все страницы должны быть пронумерованы.

Текст статьи начинается со второй страницы.

4. Объем статей (включая список литературы, таблицы и подписи к рисункам)

Обзор литературы – не более 15 страниц;

оригинальная статья – не более 12 страниц;

краткие сообщения – не более 4 страниц.

Большой объем статьи допускается в индивидуальном порядке, по решению редакции.

5. Резюме и ключевые слова

Ко всем видам статей на второй странице должно быть приложено резюме на русском и английском языках. Слова «резюме» и «abstract» не указываются. Резюме должно кратко повторять структуру статьи, независимо от ее тематики. Для оригинальных статей резюме обязательно должно содержать следующие разделы:

- введение;
- материалы и методы;
- заключение (выводы).
- цель;
- результаты;

Объем резюме – 200–250 слов. Резюме не должно содержать ссылки на литературные источники и иллюстративный материал.

На этой же странице помещаются **ключевые слова** на русском и английском языке в количестве 3–10.

6. Структура статей

Оригинальная статья и краткое сообщение экспериментального или клинического характера должны содержать следующие разделы:

- введение;
- материалы и методы;
- заключение (выводы);
- при наличии финансирования исследования указать его источник (грант и т.д.).
- благодарности (раздел не является обязательным).
- цель;
- результаты и обсуждение;
- конфликт интересов;

Обзоры литературы, статьи теоретического и концептуального характера должны включать следующие разделы:

- введение;
- разделы по отдельным обсуждаемым вопросам;
- заключение (выводы).

Введение. Краткий обзор состояния вопроса со ссылками на наиболее значимые публикации, причина необходимости проведения исследования.

Цель. 1–3 предложения о том, какую проблему или гипотезу решает автор и с какой целью.

Материалы и методы. Подробное изложение методик исследования, аппаратуры, критериев отбора участников, их число и характеристики, способы и принципы распределения на группы, дизайн исследования, методы статистического анализа. Описанные методы исследования должны гарантировать возможность воспроизведения результатов. При перечислении использованной аппаратуры и препаратов в скобках указываются производитель и страна; при перечислении используемых в ходе работы лекарственных препаратов и химических веществ – их международное непатентованное (общепринятое) название, дозы, пути введения.

В конце статьи о проведенном исследовании указать, решением какого этического комитета оно одобрено, номер и дату протокола исследования, а также факт подписания испытуемыми информированного согласия.

Результаты. Должны быть представлены в логической последовательности, отражать данные описанного выше исследования с указаниями на графики, таблицы и рисунки. Допускается сопоставление полученных результатов с данными других исследователей. Возможно включение обоснованных рекомендаций для клинической практики и применения полученных данных в предстоящих исследованиях. Следует избегать повторения сведений из раздела «Введение». Результаты представляются четко, в виде коротких описаний.

Заключение. Должно быть кратким и лаконичным. Подведение итога проделанной работы и гипотеза авторов о значении полученных данных – в рамках патогенеза, лечения, диагностики; перспективы использования полученных данных.

7. Иллюстративный материал

Иллюстративным материалом являются фотографии, рисунки, схемы, графики, диаграммы, таблицы. В тексте должны быть указаны ссылки на таблицы и рисунки, например: (табл. 1), (рис. 1) или на рис. 1 представлены. . . , которые должны быть размещены в соответствующих по смыслу абзацах и последовательно пронумерованы. Рисунки и таблицы нумеруются отдельно.

Иллюстративный материал должен быть представлен в виде отдельных файлов и не фигурировать в тексте статьи. Схемы, графики, диаграммы, таблицы могут быть собраны в общие файлы по типу иллюстративного материала с началом каждого с новой страницы. Например: все таблицы собраны в отдельный от статьи файл, где каждая новая таблица начинается с новой страницы. Если в этой же статье есть диаграммы, то они будут составлять следующий файл, где будут собраны исключительно диаграммы, и каждая из них будет размещена на отдельном листе документа. Файлы иллюстративного материала должны позволять воспроизвести высокое качество изображения в электронной и печатной версии журнала. Если иллюстративный материал ранее был опубликован в других изданиях, автор обязан предоставить в редакцию разрешение правообладателя на публикацию данного изображения в другом журнале, в противном случае это будет считаться плагиатом и к публикации принято не будет. Количество иллюстраций должно соответствовать объему предоставляемой информации, избыточность иллюстраций может привести к возвращению авторам статьи для доработки на предмет сокращения. Данные таблиц не должны повторять данные рисунков и текста и наоборот.

Фотографии представляются в формате TIFF, JPG с разрешением не менее 300 dpi (точек на дюйм). Глаза пациентов или здоровых испытуемых на фотографиях должны быть закрыты черным прямоугольником, в случае его отсутствия автор должен предоставить в редакцию письменное разрешение пациента на публикацию.

Рисунки, графики, схемы, диаграммы представляются в формате EPS Adobe Illustrator 7.0–10.0 или Office Excel. При невозможности представления в данном формате необходимо связаться с редакцией.

Все **рисунки** должны быть пронумерованы и снабжены подписными подписями. Фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита – «а», «б» и т.д. Все сокращения, обозначения в виде кривых, букв, цифр и т.д., использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подписной подписи. Подписи к рисункам даются на отдельном листе после текста статьи в одном с ней файле.

Названия рисунков должны быть переведены на английский язык.

Таблицы должны быть наглядными, иметь название и порядковый номер. Заголовки граф должны соответствовать их содержанию. Все сокращения расшифровываются в примечании к таблице. Необходимо указывать применявшийся для анализа статистический метод и соответствующее значение достоверности (р). В случае размера таблиц больше, чем на лист А4, они представляются в виде отдельного файла doc, docx, rtf.

Названия таблиц должны быть переведены на английский язык.

Все **формулы** должны быть тщательно выверены автором, набраны или встроены в формат текстового редактора. В формулах необходимо различать строчные и прописные, латинские и греческие, подстрочные и надстрочные буквы. Используемые автором сокращения должны быть разъяснены под формулой.

8. Единицы измерения и сокращения

Единицы измерения даются в Международной системе единиц (СИ). Если исследование проводилось на приборах, дающих показатели в других единицах, необходимо перевести их в систему СИ с указанием коэффициента пересчета или компьютерной программы в разделе «Материалы и методы».

Сокращения слов не допускаются, кроме общепринятых. Все аббревиатуры в тексте статьи должны быть полностью расшифрованы при первом упоминании (например, рак предстательной железы (РПЖ)). Список использованных сокращений приводится после списка литературы. Не следует параллельно использовать термин и его сокращение.

Название генов пишется курсивом, название белков – обычным шрифтом.

9. Список литературы

Не менее 50 процентов источников из списка литературы должны быть опубликованы за последние 5 лет, в том числе в журналах, индексируемых в базах данных *Web of Science, Scopus, Science Index*.

The "Russian Journal of Biotherapy" is put on the Higher Attestation Commission list of periodicals (the list of leading peer-reviewed scientific journals recommended to publish the basic research results of doctor's and candidate's theses). Journal has been registered with CrossRef; its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

Russian Journal of Biotherapy

Peer-reviewed theoretical and SCIENTIFIC AND PRACTICAL JOURNAL

The main objective of Russian Journal of Biotherapy is a publication of current achievements in the study of pathogenesis, diagnostics, and therapy of immune-mediated and oncological diseases, results of the research studies, and results of national and international pre-clinical and clinical studies.

The publication aim is to present the results of the studies of new biomarkers of oncological and immune diseases, the use of biomarkers in diagnostics and therapy of tumors and disorders of the immune system, studies in the field of drug and cell therapy, studies of drug development technologies, biomedical cell products and biomaterials, pre-clinical and clinical studies of new medicines and methods of treatment. The main focus of the journal is to summarize scientific and practical achievements in the field of immunological and oncological diseases therapy.

FOUNDED IN 2002 by Professor A.Yu. Baryshnikov

2 VOL. 25
'26

Founder:

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation

Founder and editorial office:

Bld. 2, 24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478.

Tel.: +7 (499) 324-10-65
Fax: +7 (499) 324-22-74

e-mail: biotherapy_rbj@mail.ru
rbjournal@ronc.ru

Publishing office:

Research Institute of Carcinogenesis, Floor 3, Bld. 15, 24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478.

Tel./Fax: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru

www.abvpress.ru

Editor Yu.N. Biriukova
Proofreader N.A. Vilenkina
Designer E.V. Stepanova
Maker-up O.V. Goncharuk

The journal is registered at the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media
Registration number: ПИ № 77-11695 dated 21.01.2002;
ПИ № ФС77-53039 dated 04.03.2013

If materials are reprinted in whole or in part, reference must necessarily be made to the "Rossijskij bioterapevticeskij zurnal".

ISSN 1726-9784 (Print)
ISSN 1726-9792 (Online)

Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal. 2026. Volume 25. No 2. 1–120.

© Design, layout PH "ABV-Press", 2026
Rospechat' catalogue index: 81679.
Printed in the printing house "Photobook Marketing" 107023, Russia, Moscow, Elektrozavodskaya str., 14, building 1.
1,000 copies. Free distribution
<https://bioterapevt.abvpress.ru>

EDITOR-IN-CHIEF

Kiselevskiy, Mikhail V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Oncoimmunology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

DEPUTIES EDITOR-IN-CHIEF

Karaulov, Alexander V., Academician of the Russian Academy of Sciences, PhD, DSc, Professor, Head of Chair of Clinical Immunology and Allergology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenovskiy University) (Moscow, Russia)

Pokrovsky, Vadim S., PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Biochemical Foundations of Pharmacology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Head of Chair of the T. T. Berezov Department of Biochemistry, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (Moscow, Russia)

Shprakh, Zoya S., PhD, DSc, Head of the Department of Drug Development, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EXECUTIVE EDITOR

Sokolova, Zinaida A., PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Experimental Immunotherapy, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Baldueva, Irina A., PhD, DSc, Associate Professor, Head of Research Department of Oncoimmunology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Saint-Petersburg, Russia)

Bunyatyan, Natalia D., PhD, DSc, Professor, Major Researcher of Scientific Department of Clinical Pharmacology, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Evsegneeva, Irina V., MD, PhD, DSc, Professor, Professor of Chair of Clinical Immunology and Allergology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenovskiy University) (Moscow, Russia)

Krasnov, Viktor P., PhD, DSc, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Major Researcher, Head of Laboratory of Asymmetrical Synthesis, I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of Russian Academy of Sciences (Ekaterinburg, Russia)

Kurbatova, Ekaterina A., PhD, DSc, Professor, Head of Laboratory of Therapeutic Vaccines, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (Moscow, Russia)

Meerovich, Igor G., PhD, Scientist II of Pharma Department, Eurofins Lancaster Laboratories, Inc. (Kalamazoo, USA)

Misyurin, Andrey V., PhD, DSc, Director of the N.I. Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

Nabiev, Igor R., PhD, DSc, Professor, Professor of Laboratory of Studies in the Field of Nanoscience, University of Reims (Reims, France), Leading Scientist of Laboratory Nanobioengineering, National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute) (Moscow, Russia)

Novikov, Viktor V., PhD, DSc, Professor, Professor of Chair of Molecular Biology and Immunology of the Institute of Biology and Biomedicine, N.I. Lobachevsky Nizhgorodsky State University, Head of Laboratory of Immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology (Nizhniy Novgorod, Russia)

Pankratov, Andrey A., PhD, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Toxicology, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Petrov, Alexander Yu., PhD, DSc, Professor, Head of Chair of Pharmacy, Ural's State Medical University (Ekaterinburg, Russia)

Rapoport, Natalya Ya., PhD, DSc, Research Professor Emerita, Department of Biomedical Engineering, University of Utah (Salt Lake City, USA)

Sokolova, Tatiana M., PhD, DSc, Leading Researcher of Laboratory of Cell Engineering, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Stepanova, Eugenia V., PhD, DSc, Professor of the Basic Department of the Institute of Bioorganic Chemistry, Academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

Titov, Konstantin S., MD, PhD, DSc, Professor, Leading researcher at the Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center named after S.P. Botkin of the Moscow Department of Health, Professor of the Department of Oncology and Radiology named after Academician V.P. Kharchenko of the Medical Institute of the RUDN University, President of the National Alliance of Specialists in Tumors of External Localization (Moscow, Russia)

Ulasov, Ilya V., PhD, DSc, Leading Researcher at the Department of Modern Biomaterials, Professor at the Institute of Regenerative Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenovskiy University) (Moscow, Russia)

Estrin, Yuri Z., PhD, DSc, Honorary Doctor of the Russian Academy of Sciences, Fellow of the Australian Academy of Science, Foreign member of the Russian Academy of Sciences, Professor of Department of Materials Science and Engineering, Monash University (Clayton, Australia)

EDITORIAL COUNCIL

Baryshnikova, Maria A., PhD, Head of Laboratory of Experimental Immunotherapy, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Bocharova, Olga A., PhD, DSc, Professor, Head of Laboratory of Immunopharmacology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Demidov, Lev V., MD, PhD, DSc, Professor, Chief Scientific Consultant of the Department of Skin Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Ivanov, Pavel K., PhD, DSc, Leading Researcher at the Laboratory of Biocollection and Antibody-based drugs, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kadagidze, Zaira G., MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher at the Laboratory of Clinical Immunology and Innovative Technologies, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kubasova, Irina Yu., PhD, Scientific Registrar, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Shubina, Irina Zh., PhD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Cell Immunity and biotechnology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

А.Д. Косова, П.П. Снетков, С.Н. Морозкина

Перспективы использования меченной радионуклидами гиалуроновой кислоты в качестве радиофармацевтической платформы для диагностики и визуализации. 10

С.Д. Щеглов, Я.О. Садовская, А.О. Каримова, О.Н. Солопова, Ж.М. Козлова

Системы доставки агонистов STING для иммунотерапии злокачественных новообразований. 21

В.К. Козлов, В.В. Стельмах, И.Г. Козлов

Препараты рекомбинантного интерлейкина 2 в лечении вторичной иммунной недостаточности при деструктивном туберкулезе легких: систематический обзор. 32

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Г.Г. Макиев, М.Ю. Федянин, Р.Ш. Абдулаева, С.И. Полянская, А.Е. Калинин, А.Н. Поляков, А.Б. Райс, Н.М. Кутаков, А.В. Коршак, А.Ю. Кащеева, К.С. Лезина, А.М. Строганова, А.А. Трякин

Прогностическое значение мутаций *KRAS*, *NRAS* и *BRAF* у пациентов с колоректальным раком и метастазами в печени (результаты одноцентрового ретроспективного исследования). 51

Н.А. Купрышина, С.В. Чулкова, А.А. Семенова, О.П. Колбацкая, Г.С. Тумян, Т.Н. Заботина

Множественная миелома: иммунофенотип плазматических клеток и мониторинг минимальной остаточной болезни после индукционной терапии и трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток 64

О.М. Афанасьева, И.М. Грубер, Д.С. Воробьев, Л.Н. Нестеренко, Г.И. Алаторцева, Н.Е. Ястребова, О.В. Жигунова

Иммунобиологические свойства смеси антигенов экспериментальных протективных белоксодержащих фракций, выделенных разными методами из штамма *Streptococcus oralis* 72

Р.В. Журиков, Л.П. Коваленко, Е.А. Иванова, А.Г. Васильчук, Л.Г. Колик, Т.А. Гудашева

Эффективность применения 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в монотерапии и в комбинации с доксорубицином на мышах при раке толстой кишки АКАТОЛ 81

Е.В. Игнатьева, И.В. Ярцева, Д.А. Козин, Д.В. Гусев, Л.В. Эктова, З.С. Шпрах

Инструментальные методы анализа производных индолокарбазола, обладающих противоопухолевой активностью. 89

И.В. Маркин, Н.А. Галкин, М.А. Джавахян, Е.С. Щелканова, Н.Б. Фадеев, Н.В. Варламова, А.Ш. Баймашев

Взаимосвязи между классами биоактивных веществ и лечебными свойствами растений полуострова Абрау: математические подходы к оценке 103

REVIEW

Anna D. Kosova, Petr P. Snetkov, Svetlana N. Morozkina

Prospects for the use radiolabeled hyaluronic acid as a radiopharmaceutical platform for diagnostics and visualization10

Stepan D. Shceglov, Yana O. Sadovskaya, Anastasia O. Karimova, Olga N. Solopova, Zhanna M. Kozlova

Delivery systems of STING agonists for the immunotherapy of malignant neoplasms21

Viktor K. Kozlov, Viktoriya V. Stelmakh, Ivan G. Kozlov

The effectiveness of recombinant interleukin-2 preparations in secondary immunodeficiency developing in destructive pulmonary tuberculosis. Systematic review32

ORIGINAL REPORTS

Georgii G. Makiev, Mikhail Yu. Fedyanin, Rukiyat Sh. Abdulaeva, Sofiya I. Polyanskaya, Aleksey E. Kalinin, Alexander N. Polyakov, Anastasia B. Rays, Nikita M. Kutakov, Alina V. Korshak, Alina Yu. Kashcheeva, Ksenia S. Lezina, Anna M. Stroganova, Alexey A. Tryakin

Prognostic significance of KRAS, NRAS, and BRAF mutations in patients with colorectal cancer and liver metastases: results of a single-center retrospective study51

Natalya A. Kupriyshina, Svetlana V. Chulkova, Anastasiya A. Semenova, Olga P. Kolbatskaya, Gayane S. Tumyan, Tatiana N. Zabolina

Multiple myeloma: plasma cell immunophenotype and monitoring of minimal residual disease after induction therapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation64

Olga M. Afanasyeva, Irina M. Gruber, Denis S. Vorobyev, Lyubov N. Nesterenko, Galina I. Alatorseva, Natalia E. Yastrebova, Olga V. Zhigunova

Immunobiological properties of a mixture of antigens from experimental protective protein-containing fractions isolated by different methods from the *Streptococcus oralis* strain.72

Ruslan V. Zhurikov, Larisa P. Kovalenko, Elena A. Ivanova, Anastasia G. Vasilchuk, Larisa G. Kolik, Tatiana A. Gudasheva

Efficacy of 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-oxypyrimidine in monotherapy and in combination with doxorubicin on AKATOL colon cancer in mice81

Elena V. Ignateva, Irina V. Yartseva, Dmitry A. Kozin, Dmitriy V. Gusev, Lydia V. Ektova, Zoya S. Shprakh

Instrumental methods in analytical studies of indolocarbazole derivatives with antitumor activity89

Ilya V. Markin, Nikita A. Galkin, Marina A. Dzhavakhyan, Elena S. Shchelkanova, Nikolay B. Fadeev, Natalya V. Varlamova, Artur S. Baimashev

Relationships between classes of bioactive substances and medicinal properties of plants of the Abrau Peninsula: Mathematical approaches to assessment.103

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-10-20>

Перспективы использования меченной радионуклидами гиалуроновой кислоты в качестве радиофармацевтической платформы для диагностики и визуализации

А.Д. Косова^{1,2}, П.П. Снетков¹⁻³, С.Н. Морозкина¹⁻³

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО»; Россия, 197101 Санкт-Петербург, Кронверкский пр-кт, 49, лит. А;

²ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; Россия, 191036 Санкт-Петербург, Лиговский пр-кт, 2–4;

³ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова»; Россия, 360004 Кабардино-Балкарская Республика, Нальчик, ул. Чернышевского, 173

Контакты: Анна Дмитриевна Косова annkosova@bk.ru

Введение. Радионуклидная терапия и молекулярная визуализация являются перспективными направлениями ядерной медицины, основанными на селективном накоплении радиоактивных фармацевтических препаратов в патологических очагах. В качестве биосовместимой платформы для таргетной доставки радионуклидов особый интерес представляет гиалуроновая кислота (ГК) благодаря связыванию с рецепторами кластера дифференцировки 44, RHAMM (рецептор, опосредующий подвижность, индуцируемую ГК) и Toll-подобными рецепторами, сверхэкспрессированными при опухолевых, воспалительных и дегенеративных заболеваниях.

Цель исследования – анализ современных подходов к получению меченной радионуклидами ГК, используемых радионуклидов, методов визуализации и перспектив применения матриц на основе гиалуроновой кислоты в диагностике и тераностике заболеваний.

Материалы и методы. Проведен анализ современных данных литературы, опубликованных преимущественно после 2020 г. и представленных в международных научных базах данных PubMed, Google Scholar, Scopus и других рецензируемых источниках. Дополнительно рассмотрены ранние фундаментальные исследования, посвященные изучению метаболизма и радиомечения ГК.

Результаты. Рассмотрены основные методы получения меченной радионуклидами ГК, включая прямое и хелаторопосредованное мечение, а также наиболее применяемые радионуклиды для диагностики и терапии, среди которых технеций-99m, галлий-68, йод-125, йод-131, лютеций-177 и иттрий-90. Показано, что благодаря высокой биосовместимости, наличию функциональных групп для модификации и способности селективно связываться с клеточными рецепторами ГК обеспечивает направленное накопление радиофармпрепаратов в опухолевых, воспалительных и фиброзных тканях. Особое внимание уделено методам однофотонной эмиссионной компьютерной томографии и позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией, позволяющим визуализировать биораспределение радиомеченных гиалуроновых матриц *in vivo*. Рассмотрены примеры радиофармпрепаратов на основе ГК, содержащих дополнительные терапевтические агенты, включая куркумин, для реализации синергетического тераностического эффекта.

Заключение. Для создания радиофармпрепаратов ГК является перспективной платформой благодаря высокой биосовместимости, возможности химической модификации и селективному взаимодействию с рецепторами патологически измененных тканей. Использование меченных радионуклидами матриц на основе гиалуроновой кислоты открывает широкие перспективы для развития персонализированной диагностики, молекулярной визуализации и таргетной радионуклидной терапии.

Ключевые слова: гиалуроновая кислота, радионуклидная терапия, ядерная медицина, радиоактивное мечение, полимерные матрицы

Для цитирования: Косова А.Д., Снетков П.П., Морозкина С.Н. Перспективы использования меченной радионуклидами гиалуроновой кислоты в качестве радиофармацевтической платформы для диагностики и визуализации. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(2):10–20.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-10-20>

Prospects for the use radiolabeled hyaluronic acid as a radiopharmaceutical platform for diagnostics and visualization

Anna D. Kosova^{1,2}, Petr P. Snetkov¹⁻³, Svetlana N. Morozkina¹⁻³

¹ITMO University; Build. A, 49 Kronverksky Prospekt, Saint Petersburg 197101, Russia;

²Saint-Petersburg State Phthisiopulmonology Research Institute, Ministry of Health of Russia; 2–4 Ligovsky Prospekt, Saint Petersburg 191036, Russia;

³Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov; 173 Chernyshevskogo St., Nalchik 360004, Kabardino-Balkarian Republic, Russia

Contacts: Anna Dmitrievna Kosova annkosova@bk.ru

Background. Radionuclide therapy and molecular imaging are promising areas of nuclear medicine based on the selective accumulation of radiopharmaceuticals in pathological foci. Hyaluronic acid (HA) is of particular interest as a biocompatible platform for targeted radionuclide delivery due to its binding to CD44 (cluster of differentiation 44), RHAMM (receptor for hyaluronan-mediated motility), and TRL (Toll-like receptors) overexpressed in tumor, inflammatory, and degenerative diseases.

Aim. Analysis of modern approaches for the obtaining of radiolabeled HA, radionuclides used, imaging methods and prospects for the use of hyaluronic-based matrices in the diagnosis and theranostics of diseases.

Materials and methods. The analysis of hyaluronic-based matrices data published mainly after 2020 and presented in the international scientific databases PubMed, Google Scholar, Scopus and other peer-reviewed sources is carried out. Additionally, early fundamental research on the metabolism and radiotherapy of HA is reviewed.

Results. The main methods for the obtaining of radiolabeled HA, including direct and chelator-mediated labeling, as well as the most commonly used radionuclides for diagnosis and therapy, including technetium-99m, gallium-68, iodine-125, iodine-131, lutetium-177 and yttrium-90, are considered. It has been shown that due to its high biocompatibility, the presence of functional groups for modification, and the ability to selectively bind to cellular receptors, HA provides targeted accumulation of radiopharmaceuticals in tumor, inflammatory, and fibrous tissues. Special attention is paid to the methods of single-photon emission computed tomography and positron emission tomography with computed tomography, which make it possible to visualize the bio-distribution of radiolabeled hyaluronic matrices *in vivo*. Examples of radiopharmaceuticals based on HA containing additional therapeutic agents, including curcumin, for the realization of a synergistic theranostic effect are considered.

Conclusion. HA is a promising platform for the creation of radiopharmaceuticals due to its high biocompatibility, the possibility of chemical modification and selective interaction with receptors of pathologically altered tissues. The use of radiolabeled hyaluronic matrices opens up broad prospects for the development of personalized diagnostics, molecular imaging, and targeted radionuclide therapy.

Keywords: hyaluronic acid, radionuclide therapy, nuclear medicine, radioactive labelling, polymer matrices

For citation: Kosova A.D., Snetkov P.P., Morozkina S.N. Prospects for the use radiolabeled hyaluronic acid as a radiopharmaceutical platform for diagnostics and visualization. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(2):10–20. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-10-20>

Введение

В современной медицине высока потребность в персонализированных подходах к лечению онкологических, воспалительных и дегенеративных заболеваний, особенно в случаях резистентности к терапии. К таким подходам относится радионуклидная терапия — метод селективного воздействия на патологические очаги с помощью радиоактивных изотопов, избирательно накапливающихся в целевых тканях за счет молекулярного таргетирования [1].

В качестве биосовместимой платформы для таргетной доставки особый интерес вызывает гиалуроновая кислота (ГК) [2]. Это природный гетерополисахарид, относящийся к группе гликозаминогликанов и состоящий из чередующихся остатков N-ацетил-D-глюкозамина и D-глюкуроновой кислоты. ГК

обладает уникальными физико-химическими и биологическими свойствами, благодаря которым находит широкое применение в биомедицине, в частности в таргетной терапии и диагностике различных заболеваний [3, 4].

Цель исследования — анализ современных подходов к получению меченой радионуклидами гиалуроновой кислоты, используемых радионуклидов, методов визуализации и перспектив применения матриц на основе гиалуроновой кислоты в диагностике и тераностике заболеваний.

Материалы и методы

Проведен анализ современных данных литературы, опубликованных преимущественно после 2020 г. и представленных в международных научных базах

данных PubMed, MDPI (Multidisciplinary Digital Publishing Institute), Scopus и других рецензируемых источниках. Дополнительно рассмотрены ранние фундаментальные исследования, посвященные изучению метаболизма и радиомечения ГК.

Современные подходы к получению меченной радионуклидами гиалуроновой кислоты

Методы радионуклидной диагностики

Методы ядерной медицины основаны на избирательном накоплении радионуклидов в патологических очагах и испускании такими нуклидами излучения, фиксируемого специальными детекторами. Данные методы ядерной медицины относятся к методам молекулярной визуализации, которые позволяют изучать патологические процессы на молекулярном и клеточном уровнях. Их принцип основан на визуализации распределения радиоактивных фармацевтических препаратов (РФП), селективно накапливающихся в органах и тканях после введения в исследуемый организм.

Как правило, в ядерной медицине для наблюдения за метаболическими и функциональными процессами, оценки клеточной функции и состояния различных органов и систем организма, а также для диагностики и лечения заболеваний используют либо сцинтиграфию, либо позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ), либо однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (ОФЭКТ). Эти методы обладают превосходной чувствительностью и могут предоставить биохимическую информацию о патологических состояниях [5].

Сцинтиграфия — современный метод функциональной визуализации, заключающийся во введении в организм γ -излучающих радиоактивных изотопов и получении изображения путем определения испускаемого ими излучения для оценки функционального состояния различных органов, в которых специфически накапливаются РФП [6].

Однофотонная эмиссионная компьютерная томография — метод, который дает возможность получить послойную картину распределения РФП и 3D-томографическую реконструкцию. С помощью вращающейся γ -камеры детектируется излучение таких радионуклидов, как технеций-99m (^{99m}Tc), лутетий-177 (^{177}Lu). ОФЭКТ часто сочетается с рентгеновской компьютерной томографией (ОФЭКТ/КТ), что позволяет одновременно видеть не только включение РФП в какой-то патологический процесс, но и точно определить пространственную локализацию по картине томографического среза. Это значительно улучшает качество сцинтиграфических изображений и повышает точность диагностики [7–10].

Позитронно-эмиссионная томография — высокочувствительный метод молекулярной визуализа-

ции, основанный на детекции пар γ -квантов, возникающих при аннигиляции позитронов, испускаемых радионуклидами. Возможности ПЭТ расширяются в сочетании с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ) за счет точной пространственной привязки данных о распределении РФП к анатомическим структурам организма. Данный метод позволяет визуализировать распределение меченной позитронизлучающими радионуклидами (галлий-68 — ^{68}Ga , медь-64 — ^{64}Cu , фтор-18 — ^{18}F , цирконий-89 — ^{89}Zr) матрицы в организме с высоким пространственным разрешением (2–4 мм): ПЭТ выявляет участки повышенного накопления гиалуронана, связанные с гиперэкспрессией рецепторов кластера дифференцировки 44 (cluster of differentiation 44 — CD44) в опухолях, зонах воспаления или фиброза, а КТ обеспечивает детализированную анатомическую визуализацию [1, 11].

Особую ценность ПЭТ/КТ приобретает при планировании радионуклидной терапии за счет точного определения мишени, расчета SUV — стандартизированного уровня накопления и дозы облучения. В ревматологии комбинация ПЭТ с ГК и КТ дает возможность одновременно оценивать активность воспалительного процесса и структурные изменения в суставах и применяется для изучения воспалительных, опухолевых и дегенеративных процессов [8, 12–15].

Гиалуроновая кислота и ее свойства

За счет множества гидроксильных и карбоксильных групп в молекуле ГК очень гидрофильна и способна эффективно удерживать количество воды, в 1000 раз превышающее ее собственную массу. В результате межклеточное вещество становится желеобразным, поддерживает клетки и способствует их свободному передвижению [16]. Растворы ГК демонстрируют уникальные реологические свойства, проявляя себя как вязкоупругий гель даже при низких концентрациях за счет образования непрерывной сетки из длинных линейных цепей, регулируя диффузию макромолекул и создавая каналы для селективного транспорта веществ. Возникающее вследствие гидратации набухание определяет биологическую роль ГК в регулировании проницаемости тканей. Гидрофобные области в макромолекулах ГК способствуют ее взаимодействию с клеточными мембранами и белками гидрофобного типа, что позволяет обеспечивать подвижность клеток.

Поскольку ГК — природный компонент организма человека, содержащийся, например, в хрящах, коже, синовиальной жидкости и стекловидном теле глаза, для данного соединения характерна высокая биосовместимость и биоразлагаемость и, следовательно, отсутствие иммуногенности, что определяет безопасность, необходимую для использования в медицине [17–19]. Период полужизни ГК в эпидермисе

составляет всего 1–2 дня, а ее метаболизм представляет собой тонкорегулируемый процесс, осуществляемый ферментами семейства гиалуронидаз (HYAL1, HYAL2) и гиалуронансинтазами (HAS1–3), причем нарушение баланса между синтезом высоко- и низкомолекулярных фракций играет ключевую роль в патогенезе воспалительных заболеваний. Крайне важным является взаимодействие ГК с клеточными рецепторами CD44, RHAMM (receptor for hyaluronan-mediated motility – рецептор, опосредующий подвижность, индуцируемую гиалуроновой кислотой), Toll-подобными рецепторами (TLR) [2, 17, 18].

Главный рецептор ГК – CD44, трансмембранный гликопротеин, находящийся на поверхности многих опухолевых клеток организма и регулирующий клеточную пролиферацию, миграцию и адгезию, а также задействованный в различных аспектах опухолевого роста, метастазирования и инвазивных процессах. При связывании с ГК он запускает PI3K/Akt, Ras/MAPK и NF-κB – ключевые пути, способствующие росту опухоли. Повышенная экспрессия CD44 обнаружена на клетках различных типов опухолей, включая рак легких, груди, яичников, толстой кишки и гортани.

Рецептор опосредованного захвата ГК – RHAMM – взаимодействует с цитоскелетом, участвует в клеточной миграции и инвазии, минимально экспрессируется или не экспрессируется в нормальных тканях в ответ на сильное воспаление [20]. Связываясь с ГК, RHAMM активирует путь Ras/ERK, чем способствует злокачественной трансформации клеток. Специфично связываясь с данными рецепторами, ГК и ее производные селективно накапливаются в окружении опухоли.

Небольшие фрагменты ГК и олигосахариды также служат агонистами TLR, запуская воспалительные каскады.

На связывание с рецепторами, поглощение клетками и распределение в тканях существенно влияет молекулярная масса ГК. Фрагменты ГК с низкой молекулярной массой (как правило, менее 200 кДа), согласно опубликованным данным, обладают более сильными биологическими эффектами и провоспалительными свойствами, чем ГК с высокой молекулярной массой, особенно если она составляет менее 100 кДа [3].

Благодаря своим свойствам ГК и ее производные активно используются в области биомедицины; наночастицы на основе ГК применяют в качестве носителей для направленной доставки широкого спектра терапевтических или диагностических агентов в организм. Например, на основе ГК создают полимерные матрицы РФП для минимизации поражающего воздействия радиоактивных элементов на здоровые клетки и ткани.

Хелаторы

Большинство радионуклидов на основе металлов не могут образовывать прочные связи с органическими соединениями. Для этого требуется хелатор, способный прочно и селективно связывать металлы, переводя их в биосовместимую форму. Хелатор – это молекула, содержащая лиганд, связанный с центральным атомом металла в двух или более точках, что позволяет создавать комплексы с радионуклидами, также называемые радиометаллами, среди которых ^{177}Lu , ^{64}Cu , ^{68}Ga , ^{89}Zr , иттрий-90 (^{90}Y) [21]. Такой тип радиомечения обеспечивает наибольшую стабильность и активность *in vivo*, но требует сложного синтеза. Чтобы радиоактивные металлы образовывали стабильные конъюгаты с носителем для биораспределения *in vivo*, необходимо учитывать факторы, влияющие на химию координационных связей: радиус, номер и заряд атома, координационное число, стерические предпочтения, твердость металла и период его полураспада [22, 23].

Считается, что эффективность хелатора определяется способностью образовывать термодинамически и кинетически стабильные комплексы с радионуклидом, что сопровождается увеличением энтропии системы [24]. Так, идеальный хелатор должен быстро связывать радиометалл в мягких условиях (pH, температура, давление), обеспечивая высокую стабильность комплекса *in vivo*, однако универсального хелатора не существует [21, 25].

В настоящее время широко используются бифункциональные хелаторы, состоящие из хелатирующей части, которая связывается с радионуклидом, и функциональной части, которая ковалентно конъюгируется с функциональной группой полимерной матрицы [23]. В современной научной литературе все многообразие бифункциональных хелаторов принято классифицировать по их структурно-химическим особенностям, выделяя 3 основных типа: макро-, ациклические и мезоциклические [26]. «Золотым стандартом» бифункционального хелатора в настоящее время является макроциклический 1,4,7,10-тетраазамакрододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота (DOTA), имеющая модифицируемую функциональную часть для соединения с гиалуроновым носителем, а также хелатирующую часть: 4 азота и 4 карбоксильные группы, образующие стабильные комплексы как с диагностическими изотопами ($^{68}\text{Ga}^{3+}$), так и с терапевтическими ($^{177}\text{Lu}^{3+}$, $^{90}\text{Y}^{3+}$). Несмотря на ограниченную применимость DOTA в силу необходимости жестких условий хелатирования, она обладает универсальностью, высокой стабильностью и возможностью модификаций, поэтому широко используется для связывания радионуклидов с гиалуроновыми и другими матрицами [21]. К макроциклическим хелаторам относятся и лиганды на основе TACN

(1,4,7-триазаацетонан), характеризующиеся высокой кинетической инертностью образующихся комплексов, т.е. минимальной степенью высвобождения токсичного металла *in vivo* [27]. Недостатком данного типа хелаторов является медленная кинетика комплексообразования, требующая нагревания, что ограничивает применение с термолabile биомолекулами [28]. В свою очередь, ациклические хелаторы отличаются быстрым и эффективным связыванием радиометалла при комнатной температуре, что является критическим преимуществом для радионуклидов с коротким периодом полураспада, таких как ^{68}Ga . К этой обширной группе относятся такие соединения, как ДТРА (диэтиленetriаминпентауксусная кислота), HBED (N, N'-бис (2-гидроксibenзил) этилендиамин-N, N'-диуксусная кислота), различные пиридинкарбоксилаты, а также природные и синтетические сидерофоры и трис (гидроксипиридины) [26]. Промежуточное положение занимают мезоциклические диазепины, структура которых призвана сочетать скорость связывания ациклических аналогов с улучшенной стабильностью. Активно ведутся исследования инновационных структур, среди которых можно отметить хелатор Масгора. В отличие от DOTA он демонстрирует исключительную селективность к актинию-225, позволяя проводить количественное мечение в мягких условиях (25 °C) и даже удерживать образующиеся радионуклиды после распада, что открывает новые возможности для таргетной α -терапии [28].

Применяемые радионуклиды

Для успешных исследований методами радионуклидной диагностики радиоизотопы должны обладать высокой стабильностью в организме, высокой «аффинностью» к ГК, а также достаточной энергией либо для хорошей визуализации, либо для повреждающего воздействия на клетки. Основным критерием определения цели использования того или иного радионуклида является тип его излучения. Для визуализации, диагностики и мониторинга в основном используются γ -излучатели, позволяющие получать изображения с помощью γ -камер и ОФЭКТ, в то время как для терапевтического воздействия — α -, β -излучатели, способные вызывать необратимые повреждения в клетках-мишенях. Исторически арсенал применяемых радионуклидов расширился от лабораторных методик структурной биологии и химии до современных тераностических агентов, что повлияло и на развитие платформ на основе ГК. Эволюция подходов к радионуклидному мечению этого гетерополисахарида отражает логику развития методов радионуклидной визуализации и терапии.

Хронологически среди первых задач исследователей в этой области было изучение метаболизма

ГК — фундаментальных путей биораспределения и биodeградации, что основывалось на использовании β -излучателей с низкой энергией излучения, малоприменимых сейчас. В работах XX столетия можно найти данные о мечении гиалуронана тритием (^3H) и углеродом-14 (^{14}C) для оценки его метаболизма в экспериментальных моделях, что закладывало основы знаний о физиологической роли [29, 30]. В основном соединения с углеродом и тритием используются в клинической практике нечасто, например, для первичной оценки фармакодинамических и фармакокинетических свойств фармацевтических субстанций для препаратов. Отмечается, что биосинтетическое мечение ^{14}C , хотя и дает продукт, идентичный нативной ГК, сопряжено со значительными временными затратами и низкой удельной активностью, что ограничивает его применение в биологических экспериментах [31].

Благодаря длительному периоду полураспада (60 дней) и удобной энергии фотонов «золотым стандартом» изучения биораспределения *in vitro* и *ex vivo*, в том числе в экспериментах с меченной ГК, стал изотоп йода-125 (^{125}I) [32]. Принципиальное значение имела разработка методов химического конъюгирования ^{125}I с предварительной модификацией ГК с помощью простетических групп — тирамина или тирозина. Полученный агент позволил детально охарактеризовать кинетику ее клиренса из кровотока и распределение в органах [31]. Стоит отметить, что значительное самопоглощение низкоэнергетического излучения изотопа ^{125}I тканями ограничивает применение данного радионуклида в визуализации *in vivo* с помощью обычной γ -камеры.

С развитием радиохимических методов и инструментальной базы сформировались диагностические и терапевтические подходы, позволяющие не только исследовать метаболизм введенной ГК в организме, но и использовать ее как платформу для таргетной доставки радионуклидов к патологическим очагам.

Переход от лабораторных исследований к неинвазивной визуализации стал возможен благодаря радионуклидам с оптимальными физическими характеристиками для детекции. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ является наиболее распространенным радионуклидом для клинического использования благодаря доступности, короткому периоду полураспада (6 ч), высокой контрастности изображения, энергии γ -излучения 140 кэВ и низкой стоимости. Это подтверждает недавнее исследование, основанное на тесной связи ГК (или гиалуронана) с патофизиологией острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), который сопровождается резким увеличением уровня ГК в легких, приводящим к дозозависимому снижению насыщения крови кислородом в них. В работе экспериментально оценивали

нарушения отложения ГК у мышей с воспалением кожи и ОРДС с использованием изотопов ^{125}I и $^{99\text{m}}\text{Tc}$ при применении новой портативной системы γ -камер с усиленным детектором квантовой визуализации (iQID). Путем радиоактивного мечения ГК с молекулярной массой 10 кДа (ГК10) изотопами ^{125}I и $^{99\text{m}}\text{Tc}$ были синтезированы соответственно [^{125}I] I-ГК10 и [$^{99\text{m}}\text{Tc}$] Тс-ГК10. Последний использовали для динамической визуализации ОРДС, вызванного интратрахеальным введением липополисахарида у мышей *in vivo*, и он показал значительно более высокое поглощение в легких, а также медленное выведение из них по сравнению с контрольной группой животных. Дальнейшие эксперименты на модели воспаленного уха мыши обнаружили, что [$^{99\text{m}}\text{Tc}$] Тс-ГК10 применим для оценки не только состояния легких, но и мониторинга заживления кожных ран, так как синтез ГК увеличивается при восстановлении тканей после травмы [33, 34].

Эра молекулярной визуализации получила новый импульс с внедрением ПЭТ и развитием генераторных технологий для позитронного излучателя галлия-68 (^{68}Ga) с периодом полураспада 68 мин. Данный радионуклид существовал еще на заре развития радионуклидной визуализации, и сейчас он широко используется для диагностики различных типов опухолей. Наиболее применим ^{68}Ga в составе препарата ^{68}Ga -PSMA с малыми молекулами и пептидами для целенаправленной диагностики рака предстательной железы (РПЖ) и нейроэндокринных опухолей ([^{68}Ga] Ga-DOTA-TATE, [^{68}Ga] Ga-DOTA-TOC, и [^{68}Ga] Ga-DOTA-NOC), но также ^{68}Ga связывают с олигонуклеотидными гиалуроновыми тетра- и гексасакхаридными конъюгатами с помощью хелатора NOTA (1,4,7-триаза-10,10-диазабензо[1,4,7]оксо-9-фосфоновая кислота), подробнее о котором будет рассказано далее [35]. Отмечается, что доступность ^{68}Ga -содержащих диагностических агентов ограничена высокой стоимостью производства и сложностью его регуляции, коротким периодом полураспада радионуклида [36].

Стоит отметить γ -излучатель индий-111 (^{111}In), применяемый для ОФЭКТ-визуализации. ^{111}In обладает периодом полураспада приблизительно 67,44 ч и применяется для диагностики, например синовита, артрита, рестеноза стента, а также для тераностики рака в комбинации с другими радионуклидами [37, 38].

Развитие терапевтических подходов в ядерной медицине привело к внедрению β^- -излучателей, частицы которых вызывают необратимые повреждения ДНК в клетках-мишенях. Один из первых изотопов, введенных в медицинскую практику более 80 лет назад, ^{131}I , до сих пор остается классическим примером тераностического агента, испускающего как β^- -частицы, подходящие для терапевтических целей, так

и γ -кванты для визуализации. В настоящее время ^{131}I с гиалуроновой матрицей применяется, например, в составе наночастиц для направленной радиотерапии для лечения некрозов остаточных опухолевых очагов после абляции метастазов при колоректальном раке (раке прямой кишки). Разработанный конъюгат HA-PCL (^{131}I -Нур) накапливается в ткани благодаря эффекту повышенной проницаемости (EPR) и взаимодействию с рецепторами CD44, обеспечивая локальное β^- -облучение и значимое ингибирование роста опухоли [39].

Среди β^- -излучателей, испускаемые частицы которых вызывают повреждения ДНК в виде разрывов и приводят к гибели клетки-мишени, также выделяются ^{90}Y и ^{177}Lu , применяемые в лечении метастатического РПЖ [40]. ^{177}Lu также применим в радиосиновиэктомии — методе, используемом для уменьшения воспаления синовиальной ткани путем внутрисуставного введения β^- -радионуклида. Радиомеченый конъюгат ^{177}Lu -DOTA-HA-PLGA (MTX) на основе полимолочной гликолевой кислоты (PLGA) и ГК с метотрексатом (MTX) продемонстрировал возможность его использования как агента для специфической таргетной противоревматической терапии [41]. ^{90}Y обладает высокой энергией излучения ($E_{\beta\text{max}} = 2,28 \text{ МэВ}$), периодом полураспада приблизительно 64 ч и способностью к прочному связыванию с матрицей с помощью хелатирования. Данный изотоп применяется для терапии гепатоцеллюлярной карциномы и метастатического рака молочной железы (РМЖ) [42–44]. Так, ^{90}Y и ^{177}Lu являются терапевтическими радионуклидами, а сочетание ^{177}Lu с ^{68}Ga позволяет проводить диагностическую молекулярную визуализацию с последующим персонализированным лечением на основе диагностического сканирования [45].

Методы получения меченой гиалуроновой кислоты

В зависимости от используемого радионуклида, требуемой стабильности и метода визуализации существуют отличные друг от друга методики получения меченых гиалуроновых матриц. Они разделяются на прямые и косвенные.

Косвенные методы требуют использования хелаторов, о которых велась речь ранее, а прямое радиомечение ГК подразумевает непосредственное встраивание радионуклидов на поверхности полимера. Этот простой и наиболее быстрый метод, сохраняющий структуру и стабильность матрицы, используется в работе с такими радионуклидами, как ^{18}F , ^{11}C , ^{14}C , а также ранее упомянутыми $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{125}I и ^{131}I . К некоторым распространенным химическим реакциям прямого встраивания радионуклидов в материал относятся галогенирование и химическая адсорбция.

Радиогалогенирование наиболее применимо для изотопов йода (радиоiodирования), оно основывается на реакциях нуклеофильного и электрофильного замещения. Для электрофильного замещения в орто-положении фенола (тирозина) анион йода может вступать в реакцию с йодогеном, хлорамином-Т или реактивом Болтона–Хантера, выступающими в качестве окислителей [46]. Йодоген и хлорамин-Т обычно радиоiodируют тирозиновые или гистидиновые фрагменты, в то время как реактив Болтона–Хантера позволяет радиоактивно метить почти все свободные аминогруппы различных наноматериалов.

На основе проанализированных данных можно сформулировать обобщенный метод мечения ГК, например, ^{125}I . Поскольку ГК не имеет подходящей функциональной группы для введения радиоактивного йода, проводят ее модификацию: путем восстановительного аминирования вводят активную фенольную группу тирамина (или тирозина). Определенное количество миллиграмм ГК с молекулярной массой 10 кДа в воде активируют бромистым цианом (CNBr). Добавляя щелочь, pH смеси доводят до 11 и выдерживают в течение 5 мин. Активированный полисахарид отделяют от реакционной смеси на обессоливающей колонке Sephadex G-25, уравновешенной боратным буфером (pH 8,0), а затем инкубируют в течение 12 ч с определенным количеством тирамина (или тирозина). Для отделения связанного с ними полимера от несвязанного снова используют колонку, уравновешенную фосфатно-солевым буфером. Йодирование модифицированной ГК проводят при ее инкубации с нужным количеством мКи ^{125}I в пробирках для йодирования с предварительно нанесенным на дно реагентом Pierce, который активирует йод-125. Реакцию проводят в течение 15 мин при комнатной температуре, ежеминутно встряхивая пробирки. Затем реакционные смеси извлекают из пробирок, тем самым прекращая активацию йода и останавливая процесс йодирования, и загружают в обессоливающие колонки для очистки, получая [^{125}I] I-TA-NA10 (или [^{125}I] I-Tyr-NA10) [33, 34].

Методика прямого мечения ГК $^{99\text{m}}\text{Tc}$ основана на восстановлении пертехнетата ($^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$) хлоридом олова (SnCl_2) в присутствии ГК. В эксперименте к 9 мг ГК в 0,1 мл 0,1 М раствора NaOAc прибавляли 0,1 мл водного хлорида олова (2 мг/мл), затем вносили 0,2 мл 0,1 М d-глюконата натрия, после чего прибавляли водный $^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (30 мКи в 0,5 мл). Раствор перемешивали при температуре 60 °C на магнитной мешалке в течение 60 мин. Реакционную смесь элюировали на колонке Sephadex G-50 (тонкий) для удаления неинкорпорированного радиоизотопа, хлорида олова и d-глюконата. Воду удаляли в вакууме, получая $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -меченную ГК [34].

Применение меченной радионуклидами гиалуроновой кислоты в биомедицинских исследованиях

В зависимости от типа излучения, которое испускают изотопы, радиомеченные препараты на основе ГК применимы в ядерной медицине для диагностики и лечения различных заболеваний.

Одной из основных областей применения меченной радионуклидами ГК является онкология. Радионуклидный метод зарекомендовал себя в лечении и диагностике различных видов рака, включая рак щитовидной железы, нейроэндокринные опухоли, некоторые опухоли мозга (менингиомы), РПЖ и РМЖ [24, 47–51].

Наиболее широким спектром действия обладают носители на основе ГК, загруженные не только радионуклидами, но и различными активными компонентами, среди которых стоит выделить куркумин – природный полифенол, обладающий антиангиогенным и противовоспалительным действием. В исследовании С. Huang и соавт. для синергетической ядерной визуализации и химиотерапии РМЖ у мышей BALB/c с карциномой 4T1 были синтезированы стабильные самоорганизующиеся pH-чувствительные наночастицы куркумина на основе меченных изотопом $^{99\text{m}}\text{Tc}$ конъюгатов ГК с холестерилгемисукцинатом (-CHEMS) и D- α -токоферилполиэтиленгликольсукцинатом (TPGS). Полученные частицы $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HA-CHEMS-Cur-TPGS NPs содержали высокую концентрацию куркумина, имели равномерное распределение и превосходную стабильность *in vitro*. Кроме того, цитотоксичность по отношению к клеткам карциномы 4T1, оцениваемая методом метилтетразолиевого теста, оказалась значительно выше по сравнению со свободным куркумином, а полученные результаты ОФЭКТ-визуализации на моделях мышей свидетельствовали о высокой стабильности меток, эффективном ингибировании опухоли и хорошей лучевой визуализации наночастиц. Следовательно, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HA-CHEMS-Cur-TPGS NPs могут рассматриваться в качестве потенциального эффективного препарата для тераностики РМЖ [52].

Гиалуроновые матрицы с изотопами $^{99\text{m}}\text{Tc}$ и ^{125}I также применяются для визуализации гомеостатических, неопластических и поврежденных тканей. Повреждение тканей индуцирует активацию рецепторов CD44, RHAMM, TLR2 и TLR4, связывающихся с фрагментами ГК, что обеспечивает ее селективное накопление в тканях [16, 17]. В работе М. Veiseh и соавт. ГК связывали с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ и ^{125}I , получая зонды для сравнения их целевых свойств на гомеостатической ткани печени, наиболее активно поглощающей ГК из сыворотки крови, и на модели поврежденной сонной артерии. После внутривенного введения $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ГК мышам ОФЭКТ-визуализация позволила

выявить, что доля накопленного в печени меченного радионуклидами полимера от введенного составила 27 %, что подтверждает нацеленность ^{99m}Tc -ГК через рецепторопосредованный путь. Чтобы определить, нацелены ли зонды на поврежденную сосудистую ткань *in vivo*, количественно оценивали накопление ^{125}I -ГК на поврежденных баллонным катетером артериях в качестве модели восстановления сосудов после травмы. Обнаружено: ^{125}I -ГК накапливался в поврежденном сосуде в промежутке между 2 и 24 ч после травмы, когда активация рецепторов ГК максимальна, и не накапливался в неповрежденном сосуде, что указывает на специфичность нацеливания ^{125}I -ГК [34].

В качестве носителей для доставки лекарств с контролируемым высвобождением и местной лучевой терапии также используются изготовленные из ГК нано- и микрочастицы. Например, S. Kim и соавт. синтезировали инъекционный биоразлагаемый микрогель НАМА (hyaluronic acid methacrylate) с модифицированными метилакрилатными группами, меченный изотопом ^{131}I , который продемонстрировал высокую устойчивость и биосовместимость [49]. Кроме того, гелевые микросферы, изготовленные из ГК, имеют гладкую поверхность, однородный размер, идеальную сферичность и различную эластичность, благодаря чему являются идеальным материалом для интервенционной эмболизации [53]. В недавнем исследовании о тераностике гепатоцеллюлярной карциномы Y. Dong и соавт. разработали биоразлагаемые гелевые микросферы (HAMS) из производных ГК, модифицированных метакриловыми и бисфосфонатными группами, и загрузили их терапевтическим радионуклидом ^{90}Y (β , $T_{1/2} = 2,64$ дня) путем комплексообразования металлов. Полученное вещество ^{90}Y -HAMS использовали для ингибирования опухоли белых новозеландских кроликов на модели рака печени VX2 *in situ* путем трансартериального введения, анализ проводили с помощью компьютерной томографии. Результаты показали, что ^{90}Y -HAMS может эффективно подавлять рост гепатоцеллюлярной карциномы *in situ* без каких-либо побочных эффектов [54].

Как было упомянуто ранее, меченная радиоизотопами ГК применима и для оценки ее метаболизма в живых организмах, в том числе у лошадей. A. Lindholm и соавт. изучали распределение гиалуронана, радиомеченного изотопом ^{14}C , в синовиальной жидкости средних запястных и пястно-фаланговых суставов 6 клинически здоровых лошадей. Гиалуронан с различной молекулярной массой вводили внутрисуставно и детектировали изменения его радиоактивности на повторных пробах в течение 48 ч с помощью автоматического β -счетчика, чтобы оценить метаболизм. Не обнаружено разницы между скоростью биораспределения ГК большей или меньшей молеку-

лярной массы, однако метаболизм был различным в зависимости от суставов: он был более быстрым в пястно-фаланговых суставах, чем в запястных [29]. Для анализа метаболизма используют также производные сшитой ГК, например, компоненты препарата Hylan G-F 20, представляющего собой упруго-вязкую высокомолекулярную (примерно 6000 кДа) жидкость с реологическими свойствами, аналогичными свойствам синовиальной жидкости коленного сустава животного. Меченный радионуклидами Hylan G-F 20 вводили в коленные суставы кроликов и оценивали период полураспада после анализа синовиальной жидкости, тканей суставов, крови, подколенных лимфатических узлов, печени, селезенки, почек и легких на уровень радиоактивности [30, 55–57]. Таким образом, радиомеченая ГК позволяет оценивать биораспределение гиалуронана в составе синовиальной жидкости, что необходимо для сравнения его содержания в здоровых и поврежденных тканях суставов.

Ранние исследования метаболизма гиалуронана *in vivo* проводились также с использованием меченных изотопом ^3H фрагментов ГК. Первые работы в этой области были проведены в 1980-х годах с помощью высоко- и низкомолекулярного [^3H] ацетил-меченного гиалуронана, введенного в афферентные лимфатические сосуды подколенных лимфатических узлов овец, которые показали, что гиалуронан расщепляется в лимфатических узлах. При исследовании эфферентной лимфы и тканей лимфоузлов обнаружили такие продукты распада, как N-ацетилглюкозамин, ацетат, воду и промежуточный метаболит N-ацетилглюкозамин-6-фосфат, при этом от 48 до 75 % введенного меченого материала было выведено, предположительно через кровоток, в виде низкомолекулярных метаболитов. Проведенные исследования позволили сделать важный на тот момент вывод: лимфатическая система не играет ключевой роли в иммунной защите, но является участником обмена веществ соединительной ткани [58].

Таким образом, ГК за счет своих уникальных свойств, среди которых высокая биосовместимость, селективное связывание с рецепторами и наличие функциональных групп для модификации, представляет собой перспективную матрицу для загрузки радионуклидов, их таргетной доставки к целевому органу и селективному накоплению в нем. Комбинируя различные методы, возможно создавать высокостабильные конъюгаты, которые можно применять в качестве препаратов (табл. 1). За счет излучения, фиксируемого методами ПЭТ/КТ и ОФЭКТ, представляется возможным визуализировать патологические очаги, изучать метаболизм гиалуронана в суставах, оценивать восстановление тканей после травм, диагностировать опухоль и метастазы, а также

Таблица 1. Радиомеченные препараты гиалуроновой кислоты: модели и методы детекции

Table 1. Radiolabeled hyaluronic acid preparations: models and detection methods

Радиомеченный препарат на основе ГК Radiolabeled HA-Based Preparation	Модель (<i>in vitro/in vivo</i>) Model (<i>in vitro/in vivo</i>)	Метод детекции Detection method	Источник References
$[^{99m}\text{Tc}]$ Тс-ГК10 $[^{99m}\text{Tc}]$ Тс-НА10	Мыши с острым респираторным дистресс-синдромом, с воспалением уха и воспалением кожи, с повреждением сонной артерии Mice with acute respiratory distress syndrome, with ear inflammation and skin inflammation, with damage to the carotid artery	ОФЭКТ/КТ, γ -камера (iQID) SPECT/CT, γ camera (iQID)	[33, 34]
$[^{125}\text{I}]$ I-ГК10 $[^{125}\text{I}]$ I-НА10			
$[^{68}\text{Ga}]$ Ga-ГК $[^{68}\text{Ga}]$ Ga-НА	Здоровые крысы, крысы с инфарктом миокарда, нейроэндокринная опухоль человека Healthy rats, rats with myocardial infarction, neuroendocrine tumors	ПЭТ/КТ PET/CT	[35]
$[^{177}\text{Lu}]$ Lu-DOTA-ГК (DOTA – хелатор) $[^{177}\text{Lu}]$ Lu-НА (DOTA – chelator)	Мыши с иммунодефицитом, макрофаги мышей SCID mice Macrophages of mice	ОФЭКТ/КТ, сцинтилляционный счетчик NaI (TI) SPECT/CT NaI (TI) Scintillation Counter	[41]
$[^{90}\text{Y}]$ Y-НАMS (гелевые микросферы на основе ГК) $[^{90}\text{Y}]$ Y-НАMS (Hyaluronic Acid Microspheres)	Кролики с гепатоцеллюлярной карциномой VX2 Rabbits with VX2 hepatocellular carcinoma	КТ, β -счетчик CT, β counter	[54]
$[^{131}\text{I}]$ I-НАМА (метакрилатный гиалуроновый микрогель) $[^{131}\text{I}]$ I-НАМА (Hyaluronic Acid Methacrylate microgel)	Крысы Sprague-Dawley Sprague-Dawley rats	γ -камера, ОФЭКТ γ Camera, SPECT	[49]
$[^{14}\text{C}]$ C-ГК $[^{14}\text{C}]$ C-НА	Лошади (синовиальная жидкость суставов), кролики (Hylan G-F 20) Horses (synovial fluid), rabbits (Hylan G-F 20)	β -счетчик β Counter	[29]
$[^3\text{H}]$ Н-ацетил-ГК $[^3\text{H}]$ N-acetyl-HA	Кролики, овцы (лимфатические узлы) Rabbits, sheep (lymph nodes)	Сцинтилляционный счетчик Liquid scintillation counter	[30]
$[^{99m}\text{Tc}]$ Тс-ГК-CHEMS-Cur-TPGS NPs $[^{99m}\text{Tc}]$ Тс-НА-CHEMS-Cur-TPGS NPs	Мыши с карциномой 4T1 Mice with 4T1 carcinoma	ОФЭКТ, γ -камера SPECT, γ camera	[45]
ГК-PCL (^{131}I -Нуп) HA-PCL (^{131}I -Hup)	Крысы Wistar Wistar rats	ПЭТ/КТ, сцинтиграфия PET/CT, scintigraphy	[39]
(^{125}I) I-Tm-ГК и (^{125}I) I-Trs-ГК (^{125}I) I-Tm-НА and (^{125}I) I-Trs-НА	Голые мыши и крысы SRG с подкожными опухолями HT-29 Nude mice and SRG rats bearing HT-29 subcutaneous tumors	γ -Камера γ Camera	[31]

Примечание. ГК – гиалуроновая кислота; ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография; КТ – компьютерная томография; ПЭТ/КТ – позитронно-эмиссионная томография с компьютерной томографией; ОФЭКТ/КТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография с компьютерной томографией; ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром.

Note. HA – hyaluronic acid; SPECT – single photon emission computed tomography; CT – computed tomography; PET/CT – positron emission tomography – computed tomography; SPECT/CT – single-photon emission computed tomography with computed tomography; iQID – ionizing-radiation quantum imaging detector.

негативно воздействовать на них. Это открывает новые возможности для персонализированной диагно-

стики и терапии в сочетании с высокой селективностью и минимальными побочными эффектами.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Gonzalez-Montoro A., Vera-Donoso C.D., Konstantinou G. et al. Nuclear-medicine probes: Where we are and where we are going. *Med Phys* 2022;49(7):4372–90. DOI: 10.1002/mp.15690
- Salari N., Mansouri K., Valipour E. et al. Hyaluronic acid-based drug nanocarriers as a novel drug delivery system for cancer chemotherapy: a systematic review. *Daru J Fac Pharm Tehran Univ Med Sci* 2021;29(2):439–47. DOI: 10.1007/s40199-021-00416-6
- Snetkov P., Zakharova K., Morozkina S. et al. Hyaluronic acid: the influence of molecular weight on structural, physical, physico-chemical, and degradable properties of biopolymer. *Polymers* 2020;12(8):1800. DOI: 10.3390/polym12081800
- Costa D.C.S., Costa P.D.C., Gomes M.C. et al. Universal strategy for designing shape memory hydrogels. *ACS Mater Lett* 2022;4(4):701–6. DOI: 10.1021/acsmaterialslett.2c00107
- Zhang S., Wang X., Gao X. et al. Radiopharmaceuticals and their applications in medicine. *Signal Transduct Target Ther* 2025;10(1):1. DOI: 10.1038/s41392-024-02041-6
- Xu S., Liu G., Wei Q. et al. Recent advances in radionuclide medical imaging techniques. *Front Med* 2025;12. DOI: 10.3389/fmed.2025.1662020
- Thorn S.L., Shuman J.A., Stacy M.R. et al. Matrix metalloproteinase-targeted SPECT/CT imaging for evaluation of therapeutic hydrogels for the early modulation of post-infarct myocardial remodeling. *J Cardiovasc Transl Res* 2023;16(1):155–65. DOI: 10.1007/s12265-022-10280-7
- Wang P., Li T., Liu Z. et al. [¹⁸F]MFBG PET/CT outperforming [¹²³I]MIBG SPECT/CT in the evaluation of neuroblastoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2023;50(10):3097–106. DOI: 10.1007/s00259-023-06221-4
- Krebs S., O'Donoghue J.A., Biegel E. et al. Comparison of ⁶⁸Ga-DOTA-JR11 PET/CT with dosimetric ¹⁷⁷Lu-satoreotide tetraxetan (¹⁷⁷Lu-DOTA-JR11) SPECT/CT in patients with metastatic neuroendocrine tumors undergoing peptide receptor radionuclide therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2020;47(13):3047–57. DOI: 10.1007/s00259-020-04832-9
- Akhavanallaf A., Peterson A.B., Fitzpatrick K. et al. The predictive value of pretherapy [⁶⁸Ga]Ga-DOTA-TATE PET and biomarkers in [¹⁷⁷Lu]Lu-PRRT tumor dosimetry. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2023;50(10):2984–96. DOI: 10.1007/s00259-023-06252-x
- Schwenck J., Sonanini D., Cotton J.M. et al. Advances in PET imaging of cancer. *Nat Rev Cancer* 2023;23(7):474–90. DOI: 10.1038/s41568-023-00576-4
- Chen H., Zhao L., Pang Y. et al. ⁶⁸Ga-MY6349 PET/CT imaging to assess Trop2 expression in multiple types of cancer. *J Clin Invest* 2024;135(1):e185408. DOI: 10.1172/JCI185408
- Mona C.E., Benz M.R., Hikmat F. et al. Correlation of ⁶⁸Ga-FAPi-46 PET biodistribution with FAP expression by immunohistochemistry in patients with solid cancers: interim analysis of a prospective translational exploratory study. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med* 2022;63(7):1021–6. DOI: 10.2967/jnumed.121.262426
- Loft M., Carlsen E.A., Johnbeck C.B. et al. ⁶⁴Cu-DOTATATE PET in patients with neuroendocrine neoplasms: prospective, head-to-head comparison of imaging at 1 hour and 3 hours after injection. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med* 2021;62(1):73–80. DOI: 10.2967/jnumed.120.244509
- Johnbeck C.B., Mortensen J. Somatostatin receptor imaging PET in neuroendocrine neoplasm. *PET Clin* 2021;16(2):191–203. DOI: 10.1016/j.cpet.2020.12.011
- Žádníková P., Šínová R., Pavlík V. et al. The degradation of hyaluronan in the skin. *Biomolecules* 2022;12(2):251. DOI: 10.3390/biom12020251
- Zhang G., Jiang X., Xia Y. et al. Hyaluronic acid-conjugated lipid nanocarriers in advancing cancer therapy: a review. *Int J Biol Macromol* 2025;299:140146. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2025.140146
- Gao M., Deng H., Zhang W. Hyaluronan-based multifunctional nano-carriers for combination cancer therapy. *Curr Top Med Chem* 2021;21(2):126–39. DOI: 10.2174/1568026620666200922113846
- Platt V.M., Szoka F.C. Anticancer therapeutics: targeting macromolecules and nanocarriers to hyaluronan or CD44, a hyaluronan receptor. *Mol Pharm* 2008;5(4):474–86. DOI: 10.1021/mp800024g
- Donelan W., Dominguez-Gutierrez P.R., Kusmartsev S. Deregulated hyaluronan metabolism in the tumor microenvironment drives cancer inflammation and tumor-associated immune suppression. *Front Immunol* 2022;13:971278. DOI: 10.3389/fimmu.2022.971278
- Sneddon D., Cornelissen B. Emerging chelators for nuclear imaging. *Curr Opin Chem Biol* 2021;63:152–62. DOI: 10.1016/j.cbpa.2021.03.001
- Park J.-A., Kim J.Y. Recent advances in radiopharmaceutical application of matched-pair radiometals. *Curr Top Med Chem* 2013;13(4):458–69. DOI: 10.2174/1568026611313040006
- Price E.W., Orvig C. Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals. *Chem Soc Rev* 2014;43(1):260–90. DOI: 10.1039/c3cs60304k
- Goel M., Mackeyev Y., Krishnan S. Radiolabeled nanomaterial for cancer diagnostics and therapeutics: principles and concepts. *Cancer Nanotechnol* 2023;14(1):15. DOI: 10.1186/s12645-023-00165-y
- Hu A., Wilson J.J. Advancing chelation strategies for large metal ions for nuclear medicine applications. *Acc Chem Res* 2022;55(6):904–15. DOI: 10.1021/acs.accounts.2c00003
- Davey P.R.W.J., Paterson B.M. Modern developments in bifunctional chelator design for gallium radiopharmaceuticals. *Molecules Basel, Switzerland*; 2022;28(1):203. DOI: 10.3390/molecules28010203
- Polivanova A.G., Solovieva I.N., Botev D.O. et al. Bifunctional gallium cation chelators. *Fine Chem Technol* 2022;17(2):107–30. DOI: 10.32362/2410-6593-2022-17-2-107-130
- Palluccio T., Chowdhury M., Friebe M. et al. [225Ac]Macropa: united until decay do us part. *J Nucl Med* 2025;66(Suppl. 1):251770–251770. DOI: 10.2967/jnumed.125.251770
- Lindholm A., Ronéus B., Lindblad G. et al. Hyaluronan turnover in the synovial fluid in metacarpophalangeal – and middle carpal joints in standardbred horses. *Acta Vet Scand* 1996;37(2):147–51. DOI: 10.1186/BF03548107
- Brown T.J., Laurent U.B., Fraser J.R. Turnover of hyaluronan in synovial joints: elimination of labelled hyaluronan from the knee joint of the rabbit. *Exp Physiol* 1991;76(1):125–34. DOI: 10.1113/expphysiol.1991.sp003474
- Cozikova D., Laznickova A., Hermannova M. et al. Preparation and the kinetic stability of hyaluronan radiolabeled with ¹¹¹In, ¹²⁵I and ¹⁴C. *J Pharm Biomed Anal Off J Am Assoc Pharm Sci* 2010;52(4):517–24. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.02.005
- Gustafson S., Björkman T., Westlin J.-E. Labelling of high molecular weight hyaluronan with ¹²⁵I-tyrosine: studies *in vitro* and *in vivo* in the rat. *Glycoconj J* 1994;11(6):608–13. DOI: 10.1007/BF00731313
- Zhao F., Barber C.J., Sammani S. et al. Use of radiolabeled hyaluronic acid for preclinical assessment of inflammatory injury and acute respiratory distress syndrome. *Nucl Med Biol* 2022;114–115:86–98. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2022.10.002
- Veisoh M., Breadner D., Ma J. et al. Imaging of homeostatic, neoplastic, and injured tissues by HA-based probes. *Biomacromolecules* 2012;13(1):12–22. DOI: 10.1021/bm201143c

35. Jadhav S., Käkälä M., Mäkilä J. et al. Synthesis and in vivo PET imaging of hyaluronan conjugates of oligonucleotides. *Bioconjug Chem* 2016;27(2):391–403. DOI: 10.1021/acs.bioconjugchem.5b00477
36. Haeger A., Soza-Ried C., Kramer V. et al. Al¹⁸F-F-NOTA-octreotide is comparable to ⁶⁸Ga[Ga-DOTA-TATE for PET/CT imaging of neuroendocrine tumours in the Latin-American population. *Cancers (Basel)* 2023;15(2):439. DOI: 10.3390/cancers15020439
37. Wharton L., Zhang C., Yang H. et al. [²¹³Bi]Bi3+ / [¹¹¹In]In3+ - neupna-cycMSH: theranostic radiopharmaceutical targeting melanoma-structural, radiochemical, and biological evaluation. *Bioconjug Chem* 2022;33(3):505–22. DOI: 10.1021/acs.bioconjugchem.2c00038
38. Nock B.A., Kanellopoulos P., Moon E.S. et al. [¹¹¹In]In/[¹⁷⁷Lu]Lu-AAZTA5-LM4 SST2R-Antagonists in cancer theranostics: from preclinical testing to first patient results. *Pharmaceutics* 2023;15(3):776. DOI: 10.3390/pharmaceutics15030776
39. Bao H., Wang N., Zhu X. et al. Hyaluronic acid-modified polymeric nanoplatform delivering ¹³¹I-Hyp suppresses post-ablation residual lesions in colorectal cancer metastases via necrosis-targeted radiotherapy. *J Pharm Anal* 2025;101488. DOI: 10.1016/j.jpha.2025.101488
40. Chakravarty R., Chakraborty S. A review of advances in the last decade on targeted cancer therapy using ¹⁷⁷Lu: focusing on ¹⁷⁷Lu produced by the direct neutron activation route. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2021;11(6):443–75. PMID: 35003885
41. Trujillo-Nolasco R.M., Morales-Avila E., Ocampo-García B.E. et al. Preparation and in vitro evaluation of radiolabeled HA-PLGA nanoparticles as novel MTX delivery system for local treatment of rheumatoid arthritis. *Mater Sci Eng C* 2019;103:109766. DOI: 10.1016/j.msec.2019.109766
42. Wu R., Gogineni K., Meisel J. et al. Study protocol: efficacy and safety of radioembolization (REM) as an early modality (EM) therapy for metastatic breast cancer (BR) to the liver with Y90 (REMEMBR Y90). *Cardiovasc Intervent Radiol* 2022;45(11):1725–34. DOI: 10.1007/s00270-022-03254-4
43. Salem R., Johnson G.E., Kim E. et al. Yttrium-90 Radioembolization for the Treatment of Solitary, Unresectable HCC: The LEGACY Study. *Hepatol Baltim Md* 2021;74(5):2342–52. DOI: 10.1002/hep.31819
44. Thierry B., Winnik F.M., Merhi Y. et al. Radionuclides-hyaluronan-conjugate thromboresistant coatings to prevent in-stent restenosis. *Biomaterials* 2004;25(17):3895–905. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2003.10.068
45. Siebinga H., de Wit-van der Veen B.J., Beijnen J.H. et al. Predicting [¹⁷⁷Lu]Lu-HA-DOTATATE kidney and tumor accumulation based on [⁶⁸Ga]Ga-HA-DOTATATE diagnostic imaging using semi-physiological population pharmacokinetic modeling. *EJNMMI Phys* 2023;10:48. DOI: 10.1186/s40658-023-00565-4
46. Kumar K., Woolum K. A Novel Reagent for radioiodine labeling of new chemical entities (NCEs) and biomolecules. *Mol Basel Switz* 2021;26(14):4344. DOI: 10.3390/molecules26144344
47. Lumen D., Näkki S., Imlimhan S. et al. Site-specific ¹¹¹In-radio-labeling of dual-PEGylated porous silicon nanoparticles and their in vivo evaluation in murine 4T1 breast cancer model. *Pharmaceutics* 2019;11(12):686. DOI: 10.3390/pharmaceutics11120686
48. Mendes Miranda S.E., Alcântara Lemos J. de, Fernandes R.S. et al. Enhanced antitumor efficacy of lapachol-loaded nanoemulsion in breast cancer tumor model. *Biomed Pharmacother Bio-medicine Pharmacother* 2021;133:110936. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110936
49. Kim S., Yim S.-G., Chandrasekharan A. et al. On-site fabrication of injectable ¹³¹I-labeled microgels for local radiotherapy. *J Control Release* 2020;322:337–45. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.03.046
50. Kato H., Huang X., Kadonaga Y. et al. Intratumoral administration of astatine-211-labeled gold nanoparticle for alpha therapy. *J Nanobiotechnology* 2021;19(1):223. DOI: 10.1186/s12951-021-00963-9
51. Wang Z., Ye M., Ma D. et al. Engineering of ¹⁷⁷Lu-labeled gold encapsulated into dendrimeric nanomaterials for the treatment of lung cancer. *J Biomater Sci Polym Ed* 2022;33(2):197–211. DOI: 10.1080/09205063.2021.1982446
52. Huang C., Chen F., Zhang L. et al. ^{99m}Tc radiolabeled HA/TPGS-based curcumin-loaded nanoparticle for breast cancer synergistic theranostics: design, *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Int J Nanomedicine* 2020;15:2987–98. DOI: 10.2147/IJN.S242490
53. Shen Y., Zhang B., Yi Z. et al. Microfluidic fabrication of X-ray-visible sodium hyaluronate microspheres for embolization. *RSC Adv* 2023;13(30):20512–9. DOI: 10.1039/d3ra02812g
54. Dong Y., Yin L., Huang J. et al. ^{99m}Tc/⁹⁰Y radiolabeled biodegradable gel microspheres for lung shutting fraction assessment and radioembolization in hepatocellular carcinoma theranostics. *Mater Today Bio* 2024;29:101367. DOI: 10.1016/j.mtbio.2024.101367
55. Larsen N.E., Dursema H.D., Pollak C.T. et al. Clearance kinetics of a hylan-based viscosupplement after intra-articular and intravenous administration in animal models. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2012;100(2):457–62. DOI: 10.1002/jbm.b.31971
56. Frampton J.E. Hylan G-F 20 single-injection formulation. *Drugs Aging* 2010;27(1):77–85. DOI: 10.2165/11203900-000000000-00000
57. Ong K.L., Runa M., Xiao Z. et al. Severe acute localized reactions following intra-articular hyaluronic acid injections in knee osteoarthritis. *Cartilage* 2021;13(Suppl. 1):1474S–86S. DOI: 10.1177/1947603520905113
58. Fraser J.R., Kimpton W.G., Laurent T.C. et al. Uptake and degradation of hyaluronan in lymphatic tissue. *Biochem J* 1988;256(1):153–8. DOI: 10.1042/bj2560153

Вклад авторов

А.Д. Косова: написание текста рукописи;
П.П. Снетков: поиск и обзор публикаций по теме статьи;
С.Н. Морозкина: анализ публикаций и правка текста.

Author's contributions

A.D. Kosova: writing the text;
P.P. Snetkov: searching and reviewing publications on the topic of the article;
C.N. Morozkina: analysis of the publications and corrections.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.Д. Косова / A.D. Kosova: <https://orcid.org/0009-0003-1893-4733>
П.П. Снетков / P.P. Snetkov: <https://orcid.org/0000-0001-9949-5709>
С.Н. Морозкина / C.N. Morozkina: <https://orcid.org/0000-0003-0122-0251>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, проект № 25-73-20141, <https://rscf.ru/project/25-73-20141/>.

Funding. The study was carried out also with the support of the Russian Science Foundation, project No. 25-73-20141, <https://rscf.ru/project/25-73-20141/>

Статья поступила: 28.08.2025. **Принята к публикации:** 20.05.2026. **Опубликована онлайн:** 15.07.2026.

Article submitted: 28.08.2025. **Accepted for publication:** 20.05.2026. **Published online:** 15.07.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-21-31>

Системы доставки агонистов STING для иммунотерапии злокачественных новообразований

С. Д. Щеглов^{1,2}, Я. О. Садовская¹, А. О. Каримова^{1,3}, О. Н. Солопова¹, Ж. М. Козлова²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119048 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики»; Россия, 101000 Москва, ул. Мясницкая, 20

Контакты: Степан Дмитриевич Щеглов stepanshcegllov@mail.ru

Введение. Один из ключевых компонентов сигнальных путей врожденного иммунитета, белок STING (Stimulator of Interferon Genes – стимулятор генов интерферона), в настоящее время является многообещающей мишенью для иммунотерапии онкологических заболеваний. Активация STING приводит к выработке воспалительных цитокинов, в частности интерферонов I типа, обеспечивающих реализацию противоопухолевого иммунного ответа. Перспективы клинического применения агонистов STING ограничены их системной токсичностью, обусловленной относительной неизбирательностью действия. Одним из подходов, позволяющих расширить терапевтический индекс лекарственных средств, является модификация нативной структуры агонистов STING, позволяющая придать им, например, свойства чувствительности к физиологически релевантным стимулам. Другим подходом можно считать создание эффективной системы доставки, минимизирующей действие заключенных в них агонистов на здоровые ткани организма.

Цель исследования – систематизирование и обобщение данных литературы о разработке систем доставки агонистов STING на основе иммуноконъюгатов, липосом и полимерных наночастиц.

Результаты. Рассмотренные системы доставки обладают значительным потенциалом для повышения эффективности иммунотерапии агонистами STING злокачественных новообразований. Будучи веществами, проявляющими терапевтически значимую активность в наномолярном диапазоне концентраций, агонисты STING представляют собой подходящую кандидатуру в качестве полезной нагрузки иммуноконъюгатов. При фармацевтической разработке подобной системы доставки необходимо учитывать свойства структурных компонентов, прежде всего самого агониста STING. Результатом является практически всегда уникальный продукт, представляющий собой молекулярную конструкцию, способную избирательно доставлять активатор STING в опухолевое микроокружение, минимизируя системные побочные эффекты. Инкапсулирование агонистов STING, в частности циклических динуклеотидов, в наночастицы представляет собой эффективный инструмент повышения их стабильности *in vivo*, улучшения их клеточного поглощения и снижения системной токсичности. Липосомальные системы доставки демонстрируют универсальность в инкапсуляции различных по физико-химическим свойствам молекул, в то время как полимерные наночастицы предлагают превосходную гибкость дизайна для контролируемого высвобождения.

Заключение. Разработка инновационных систем доставки является определяющим фактором для успешной клинической реализации иммунотерапии злокачественных новообразований агонистами STING. Гибкость структуры наноплатформ позволяет проводить их дальнейшую модификацию и оптимизацию, включая совершенствование технологии производства, для получения стабильного продукта с заданными свойствами.

Ключевые слова: агонист STING, иммуноконъюгат, липосома, полимерная наночастица, иммунотерапия рака

Для цитирования: Щеглов С. Д., Садовская Я. О., Каримова А. О. и др. Системы доставки агонистов STING для иммунотерапии злокачественных новообразований. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(2):21–31. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-21-31>

Delivery systems of STING agonists for the immunotherapy of malignant neoplasms

Stepan D. Shceglov^{1,2}, Yana O. Sadovskaya¹, Anastasia O. Karimova^{1,3}, Olga N. Solopova¹, Zhanna M. Kozlova²

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

²Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Build. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119048, Russia;

³National Research University Higher School of Economics; 20 Myasnitskaya St., Moscow 101000, Russia

Contacts: Stepan Dmitrievich Shceglov stepanshceglov@mail.ru

Background. One of the key components of innate immune signaling pathways, the STING (Stimulator of Interferon Genes) protein, is currently a promising target for cancer immunotherapy. Activation of STING leads to the production of inflammatory cytokines, in particular type 1 interferons, which provide an antitumor immune response. The clinical potential of STING agonists is limited by their systemic toxicity due to their relatively non-specific action. One of the approaches to expand the therapeutic index of drugs is to modify the native structure of STING agonists to make them more sensitive to physiologically relevant stimuli. Another approach is to develop efficient delivery system that reduce the impact of encapsulated STING agonists on healthy tissues.

Aim. Systematization and generalization the literature data on the development of delivery systems of STING agonists based on immunoconjugates, liposomes, and polymer nanoparticles.

Results. The delivery systems discussed show significant potential for enhancing the efficacy of STING agonist-based immunotherapy for malignant neoplasms. As substances exhibiting therapeutically relevant activity in the nanomolar concentration range, STING agonists represent a suitable candidate as a payload of immunoconjugates. During the pharmaceutical development of such a delivery system, it is necessary to take into account the properties of its structural components, primarily the STING agonist itself. The result is almost always a unique product: a molecular construct capable of selectively delivering the STING activator to the tumor microenvironment while minimizing systemic side effects. Encapsulation of STING agonists, particularly cyclic dinucleotides, within nanoparticles serves as an effective tool for increasing their *in vivo* stability, improving cellular uptake, and reducing systemic toxicity.

Conclusion. The development of innovative delivery systems is a critical factor for the successful clinical implementation of STING agonist-based biotherapy for malignant neoplasms. The flexibility of the structure of nanoplatforms allows for their further modification and optimization, including the improvements in manufacturing technology to obtain a stable product with specified characteristics.

Keywords: STING agonist, immunoconjugate, liposome, polymer nanoparticle, cancer immunotherapy

For citation: Shceglov S.D., Sadovskaya Ya.O., Karimova A.O. et al. Delivery systems of STING agonists for the immunotherapy of malignant neoplasms. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(2):21–31. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-21-31>

Введение

По мере накопления знаний о врожденных защитных реакциях организма на внедрение патогенов росла осведомленность о роли внутриклеточных структур в сигнальных путях иммунитета, приводящих к значительной продукции цитокинов. К подобным компонентам иммунной системы относится STING (STimulator of INterferon Genes – стимулятор генов интерферона). Впервые данная молекула была выделена и описана в 2008 г. как белок, локализованный преимущественно в эндоплазматическом ретикулуме, имеющий массу примерно 42 кДа. С момента относительно недавнего открытия белка STING и по настоящее время подробно описано его непосредственное участие в реализации иммунного ответа при вирусных и бактериальных инфекциях, клеточном старении, аутофагии и в развитии аутоиммунных заболеваний [1–4].

Сегодня роль сигнального пути STING в качестве терапевтической мишени для иммунотерапии различных онкологических заболеваний рассматривается как многообещающая и перспективная (рис. 1). Белок STING ассоциирован с cGAS (cyclic GMP-AMP synthase – синтаза циклического ГМФ-АМФ). Данный фермент связывается с молекулами ДНК различного происхождения, попавшими в цитоплазму клетки, образуя минимально активную ферментативную единицу, катализирующую димеризацию гуанозинтрифосфата (ГТФ) и аденозинтрифосфата (АТФ) в циклический гуанозиномонофосфат-аденозинмонофосфат (цГАМФ). Связавшиеся цГАМФ с белком STING инициируют каскад реакций, приводящий к активации факторов транскрипции IRF3 и NF-κB, чем в итоге стимулируется значительная выработка цитокинов, в первую очередь интерферонов I типа [4–6].

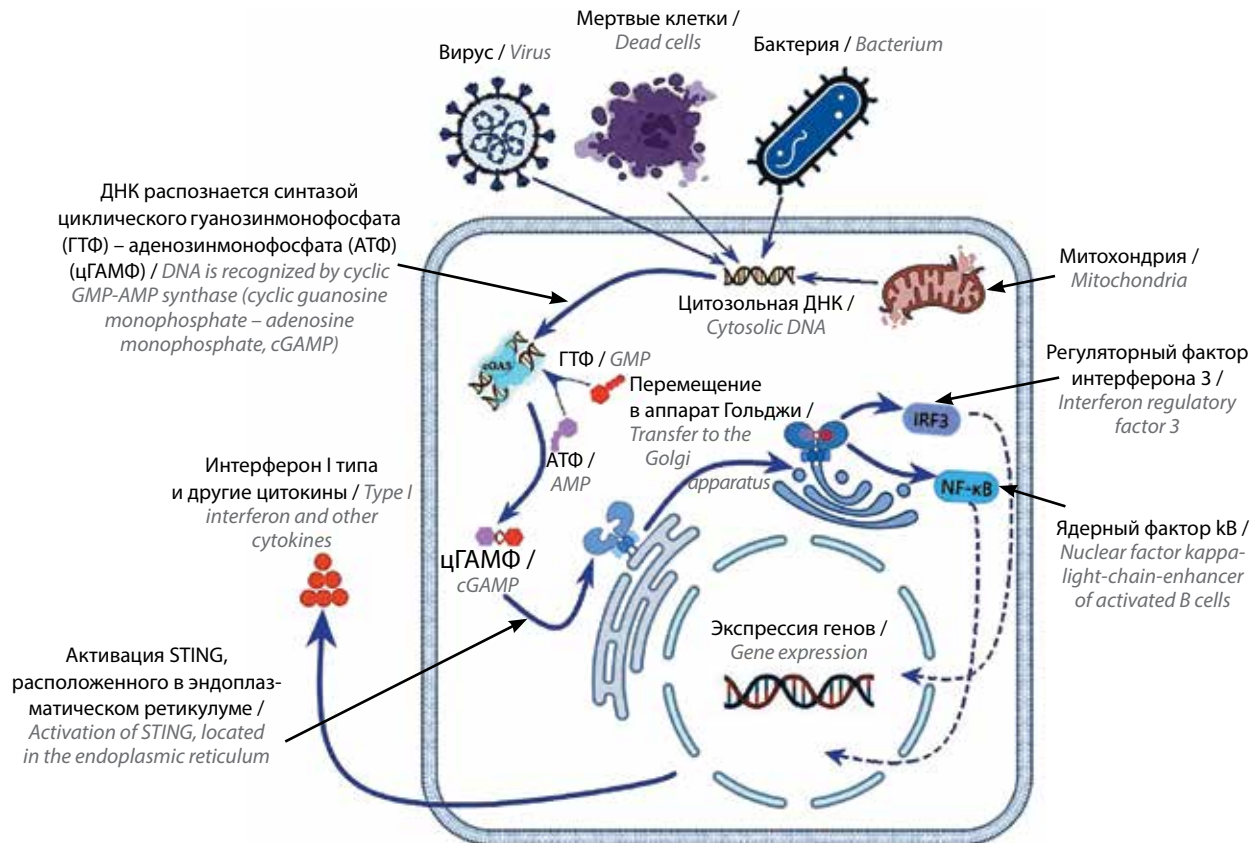


Рис. 1. Сигнальный путь белка STING (stimulator of interferon genes). Данный и рис. 2 созданы с помощью biorender.com

Fig. 1. STING (stimulator of interferon genes) pathway. This one and fig. 2 were created using biorender.com

Исследования показали тесную связь сигнального пути STING с формированием противоопухолевого иммунитета. Вырабатываемые интерфероны стимулируют созревание дендритных клеток, ускоряют их миграцию к лимфатическим узлам, способствуя перекрестной активации опухоль-специфических CD8⁺-Т-клеток (CD – cluster of differentiation, кластер дифференцировки). Помимо этого, интерфероны повышают экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости на поверхности клеток, стимулируют выработку хемокинов и подавляют иммуносупрессивное действие регуляторных Т-клеток. Таким образом, активация сигнального пути STING в опухолевых клетках может служить барьером для прогрессирования неоплазии [7, 8].

Роль данного сигнального пути в модуляции противоопухолевых реакций привела к фармацевтической разработке агонистов STING. Однако их системное введение сопряжено с серьезными проблемами. Поскольку данный белок является компонентом врожденной иммунной системы, активация сигнального пути может привести к чрезмерной выработке провоспалительных цитокинов и серьезным побочным эффектам, в том числе к септическому шоку. Протоколы клинических исследований (КИ) неко-

торых агонистов STING, например TAK-676 (идентификатор КИ NCT04879849), ADU-S100 (идентификатор КИ NCT02675439) или E7766 (идентификатор КИ NCT04144140), предполагали их внутриопухолевое введение. Хотя такие инъекции и эффективны с точки зрения минимизации системной токсичности, они подходят не во всех клинических случаях. Степень васкуляризации опухоли, а также ее морфологические свойства могут вызывать значительные отклонения в прогнозируемом распределении препарата в месте инъекции [9, 10].

Следовательно, для агонистов STING перспективна разработка подходов, способствующих оптимизации их клинического применения и минимизирующих нецелевую токсичность. К подобным подходам можно отнести создание новых молекулярных и супрамолекулярных конструкций, которые бы обеспечивали длительную циркуляцию препарата в организме и повышенную локализацию иммуностимулирующего действия в опухолевом очаге.

Цель настоящей работы заключается в систематизировании и обобщении данных литературы о разработке систем доставки агонистов STING на основе иммуноконъюгатов (ИК), липосом и полимерных наночастиц (НЧ).

Иммуноконъюгат как система доставки агонистов STING

В качестве системы, состоящей из терапевтических агентов, связанных с молекулами, опознаваемыми иммунной системой, значительный потенциал демонстрируют ИК. Последние представляют собой ковалентно связанный цитотоксический агент, именуемый «полезной нагрузкой» (ПН), с моноклональным антителом посредством связующего фрагмента — линкера, который, в зависимости от строения, может быть расщепляемым и нерасщепляемым. Конструкция подобных молекулярных систем доставки сочетает в себе преимущества высокоспецифичной нацеливающей способности иммуноглобулина и противоопухолевой активности соединенного с ним вещества. Природа ПН определяет эффективность ИК как лекарственного препарата. Низкая экспрессия опухолевых антигенов, а также неэффективная интернализация связавшегося с ИК рецептора могут привести к очень низким внутриклеточным концентрациям цитостатика. Сообщается о локализации на опухолевой ткани до 0,08 % от введенной дозы антител, что указывает на необходимость использовать токсины, уничтожающие клетки в минимально возможных концентрациях. Таким образом, при разработке ИК подбирают ПН со значениями концентрации полумаксимального ингибирования, лежащими в наномолярном диапазоне. К подобным высокоактивным веществам относятся и агонисты STING [11, 12].

Конъюгация активаторов STING с моноклональными антителами является многообещающей стратегией, улучшающей их профиль безопасности при внутривенном введении. Ряд исследователей предполагает, что для данных систем доставки нежелателен побочный цитотоксический эффект (bystander effect), при котором лекарственное средство проникает в соседние клетки после высвобождения из ИК. Следовательно, агонист должен обладать низкой степенью внутриклеточной проницаемости для минимизации нецелевой токсичности в не конъюгированной с антителом форме. Препятствовать данному эффекту можно конъюгацией ПН через нерасщепляемые линкеры, поскольку конструкция такого ИК будет метаболизироваться в клетке с образованием заряженного аминокислотного фрагмента. Однако линкерам подобной структуры, в частности — тиоэфирным, подходят только небольшие молекулы, фармакофор которых удален от места конъюгации. К тому же низкий уровень интернализации клетками ИК с нерасщепляемыми линкерами может снижать эффективность их действия, поскольку ПН активна только после эндосомального разложения, а агонисты STING воздействуют на внутриклеточную структуру [11, 13–15].

Исследования показали, что увеличение нагрузки иммуноглобулина гидрофобными молекулами способно увеличивать клиренс ИК. В случае агонистов STING это чревато серьезными побочными эффектами вследствие неконтролируемой активации сигнального пути интерферона в фагоцитирующих клетках. Следовательно, для обеспечения приемлемых фармакокинетических свойств ИК, напрямую определяющих и его безопасность, необходимо, чтобы он был преимущественно гидрофильным. Варьировать данным свойством можно подбором в качестве ПН более гидрофильных агонистов STING, а также введением в структуру линкера дополнительных фрагментов, например, полиэтиленгликоля (ПЭГ), способствующих солюбилизации конструкции ИК [16, 17].

Подобный строгий подход, основанный на всестороннем изучении свойств структурных компонентов, лег в основу разработки препарата ХМТ-2056. Таргетный компонент ИК представлен нацеленным на HER2 (human epidermal growth factor receptor 2 — рецептор человеческого эпидермального фактора роста 2) антителом (НТ-19), не конкурирующим за связывание с мишенью с трастузумабом и пертузумабом, что признается полезным свойством в реализации комбинированной анти-HER2-терапии. В качестве ПН выбрано соединение diABZI (diamidobenzimidazole — диамидобензимидазол), специально оптимизированное для обеспечения возможности конъюгации с сохранением активности. Расщепляемый линкер на основе сложного эфира оптимизирован солюбилизующими группами, такими как ПЭГ и бисглюкамин, что позволило получить стабильную конструкцию *in vivo*. Предварительные результаты биологических испытаний ХМТ-2056 показали высокую активность ИК в отношении HER2-экспрессирующих опухолей, как в монотерапии, так и в комбинации с ингибиторами контрольных точек иммунного ответа. Помимо этого, препарат хорошо переносился приматами в значительно более высоких дозах, чем те, что требуются для реализации противоопухолевого действия. В настоящее время ХМТ-2056 дошел до КИ в качестве средства лечения прогрессирующих рецидивирующих солидных HER2-положительных опухолей [13, 18, 19].

Еще одним ИК, дошедшим до КИ, является TAK-500, содержащий в качестве ПН производное циклического динуклеотида (ЦДН) TAK-676. Конструкция TAK-500 включает расщепляемый пептидный линкер, соединяющий агонист STING с антителом, нацеленным на CCR2 (C–C chemokine receptor type 2 — рецептор C–C-хемокинов 2-го типа). Данный экспрессируемый миелоидными клетками белок — это рецептор хемокинов CCL (C–C chemokine ligands — лиганды C–C-хемокинов), способствующий в ряде

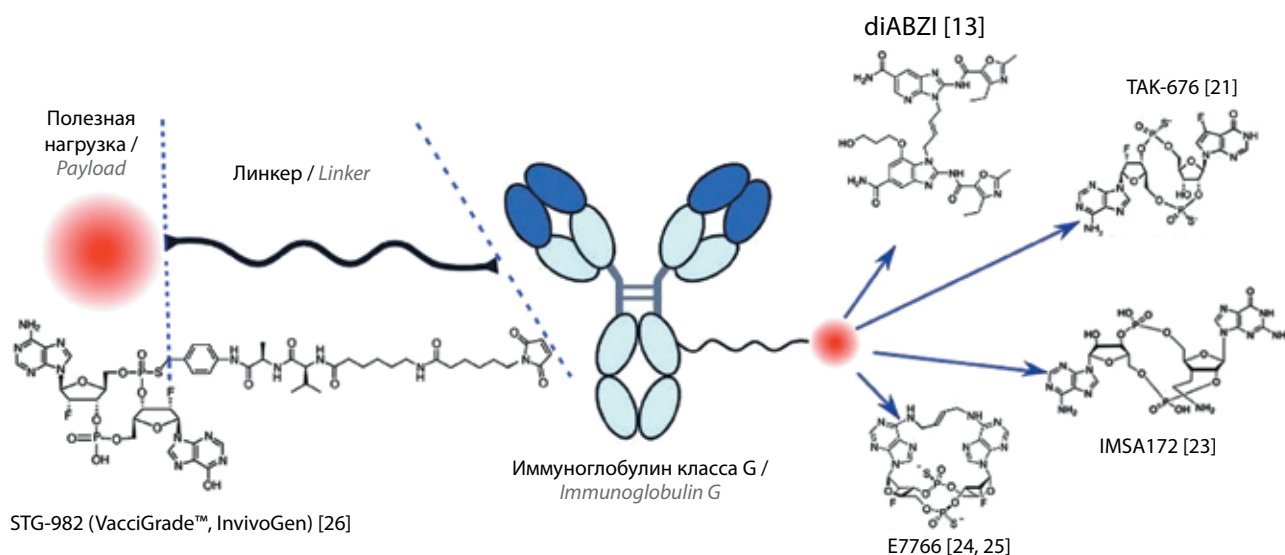


Рис. 2. Дизайн иммуноконъюгата с агонистами STING (stimulator of interferon genes) [13, 21, 23–26]

Fig. 2. Design of an immunoconjugate with STING (stimulator of interferon genes) agonists [13, 21, 23–26]

случаев уклонению опухоли от иммунного ответа. Показано, что блокада взаимодействия CCL с CCR2 усиливает противоопухолевый иммунный ответ посредством увеличения активности цитотоксических Т-лимфоцитов, стимулирования созревания CD103⁺-дендритных клеток и снижения экспрессии лиганда программируемой гибели клеток (programmed cell death-1 – PD-1, programmed cell death-ligand 1 – PD-L1). Следовательно, TAK-500 реализует свое действие как путем направленной активации сигнального пути интерферона, так и перепрофилированием иммуносупрессивного микроокружения опухоли. Подобный подход обладает потенциалом преодоления резистентности опухоли к терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа [20–22].

На рис. 2 показаны дизайн ИК и различные варианты ПН, представленной агонистами STING.

Наноструктурные системы доставки агонистов STING

Наноструктурные системы доставки веществ широко представлены в качестве средств диагностики и терапии онкологических заболеваний. Благодаря своей относительно большой площади поверхности, облегчающей функционализацию различными лигандами, НЧ могут быть адаптированы под любую клиническую задачу, а их биосовместимость и способность инкапсулировать широкий спектр веществ способствуют снижению выраженности побочных эффектов при системном введении. «Эффект повышенной проницаемости», парадигма которого заключается в наличии разрывов между эндотелиальными клетками кровеносных сосудов, долгое время считался основополагающим механизмом пассивного

накопления НЧ в опухолевой ткани. Однако последние исследования демонстрируют его незначительную роль в распределении наноструктур, поскольку частота образования таких разрывов в сосудистой ткани опухоли достаточно невелика. Имеющиеся данные о доставке в солидные опухоли примерно 0,7 % от числа введенных НЧ могут объяснять их скудное клиническое использование. В иммунотерапии неоплазий наноконтейнеры способны раскрыться в качестве эффективного инструмента, поскольку даже небольшое количество дошедших до патологической ткани НЧ, нагруженных иммунотерапевтическими агентами, способны вызвать устойчивый противоопухолевый ответ [27–30].

Опосредованная НЧ доставка агонистов STING способна исправить ряд ограничений, связанных с их структурой. Нативные лиганды STING – ЦДН являются гидрофильными отрицательно заряженными молекулами с энзиматически нестабильной фосфодиэфирной связью. Хотя их синтетические аналоги с фосфотиоатной эфирной связью более устойчивы к действию гидролаз, растворимость в воде и наличие заряда по-прежнему могут ограничивать пассивное проникновение молекул через клеточную мембрану. Помимо этого, химическая модификация структуры ЦДН осложняется лабильностью сахарно-фосфатных звеньев. Инкапсуляция в НЧ природных ЦДН способна выступать в качестве удобной альтернативы химическому синтезу их новых производных [31, 32].

Липосомальные формы агонистов STING

Липосомы, будучи сферическими липидными везикулами с водным ядром, могут заключать в себе гидрофильные молекулы, в том числе ЦДН. Так, S. Koshy

и соавт. исследовали катионные липосомы в качестве системы доставки фосфотиоатного производного цГЛМФ. Везикулы, состоящие из 1,2-диолеил-3-триметиламмоний-пропана (DOTAP), холестерина и липида с фрагментом ПЭГ массой 2000 Да (DSPE-PEG2000), были получены методом гидратации тонкой липидной пленки с последующими циклами «замораживания – оттаивания» и экструзией дисперсии через поликарбонатные мембраны. Полученные таким образом НЧ инкапсулировали приблизительно 20 % ЦДН, что является типичным результатом пассивной загрузки гидрофильных молекул. ПЭГ-модификация липосом значительно увеличивала их стабильность в среде, содержащей белок, но снижала положительный заряд НЧ, изменяя их фармакокинетические свойства. Липосомы без ПЭГ быстро поглощались дендритными клетками *in vitro*, однако ограниченно накапливались в опухолевом очаге при интратуморальном введении, что в итоге снижало активность препарата в отношении ортотопической модели мышины меланомы B16-F10. Тем не менее показано, что инкапсуляция в липосомы ЦДН способна усилить активацию сигнального пути STING по сравнению со свободным препаратом, а дальнейшая оптимизация характеристик НЧ может повысить эффективность терапии, в том числе формировать иммунологическую память против рецидива опухоли [33, 34].

N. Cheng и соавт. разработали липосомальный цГЛМФ и исследовали эффект препарата в отношении базальноподобного трижды-негативного рака молочной железы, устойчивого к терапии ингибиторами PD–L1. Что наиболее ценно, ученые так же оценили эффект разработанных НЧ на генно-модифицированной мышинной модели, наиболее точно имитирующей протекание данного заболевания у человека. Липосомы были сконструированы схожим с описанным в работе S. Koshy и соавт. методом, но с использованием L- α -фосфатидилхолина и DOTAP в массовой пропорции 100 к 1 соответственно. Получившийся препарат представлял собой однородную дисперсию (индекс полидисперсности – polydispersity index, PDI = 0,124) со средним гидродинамическим размером частиц приблизительно 85 нм, инкапсулирующих примерно 43 % цГЛМФ. Значительные противоопухолевые эффекты липосомального цГЛМФ наблюдались как в отношении ортотопических, так и генно-модифицированных моделей опухоли. Заключение в НЧ цГЛМФ превосходил свободный в способности преобразовывать макрофаги M2-фенотипа в M1-фенотип, а также в способности активации цитотоксических Т-лимфоцитов. Подобным образом заключенный в липосомы природный ЦДН способен потенцировать как врожденный, так и адаптивный противоопухолевый иммунный ответ [35].

Неоспоримое преимущество липосом – в их возможности инкапсулировать гидрофобные и гидрофильные вещества в одной везикуле, что может оказаться полезным, если вещества проявляют синергизм. Так, P. Atukorale и соавт. исследовали возможность доставки ЦДН совместно с агонистом Toll-подобного рецептора 4, монофосфолипидом А, который ранее был одобрен для применения в качестве адъюванта вакцин. Будучи гидрофобным соединением, монофосфолипид А при получении липосом встраивался в фосфолипидный бислой, тогда как гидрофильный ЦДН локализовался в водном ядре. Липосомы, нагруженные 2 агонистами одновременно, вызывали выработку интерферона, которая была в 7–10 раз выше, чем при использовании липосомальных форм исследуемых веществ по отдельности [36].

В контексте биотерапии опухолевых метастазов в легких Y. Liu и соавт. исследовали ингаляционную липосомальную систему доставки цГЛМФ. Препарат был получен путем двухэтапного обратного микроэмульгирования и представлял собой достаточно однородную и стабильную дисперсию НЧ, имеющих отрицательный поверхностный заряд и средний размер примерно 118 нм. Эффективность инкапсуляции составила более 71 %, а особенность липосомальной конструкции обеспечивала высвобождение нагрузки только при кислых значениях pH, характерных для эндосом. Фосфатидилсерин на поверхности липосом обеспечивал их преимущественное поглощение антигенпрезентирующими клетками, тем самым, по-видимому, способствуя минимизации местной и системной токсичности при применении препарата. Комбинация ингаляции липосомального цГЛМФ с лучевой терапией способствовала выработке сильного противоопухолевого иммунного ответа, приводящего у некоторых мышей к полной регрессии опухолевых метастазов в легких. Разработанная исследователями система доставки способствует преодолению иммуносупрессивного микроокружения опухоли как в облученных, так и необлученных участках легких [37].

Химическая модификация нативной структуры агониста STING – полезное подспорье для облегчения встраивания данных веществ в липосомальные везикулы. Так, X. Chen и соавт. создали гидрофобные пролекарства нуклеотидного активатора MSA-2 и исследовали их липосомальную форму. Поскольку исходная молекула MSA-2 является кислотой ($pK_a = 4,78 \pm 0,05$), для оптимизации получения липосом методом инъекции растворителя в буфер с pH = 7,4 исследователи получили сложное эфиры дериваты данного агониста, отличающиеся между собой длиной углеродной цепи гидрофобного фрагмента. Полученные пролекарства MSA-2 были совместимы с липидными компонентами, а эффективность

их загрузки в везикулы превышала 90 %. Воздействие таких липосомальных конструкций, именуемых SAProsomes (STING agonist pro-drug liposomes — липосомы-пролекарства агониста STING), на клетки привело к значительно большей экспрессии белков, регулируемых STING, по сравнению с воздействием на них свободного MSA-2. При оценке на доклинической мышинной модели опухоли MC38 SAProsomes показали себя хорошо переносимыми препаратами, внутривенное введение которых значительно тормозило рост опухоли. Лечение препаратом SAProsome-3, содержащим пролекарство с четырехчленным углеродным скелетом гидрофобной части, увеличивало среднюю продолжительность жизни мышей более чем в 10 раз по сравнению с лечением свободным MSA-2. При оценке на ортотопической модели рака молочной железы 4T1 SAProsome-3 демонстрировал заметную терапевтическую эффективность в отношении как первичной опухоли, так и метастазов по сравнению с лечением MSA-2 [38, 39].

Физико-химические свойства липосом в значительной мере определяют их взаимодействие с клетками и последующую реализацию биологического эффекта. Известно, что преобладание в составе липосом липида с низким значением температуры фазового перехода обеспечивает жидкокристаллическое состояние мембраны везикул при физиологической температуре, что облегчает их фузию с опухолевыми клетками. В дополнение к свойству текучести мембраны P. Yuan и соавт. выявили зависимость эластичности содержащих цГАМФ липосом от их способности доставлять нагрузку в иммунокомпетентные клетки. С этой целью были получены варьирующиеся по упругости везикулы с показателями модуля Юнга 15, 40 и 149 МПа. Для облегчения нацеливания на макрофаги и дендритные клетки липосомы функционализировали маннозными лигандами. Установлено, что везикулы средней эластичности (модуль Юнга = 40 МПа) в наибольшей степени способствуют выработке белков иммунного ответа, что обусловлено, предположительно, особенностями взаимодействия липосом с клеточной мембраной. Так, самые эластичные везикулы в основном адсорбировались на мембране клеток, а наиболее упругие подвергались эндоцитозу. В свою очередь, везикулы средней эластичности, сливаясь с клеточной мембраной, высвобождали гидрофильный цГАМФ непосредственно в цитоплазму [40, 41].

Полимерные носители агонистов STING

Полимерные НЧ имеют значительный потенциал в области доставки биологически активных веществ, обусловленный возможностью изменения физико-химических свойств каркасного полимера. Введение в его структуру различных групп обеспечи-

вает возможность точного контроля над размером и морфологией частиц, а также способствует повышению коллоидной стабильности дисперсии. Функционализация полимеров, из которых состоят НЧ, позволяет добиться хорошо подобранной реакции на эндогенные стимулы, инициирующие высвобождение нагрузки. Подобная гибкая настройка свойств полимера, исследованного D. Nguyen и соавт., позволила получить самосборную конструкцию, нагруженную цГАМФ. Носитель, состоящий из сополимера мембран-дестабилизирующего бутилметакрилата (BMA), ПЭГилированного метакрилата и pH-чувствительного диэтиламиноэтилметакрилата (diethylaminoethyl methacrylate — DEAEEMA), обеспечивал высвобождение агониста STING в цитозоль в ответ на кислую среду эндосом, физически их разрушая. При этом эндосомолитическая активность самосборных НЧ коррелировала с молекулярной массой ПЭГилированных мономеров. Полимеросомы, несущие фрагменты ПЭГ молекулярной массой 300 Да, активно доставляли цГАМФ в цитозоль, тогда как НЧ, содержащие фрагменты ПЭГ массой 950 Да, были практически неактивными *in vitro*, что может объясняться стерическими препятствиями и недостаточной степенью протонирования pH-селективного мономера. Хотя при оценке активности *in vivo* на модели меланомы B16-F10 интрамуральное введение НЧ на основе исследуемого полимера показало улучшенную доставку цГАМФ в клетки опухоли по сравнению со свободным, в будущем необходимы дальнейшие исследования для определения характеристик системно применимых составов полимеросом [42–44].

Возможность системного применения подобных эндосомолитических полимеросом описана D. Shae и соавт. Полимер-носитель так же состоял из блоков мембран-дестабилизирующего BMA и pH-чувствительного DEAEEMA. Отличительными особенностями являлись введение в структуру более тяжелых цепей ПЭГ, обеспечивающих коллоидную стабильность, и введение тиол-реактивного пиридилдисульфид-этилметакрилата (pyridyl disulfide ethyl methacrylate, PDSMA), обеспечивающего сшивание *in situ* цепей полимера внутри мембраны везикулы под действием дитиотреитола. Подобное решение позволяет увеличить молекулярную массу цепи полимера, тем самым усилив эндосомолитическую активность. Условия полимеризации были подобраны таким образом, чтобы на каждую цепь полимера приходилось в среднем по 2 группы PDSMA, что предотвращало образование полностью сшитой структуры мембраны полимеросом, тем самым сохраняя баланс между эффективностью инкапсуляции гидрофильного цГАМФ в везикулы и адекватностью реакции на стимул его высвобождения. Образующие диспергированием полимера в воде НЧ со средним гидродинамическим

размером приблизительно 80 нм имели нейтральный заряд при pH 7,4, а эффективность загрузки препарата в везикулы составила около 38 %. Полимеросомы увеличивали степень поглощения цГАМФ в иммунных клетках, при этом наиболее активно экспрессия интерферона происходила у макрофагов и дендритных клеток. Внутриопухолевое введение полимеросом с цГАМФ мышам с меланомой B16-F10 привело к 11-кратному снижению скорости роста опухоли по сравнению со свободным активатором STING. При внутривенном введении НЧ отмечалось замедление роста подкожной опухоли B16-F10, тогда как системное применение цГАМФ практически не дало терапевтического эффекта. Помимо этого, нанопрепарат усилил эффект терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа, что характеризовалось обеспечением стойкой ремиссии у 40 % получавших такое лечение мышей в течение 55 дней. При изучении фармакокинетического профиля данных НЧ было установлено, что инкапсулирование в них цГАМФ увеличило период полувыведения вещества в 40 раз и значительно повысило биодоступность. Различия между периодом полувыведения пустых полимеросом (6,4 ч) и инкапсулированного в них цГАМФ (1,3 ч) может объясняться диффузией молекул агониста STING через мембрану везикул, что потребует в дальнейшем определенных химических и технологических подходов, направленных на минимизацию утечки. Хотя системное применение НЧ сопровождалось кратковременным снижением массы тела, гистологический анализ не выявил признаков повреждения печени. Анализ распределения препарата в организме показал, что примерно 15 % от вводимой дозы цГАМФ в полимеросомах накапливалось в печени, менее 2 % — в селезенке, что приводило к активации сигнального пути STING и временному повышению уровня цитокинов в сыворотке крови. Тем не менее для реализации терапевтически значимого эффекта было достаточно приблизительно 3 % от введенной дозы инкапсулированного цГАМФ, дошедшего до сформировавшихся опухолей B16-F10 [45, 46].

Описанная ранее наноконструкция была апробирована для совместной доставки с ЦДН неоантигенных пептидов. Известно, что для надежной стимуляции длительного противоопухолевого иммунного ответа вакцинацией неоантигенными пептидами рационально использование адъювантов, специфически взаимодействующих с компонентами системы врожденного иммунитета. Наиболее часто используется агонист Toll-подобного рецептора 3 poly-I:C (polyinosinic: polycytidylic acid — полиинозиновая-полицитидиловая кислота). Группа исследователей во главе с D. Shae использовала в качестве адъюванта фосфотиоатный аналог цГАМФ, который

коинкапсулировался с пептидами в pH-чувствительные полимеросомы. Эффективность загрузки пептидов коррелировала с их гидрофобностью, что может отражать преимущественную ассоциацию молекул с мембраной или водным ядром везикулы. Подобная двухфазная структура полимеросом является важным преимуществом при доставке персонализированных неоантигенных пептидов, обладающих широким спектром свойств, в частности — растворимостью в воде [47, 48].

Поскольку ЦДН — отрицательно заряженные молекулы, для их эффективной цитозольной доставки целесообразно использовать катионные полимеры. Поли-β-аминоэфиры представляют собой удобный инструмент генной инженерии благодаря способности полимера электростатически взаимодействовать с отрицательно заряженными нуклеиновыми кислотами, образуя НЧ размером 50–200 нм. Помимо того, существует широкая возможность функционализации полимерной системы доставки путем как электростатической сорбции образуемых НЧ отрицательно заряженных таргетных лигандов, так и химической модификацией нативной структуры полимера. Подход к доставке производных ЦДН, ML-RR-CDA и RR-CDG с помощью поли-β-аминоэфиров был реализован D. Wilson и соавт. В результате скрининга, проводимого на клетках THP1-Blue™, была отобрана структура полимера PBAE 447, синтезированного из мономеров 1,4-бутандиолакрилата и 4-гидроксипиридина в молярном соотношении 1,1:1,0 соответственно. По концам цепей полимер был модифицирован метилпиперазиновыми фрагментами, что дополнительно способствовало повышению селективности доставки ЦДН в иммунные клетки. Полимерные НЧ, полученные смешением ЦДН и PBAE 447 в массовом соотношении 1:500, имели средний диаметр приблизительно 100 нм и заряд примерно +10 мВ. При оценке *in vivo* на модели меланомы B16-F1 комбинированная иммунотерапия, включающая интрамуральное введение нагруженных НЧ и применение анти-PD-1-антител, обеспечивала значительно большее торможение роста опухоли в сравнении с аналогичным режимом терапии с применением свободного ЦДН. Не выявлено также статистически значимой разницы между эффектом от лечения НЧ с ЦДН в дозе 2 мкг с блокадой PD-1 и терапией свободным ЦДН в 10-кратно превышающих дозах. Стабилизация лиофилизацией дисперсии НЧ не снижала эффективность препарата. Несмотря на то что исследуемая полимерная система доставки характеризуется относительной простотой состава и теоретической возможностью масштабирования производства с применением микрофлюидных технологий, способ введения препарата, по-видимому, ограничен опухолевой тканью [49–53].

Молекула агониста STING может быть включена непосредственно в структуру полимера, образующего супрамолекулярный ансамбль, высвобождающий нагрузку в ответ на экзогенные стимулы. При разработке полимерной *in situ*-системы доставки нуклеотидного агониста MSA-2 J. Jiang и соавт. выбрали ультразвук (УЗ) как релевантный стимул вследствие его относительной биологической безопасности, способности проникать глубоко в ткани и хорошей управляемости. Молекулу MSA-2 ковалентно связали с амфифильным полимером-соносенсибилизатором с помощью расщепляемого под действием синглетного кислорода ПЭГилированного линкера на основе дифенокситена. Полученная структура полимера собиралась в сферические НЧ в водной среде, размер которых был примерно 30 нм и практически не изменялся при хранении в течение 20 дней в фосфатно-солевом буфере и в 10 % растворе эмбриональной бычьей сыворотки, что свидетельствует о высокой коллоидной устойчивости дисперсии. Рассчитанная загрузочная емкость НЧ составила немногим более 6 %. Конъюгация MSA-2 с носителем не оказывала значительного влияния на оптические свойства НЧ, позволяющие их визуализировать в ближней инфракрасной области. Конъюгация MSA-2 не затронула способность полимера генерировать синглетные формы кислорода при воздействии УЗ-стимула, а непосредственно стимулочувствительность НЧ оставалась неизменной при различных значениях pH или после длительного хранения. При испытаниях *in vivo* на мышинной модели плоскоклеточной карциномы SCC-7 накопление НЧ в опухолевой ткани было выявлено с помощью флуоресцентной визуализации в ближнем инфракрасном диапазоне. После внутривенного применения дисперсии НЧ наблюдались интенсивные сигналы флуоресценции в местах опухоли, достигающие максимума спустя сутки после введения. Таким образом четко определяются границы опухоли для прецизионного УЗ-воздействия. При воздействии УЗ отмечалось значительно более выраженное торможение роста опухоли по сравнению с применением как свободной формы MSA-2, так и НЧ, не несущих агонист STING. Примечательно, что показатели торможения роста первичной опухоли для свободного агониста и пустых НЧ оказались приблизительно равными. Выживаемость мышей после терапии НЧ с УЗ-воз-

действием в течение 32 дней составила 100 %. Медиана выживаемости в группе получавших НЧ с MSA-2, но без последующего воздействия УЗ, составила 12 дней, что на 5 дней меньше аналогичного показателя для группы, получавшей свободную форму агониста STING. Системное применение *in situ* НЧ не сопровождалось значительной потерей веса, а уровни цитокинов в крови были такими же, как и у контрольной группы, получавшей фосфатно-солевой буфер. Следовательно, включение агонистов STING в структуру активируемого полимера *in situ* способно не только значительно расширить терапевтический индекс, но и обеспечить пространственно-временной контроль над иммуномодуляцией [54].

Заключение

Разработка систем доставки способствует раскрытию терапевтического потенциала агонистов STING в контексте иммунотерапии онкологических заболеваний. Описанные подходы к доставке агонистов STING способны преодолеть их основные ограничения, связанные с механизмом действия и химической структурой. Каждая из рассмотренных систем доставки предлагает уникальный набор преимуществ — от специфичности для ИК до универсальности и возможности обеспечения контролируемого высвобождения нагрузки в случае НЧ. При этом основными трудностями при разработке наноструктурных систем доставки по-прежнему остаются необходимость оптимизации их биораспределения, в том числе преодоление неспецифического фагоцитоза для максимального накопления НЧ в опухолевом узле, а также необходимость направленности действия, обеспечиваемая как функционализацией поверхности НЧ таргетными лигандами, так и подбором структурообразующих эксципиентов, способствующих высвобождению нагрузки в целевых клетках. Немаловажной практической задачей является разработка и оптимизация технологии получения подобных систем доставки, обеспечивающей выход стабильного продукта с заданными свойствами в удовлетворяющем потребности фармацевтического рынка количестве. Таким образом, будущее иммунотерапии, опосредованной активацией сигнального пути STING в злокачественных новообразованиях, неразрывно связано с разработкой состава и технологии сложных многофункциональных платформ.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Ishikawa H., Barber G.N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature* 2008;455(7213):674–8. DOI: 10.1038/nature07317
- Zhang K., Huang Q., Li X. et al. The cGAS-STING pathway in viral infections: a promising link between inflammation, oxidative stress and autophagy. *Front Immunol* 2024;15:1352479. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1352479
- Liu N., Pang X., Zhang H., Ji P. The cGAS-STING pathway in bacterial infection and bacterial immunity. *Front Immunol* 2022;12:814709. DOI: 10.3389/fimmu.2021.814709
- Zhou J., Zhuang Z., Li J., Feng Z. Significance of the cGAS-STING pathway in health and disease. *Int J Mol Sci* 2023;24(17):13316. DOI: 10.3390/ijms241713316
- Garland K.M., Sheehy T.L., Wilson J.T. Chemical and biomolecular strategies for STING pathway activation in cancer immunotherapy. *Chem Rev* 2022;122(6):5977–6039. DOI: 10.1021/acs.chemrev.1c00750
- Yang J., Luo Z., Ma J. et al. A next-generation STING agonist MSA-2: from mechanism to application. *J Control Release* 2024;371:273–87. DOI: 10.1016/j.jconrel.2024.05.042
- Zheng J., Mo J., Zhu T. et al. Comprehensive elaboration of the cGAS-STING signaling axis in cancer development and immunotherapy. *Mol Cancer* 2020;19(1):133. DOI: 10.1186/s12943-020-01250-1
- Kwon J., Bakhom S.F. The cytosolic DNA-sensing cGAS-STING pathway in cancer. *Cancer Discov* 2020;10(1):26–39. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-19-0761
- Wang B., Yu W., Jiang H. et al. Clinical applications of STING agonists in cancer immunotherapy: current progress and future prospects. *Front Immunol* 2024;15:1485546. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1485546
- Zhang H., Zeng L., Xie M. et al. TMEM173 drives lethal coagulation in sepsis. *Cell Host Microbe* 2020;27(4):556–70.e6. DOI: 10.1016/j.chom.2020.02.004
- Fu Z., Li S., Han S. et al. Antibody drug conjugate: the “biological missile” for targeted cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther* 2022;7(1):93. DOI: 10.1038/s41392-022-00947-7
- Anderl J., Faulstich H., Hechler T., Kulke M. Antibody-drug conjugate payloads. *Methods Mol Biol* 2013;1045:51–70. DOI: 10.1007/978-1-62703-541-5_4
- Duvall J.R., Thomas J.D., Bukhalid R.A. et al. Discovery and optimization of a STING agonist platform for application in antibody drug conjugates. *J Med Chem* 2023;66(15):10715–33. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.3c00907
- Bargh J.D., Isidro-Llobet A., Parker J.S., Spring D.R. Cleavable linkers in antibody-drug conjugates. *Chem Soc Rev* 2019;48(16):4361–74. DOI: 10.1039/c8cs00676h
- Mahalingaiah P.K., Ciurlionis R., Durbin K.R. et al. Potential mechanisms of target-independent uptake and toxicity of antibody-drug conjugates. *Pharmacol Ther* 2019;200:110–25. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2019.04.008
- Lyon R.P., Bovee T.D., Doronina S.O. et al. Reducing hydrophobicity of homogeneous antibody-drug conjugates improves pharmacokinetics and therapeutic index. *Nat Biotechnol* 2015;33(7):733–5. DOI: 10.1038/nbt.3212
- Meyer D.W., Bou L.B., Shum S. et al. An *in vitro* assay using cultured Kupffer cells can predict the impact of drug conjugation on *in vivo* antibody pharmacokinetics. *Mol Pharm* 2020;17(3):802–9. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b00991
- Duvall J.R., Bukhalid R.A., Cetinbas N.M. et al. XMT-2056, a HER2-targeted Immunosynthen STING-agonist antibody-drug conjugate, binds a novel epitope of HER2 and shows increased anti-tumor activity in combination with trastuzumab and pertuzumab. *Cancer Res* 2022;82(Suppl. 12):3503. DOI: 10.1158/1538-7445.AM2022-3503
- A Study of XMT-2056 in advanced/recurrent solid tumors that express HER2. *ClinicalTrials.gov*. URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05514717?cond=NCT05514717&rank=1&tab=history>.
- Diamond J.R., Henry J.T., Falchook G.S. et al. First-in-human study of TAK-500, a novel STING agonist immune stimulating antibody conjugate (ISAC), alone and in combination with pembrolizumab in patients with select advanced solid tumors. *Cancer Res* 2022;82(12). DOI: 10.1158/1538-7445.AM2022-CT249
- Carideo Cuniff E., Sato Y., Mai D. et al. TAK-676: a novel stimulator of interferon genes (STING) agonist promoting durable IFN-dependent antitumor immunity in preclinical studies. *Cancer Res Commun* 2022;2(6):489–502. DOI: 10.1158/2767-9764.CRC-21-0161
- Fein M.R., He X.Y., Almeida A.S. et al. Cancer cell CCR2 orchestrates suppression of the adaptive immune response. *J Exp Med* 2020;217(10):e20181551. DOI: 10.1084/jem.20181551
- Wu Y.T., Fang Y., Wei Q. et al. Tumor-targeted delivery of a STING agonist improves cancer immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2022;119(49):e2214278119. DOI: 10.1073/pnas.2214278119
- Drozdzowski B., Arai K., Kim D.S. et al. 1017 PSMA-E7766 ADC: harnessing targeted delivery of STING agonists for anti-tumor activity in prostate cancer. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* 2024. DOI: 10.1136/jitc-2024-SITC2024.1017
- Kim D.S., Endo A., Fang F.G. et al. E7766, a macrocycle-bridged stimulator of interferon genes (STING) agonist with potent pan-genotypic activity. *ChemMedChem* 2021;16(11):1740–3. DOI: 10.1002/cmdc.202100068
- Conjugatable STING ligands. *Invivogen.com*. URL: <https://www.invivogen.com/sting-conjugatable-ligands>.
- Mundekkad D., Cho W.C. Nanoparticles in clinical translation for cancer therapy. *Int J Mol Sci* 2022;23(3):1685. DOI: 10.3390/ijms23031685
- Goldberg M.S. Improving cancer immunotherapy through nanotechnology. *Nat Rev Cancer* 2019;19(10):587–602. DOI: 10.1038/s41568-019-0186-9
- Sindhvani S., Syed A.M., Ngai J. et al. The entry of nanoparticles into solid tumours. *Nat Mater* 2020;19(5):566–75. DOI: 10.1038/s41563-019-0566-2
- Wilhelm S., Tavares A.J., Dai Q. et al. Analysis of nanoparticle delivery to tumours. *Nat Rev Mater* 2016;1(5):1–12. DOI: 10.1038/natrevmater.2016.14
- Li L., Yin Q., Kuss P. et al. Hydrolysis of 2'3'-cGAMP by ENPP1 and design of nonhydrolyzable analogs. *Nat Chem Biol* 2014;10(12):1043–8. DOI: 10.1038/nchembio.1661
- Yanase Y., Tsuji G., Nakamura M. et al. Control of STING agonistic/antagonistic activity using amine-skeleton-based c-di-GMP analogues. *Int J Mol Sci* 2022;23(12):6847. DOI: 10.3390/ijms23126847
- Koshy S.T., Cheung A.S., Gu L. et al. Liposomal delivery enhances immune activation by STING agonists for cancer immunotherapy. *Adv Biosyst* 2017;1(1-2):1600013. DOI: 10.1002/adbi.201600013
- Eloy J.O., Claro de Souza M., Petrilli R. et al. Liposomes as carriers of hydrophilic small molecule drugs: strategies to enhance encapsulation and delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2014;123:345–63. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.09.029
- Cheng N., Watkins-Schulz R., Junkins R.D. et al. A nanoparticle-incorporated STING activator enhances antitumor immunity in PD-L1-insensitive models of triple-negative breast cancer. *JCI Insight* 2018;3(22):e120638. DOI: 10.1172/jci.insight.120638
- Atukorale P.U., Raghunathan S.P., Raguveer V. et al. Nanoparticle encapsulation of synergistic immune agonists

- enables systemic codelivery to tumor sites and IFN β -driven antitumor immunity. *Cancer Res* 2019;79(20):5394–406. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-0381
37. Liu Y., Crowe W.N., Wang L. et al. An inhalable nanoparticulate STING agonist synergizes with radiotherapy to confer long-term control of lung metastases. *Nat Commun* 2019;10(1):5108. DOI: 10.1038/s41467-019-13094-5
 38. Chen X., Meng F., Xu Y. et al. Chemically programmed STING-activating nano-liposomal vesicles improve anticancer immunity. *Nat Commun* 2023;14(1):4584. DOI: 10.1038/s41467-023-40312-y
 39. Pan B.S., Perera S.A., Piesvaux J.A. et al. An orally available non-nucleotide STING agonist with antitumor activity. *Science* 2020;369(6506):eaba6098. DOI: 10.1126/science.aba6098
 40. Yuan P., Yan X., Zong X. et al. Modulating elasticity of liposome for enhanced cancer immunotherapy. *ACS Nano* 2024;18(34):23797–811. DOI: 10.1021/acsnano.4c09094
 41. Bompard J., Rosso A., Brizuela L. et al. Membrane fluidity as a new means to selectively target cancer cells with fusogenic lipid carriers. *Langmuir* 2020;36(19):5134–44. DOI: 10.1021/acs.langmuir.0c00262
 42. Beach M.A., Nayanathara U., Gao Y. et al. Polymeric nanoparticles for drug delivery. *Chem Rev* 2024;124(9):5505–616. DOI: 10.1021/acs.chemrev.3c00705
 43. Leong J., Teo J.Y., Aakalu V.K. et al. Engineering polymersomes for diagnostics and therapy. *Adv Healthc Mater* 2018;7(8):e1701276. DOI: 10.1002/adhm.201701276
 44. Nguyen D.C., Shae D., Pagendarm H.M. et al. Amphiphilic polyelectrolyte graft copolymers enhance the activity of cyclic dinucleotide STING agonists. *Adv Healthc Mater* 2021;10(2):e2001056. DOI: 10.1002/adhm.202001056
 45. Shae D., Becker K.W., Christov P. et al. Endosomolytic polymersomes increase the activity of cyclic dinucleotide STING agonists to enhance cancer immunotherapy. *Nat Nanotechnol* 2019;14(3):269–78. DOI: 10.1038/s41565-018-0342-5
 46. Wehbe M., Wang-Bishop L., Becker K.W. et al. Nanoparticle delivery improves the pharmacokinetic properties of cyclic dinucleotide STING agonists to open a therapeutic window for intravenous administration. *J Control Release* 2021;330:1118–29. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.11.017
 47. Shae D., Baljon J.J., Wehbe M. et al. Co-delivery of peptide neoantigens and stimulator of interferon genes agonists enhances response to cancer vaccines. *ACS Nano* 2020;14(8):9904–16. DOI: 10.1021/acsnano.0c02765
 48. Барышникова М.А., Кособокова Е.Н., Косоруков В.С. Неоантигены в иммунотерапии опухолей. *Российский биотерапевтический журнал* 2018;17(2):6–14. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-6-14
Baryshnikova M.A., Kosobokova E.N., Kosorukov V.S. Neoantigens in tumor immunotherapy *Rossiiskij bioterapevticeskij zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2018;17(2):6–14. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-6-14
 49. Wilson D.R., Sen R., Sunshine J.C. et al. Biodegradable STING agonist nanoparticles for enhanced cancer immunotherapy. *Nanomedicine* 2018;14(2):237–46. DOI: 10.1016/j.nano.2017.10.013
 50. Karlsson J., Rhodes K.R., Green J.J., Tzeng S.Y. Poly(beta-amino ester)s as gene delivery vehicles: challenges and opportunities. *Expert Opin Drug Deliv* 2020;17(10):1395–410. DOI: 10.1080/17425247.2020.1796628
 51. Tzeng S.Y., Green J.J. Polymeric nucleic acid delivery for immunoengineering. *Curr Opin Biomed Eng* 2018;7:42–50. DOI: 10.1016/j.cobme.2018.09.005
 52. Smith T.T., Stephan S.B., Moffett H.F. et al. *In situ* programming of leukaemia-specific T cells using synthetic DNA nanocarriers. *Nat Nanotechnol* 2017;12(8):813–20. DOI: 10.1038/nnano.2017.57
 53. Magaña Rodríguez J.R., Guerra-Rebollo M., Borrós S., Fornaguera C. Nucleic acid-loaded poly(beta-aminoester) nanoparticles for cancer nano-immuno therapeutics: the good, the bad, and the future. *Drug Deliv Transl Res* 2024;14(12):3477–93. DOI: 10.1007/s13346-024-01585-y
 54. Jiang J., Zhang M., Lyu T. et al. Sono-driven STING activation using semiconducting polymeric nanoagonists for precision sono-immunotherapy of head and neck squamous cell carcinoma. *Adv Mater* 2023;35(30):e2300854. DOI: 10.1002/adma.202300854

Вклад авторов

С.Д. Щеглов: планирование обзора, поиск материалов, написание, редактирование и оформление обзора;
Я.О. Садовская, А.О. Каримова: поиск материалов, перевод, редактирование обзора;
О.Н. Солопова: планирование и редактирование обзора, критический анализ материала, подготовка финальной версии;
Ж.М. Козлова: планирование и дизайн обзора, редактирование и утверждение конечной версии.

Author's contributions

S.D. Shcegllov: planning the review, searching for materials, writing, editing and formatting the review;
Ya.O. Sadovskaya, A.O. Karimova: searching for materials, translation, review editing;
O.N. Solopova: planning and editing the review, critical analysis of the material, preparation of the final version;
Zh.M. Kozlova: review planning and design, editing and approval of the final version.

ORCID авторов / ORCID of authors

С.Д. Щеглов / S.D. Shcegllov: <https://orcid.org/0009-0002-0777-0422>
Я.О. Садовская / Ya.O. Sadovskaya: <https://orcid.org/0009-0009-7115-7797>
А.О. Каримова / A.O. Karimova: <https://orcid.org/0009-0000-0317-9948>
О.Н. Солопова / O.N. Solopova: <https://orcid.org/0000-0002-5465-6094>
Ж.М. Козлова / Zh.M. Kozlova: <https://orcid.org/0000-0003-1525-732X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа была выполнена при финансовой поддержке Минздрава России в рамках исследования № 126012715980-8 «Разработка иммунобиологического препарата на основе иммуноконъюгата антитела трастузумаб с оригинальным активатором STING для таргетной терапии HER2-позитивных опухолей».

Funding. The study was carried out with the financial support of the Ministry of Health of Russia as part of research No. 126012715980-8 “Development of an immunobiological drug based on the immunoconjugate of the trastuzumab antibody with the original STING activator for targeted therapy of HER2-positive tumors”.

Статья поступила: 08.11.2025. **Принята к публикации:** 20.05.2026. **Опубликована онлайн:** 15.07.2026.

Article submitted: 08.11.2025. **Accepted for publication:** 20.05.2026. **Published online:** 15.07.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-32-50>

Препараты рекомбинантного интерлейкина 2 в лечении вторичной иммунной недостаточности при деструктивном туберкулезе легких: систематический обзор

В.К. Козлов^{1,2}, В.В. Стельмах³, И.Г. Козлов⁴

¹ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С.Н. Голикова» ФМБА России; Россия, 192019 Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»; Россия, 199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9;

³ФГБОУ ВО «Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России; Россия, 195000 Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41;

⁴ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119048 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Контакты: Виктория Валерьевна Стельмах Viktoriaa.Stelmakh@szgmu.ru

Введение. Вторичный иммунодефицит у больных туберкулезом легких (ТБЛ) оказывает существенное влияние на течение и исход заболевания. Препараты рекомбинантного (rIL-2) интерлейкина 2 (IL-2) рассматриваются как наиболее перспективные для проведения патогенетической иммунотерапии.

Цель исследования – систематизация данных, подтверждающих сопряженность вторичной иммунной недостаточности и дефицита продукции IL-2 с патогенезом ТБЛ, и оценка результатов применения rIL-2 как патогенетически обоснованного средства иммунокоррекции.

Материалы и методы. Для поиска научных публикаций применяли базы данных Medline/PubMed, eLibrary, CyberLeninka. Статьи, соответствующие цели обзора, были отобраны за период с 1997 по 2025 г. по следующим терминам: «туберкулез», «микобактерии туберкулеза», «иммунитет».

Результаты. Систематический обзор, проведенный на основании поиска источников литературы, характеризующих состояние иммунореактивности при деструктивном ТБЛ и эффективность сочетанного применения противотуберкулезной полихимиотерапии с rIL-2, показал, что вторичная иммунная недостаточность, характерная для различных форм деструктивного ТБЛ, проявляется количественным дефицитом CD4⁺- и/или CD8⁺-лимфоцитов, угнетением их функциональной активности, снижением эндогенной продукции одного из главных факторов роста и дифференцировки Т-лимфоцитов – IL-2. Применению rIL-2 в сочетании со стандартной полихимиотерапией ТБЛ посвящено 20 работ, в которых наряду с клинической симптоматикой оценивались бактериологические, иммунологические, рентгенологические исходы. Все исследования были рандомизированными, 2 – двойные слепые рандомизированные плацебо-контролируемые. Исследования суммарно включали 2730 пациентов, страдающих различными формами деструктивного ТБЛ. Использовались различные дозы, пути введения rIL-2 и продолжительность иммунотерапии. Применение rIL-2 на фоне противотуберкулезной полихимиотерапии способствует коррекции вторичного иммунодефицита, восстановлению количественных и функциональных иммунных показателей, что приводит к увеличению частоты достижения абациллирования, положительной рентгенологической динамике, улучшению клинических показателей.

Заключение. Включение цитокинотерапии rIL-2 в состав стандартной противотуберкулезной полихимиотерапии патогенетически обоснованно, достоверно повышает эффективность лечения и имеет хороший профиль безопасности.

Ключевые слова: туберкулез легких, иммунная недостаточность, иммунотерапия, рекомбинантный интерлейкин 2, цитокинотерапия

Для цитирования: Козлов В.К., Стельмах В.В., Козлов И.Г. Препараты рекомбинантного интерлейкина 2 в лечении вторичной иммунной недостаточности при деструктивном туберкулезе легких: систематический обзор. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(2):32–50.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-32-50>

The effectiveness of recombinant interleukin-2 preparations in secondary immunodeficiency developing in destructive pulmonary tuberculosis. Systematic review

Viktor K. Kozlov^{1,2}, Viktoriya V. Stelmakh³, Ivan G. Kozlov⁴

¹Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov, FMBA of Russia; 1 Bekhtereva St., St. Petersburg 192019, Russia;

²Saint Petersburg State University; 7–9 Universitetskaya Embankment, St. Petersburg 199034, Russia;

³Mechnikov North-West State Medical University, Ministry of Health of Russia; 41 Kirochnaya St., St. Petersburg 195000, Russia;

⁴Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Build. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119048, Russia

Contacts: Viktoriya Valerievna Stelmakh Viktoriia.Stelmakh@szgmu.ru

Background. Secondary immunodeficiency in patients with pulmonary tuberculosis has a significant impact on the course and outcome of the disease. Recombinant (rIL-2) interleukin-2 (IL-2) preparations are considered the most promising for pathogenetic immunotherapy.

Aim. Systematization of data confirming the association of secondary immune deficiency and IL-2 deficiency with the pathogenesis of pulmonary tuberculosis and evaluation of the results of using rIL-2 as a pathogenetically substantiated means of immunocorrection.

Materials and methods. Medline/PubMed, eLibrary, and CyberLeninka were used to search for scientific publications. Articles relevant to the review objective were identified for the period from 1997 to 2025 using the following terms: tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, and immunity.

Results. A systematic review based on a literature search for sources characterizing the state of immunoreactivity in patients with destructive pulmonary tuberculosis and the effectiveness of combined use of anti-tuberculosis chemotherapy and rIL-2 showed that secondary immune deficiency is associated with various forms of destructive pulmonary tuberculosis and manifests itself in the form of lymphopenia, cellular immune deficiency, including a quantitative deficiency of CD4⁺ and/or CD8⁺ lymphocytes, suppression of their functional activity, and production of IL-2. Twenty studies were devoted to the use of rIL-2 in combination with standard polychemotherapy for pulmonary tuberculosis, in which bacteriological, immunological, and radiological research outcomes were assessed along with clinical symptoms. All studies were randomized, 2 of which were double-blind, randomized, placebo-controlled studies. The studies included a total of 2,730 patients suffering from various forms of destructive pulmonary tuberculosis. Various doses, routes of administration of rIL-2, and durations of immune therapy were used. The use of rIL-2 in combination with anti-tuberculosis chemotherapy helps to correct secondary immunodeficiency, restore quantitative and functional immune parameters, and increase the frequency of abacillization, leading to positive radiological dynamics and improved clinical outcomes.

Conclusion. The inclusion of cytokine therapy with rIL-2 in the standard anti-tuberculosis polychemotherapy is pathogenetically justified, reliably increases the effectiveness of treatment and has a good safety profile.

Keywords: pulmonary tuberculosis, immune deficiency, immunotherapy, recombinant interleukin-2, cytokine therapy

For citation: Kozlov V.K., Stelmakh V.V., Kozlov I.G. The effectiveness of recombinant interleukin-2 preparations in secondary immunodeficiency developing in destructive pulmonary tuberculosis. Systematic review. *Rossiiskij bioterapevticheskij zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(2):32–50. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-32-50>

Введение

Туберкулез легких (ТБЛ) по-прежнему остается одной из серьезных угроз здоровью человечества во всем мире. Широкая распространенность заболевания, высокая смертность от ТБЛ определяют высокую социальную значимость этого заболевания и глобализацию проблемы. На развитие эпидемического процесса по ТБЛ существенное влияние оказывают организация и уровень проведения противотуберкулезных мероприятий: своевременность периодических обследований, осуществление прививок бациллой Кальметта–Герена детям, своевременность и качество лечения противотуберкулезными препа-

ратами пациентов, заболевших туберкулезом (ТБ), организация и уровень проведения противотуберкулезных мероприятий среди инфицированных ВИЧ [1].

Традиционно применяемая противотуберкулезная полихимиотерапия (ПХТ) доказала свою эффективность в лечении различных форм ТБЛ [2]. Однако на современном этапе фтизиатрии имеется ряд проблем, связанных с увеличением числа больных с прогрессирующим течением заболевания, развитием деструктивных форм ТБЛ, ростом полирезистентности микобактерий ТБ (МБТ) к проводимой противотуберкулезной ПХТ [3, 4]. Тенденция к росту ТБ со множественной лекарственной устойчивостью

(МЛУ-ТБ) характерна как для Российской Федерации, так и для всего мира [1]. Лечение МЛУ-ТБ часто сопровождается более высокими показателями неэффективности и смертности, чем лечение лекарственно-чувствительного ТБ (ЛЧ-ТБ). Кроме того, имеющиеся в арсенале препараты 2-го ряда более токсичны, требуют более длительных курсов лечения, более дорогостоящи, что находит отражение в низкой приверженности к терапии и снижении ее эффективности [5]. Глобальный контроль над МЛУ-ТБ затруднен отсутствием эффективных вакцин, а также методов лечения, включая препараты, направленные на организм хозяина [6].

По данным ряда авторов, примерно 25 % населения мира инфицированы МБТ, из которых большинство случаев сдерживается иммунной системой [7]. Наличие многофункциональных поляризованных Т-хелперов 1-го типа (Th1) CD4⁺-Т-клеток (CD – cluster of differentiation), совместно экспрессирующих интерферон γ (IFN- γ), фактор некроза опухоли α (TNF- α) и IL-2, рассматривается как фактор, способствующий защите от инфекции *Mycobacterium tuberculosis* [8]. Накопленные к настоящему моменту данные свидетельствуют о том, что развитие и исход ТБ в значительной мере определяются состоянием иммунологической реактивности организма и одной из причин безуспешного лечения является именно недостаточная эффективность защитных механизмов организма [9]. Опубликованные исследования описывают наличие фенотипического дисбаланса иммунокомпетентных клеток, измененного профиля цитокинов при ТБЛ [10]. Характеристика иммунного статуса у этого контингента больных с выявлением параметров иммунной недостаточности представляет особую необходимость [11, 12].

Оценка показателей вторичной иммунной недостаточности у больных ТБ может обеспечить основу для прогнозирования течения и исхода заболевания и обоснования применения патогенетической иммунотерапии. Исследования и разработка специфических для ТБ иммунотерапевтических препаратов могут эффективно регулировать противотуберкулезный иммунный ответ и обеспечить новый подход к комбинированному лечению ТБ. В связи с этим крайне необходима разработка новых схем лечения, которые позволят сократить терапевтический период и обеспечат более высокие показатели эффективности данной категории больных.

Цель настоящего обзора – систематизация данных, подтверждающих сопряженность вторичной иммунной недостаточности и дефицита продукции IL-2 с патогенезом ТБЛ, и оценка результатов применения rIL-2 как патогенетически обоснованного средства иммунокоррекции.

Материалы и методы

Поиск проводили по основным базам данных PubMed/Medline, eLibrary, CyberLeninka оригинальных работ, опубликованных с 1997 по 2025 г., по направлениям, характеризующим состояние иммунитета у больных ТБЛ и эффективность иммунотерапии rIL-2 в комплексном лечении данной категории больных. Первый этап поиска литературы включал такие ключевые слова, как «туберкулез», «микобактерии туберкулеза», «иммунитет». На II этапе поиск проводили по ключевым словам: «рекомбинантный интерлейкин 2», «ТБЛ» и взаимосвязанным терминам, таким как «инфильтративный туберкулез легких», «фиброзно-кавернозный ТБЛ», «клеточно-опосредованный иммунный ответ», «вторичный иммунодефицит», «иммунотерапия», «адьювантная терапия», «множественная лекарственная устойчивость». При этом из поиска были исключены источники, описывающие ТБ у животных, внелегочные формы ТБ, а также ТБ у детей и ВИЧ-инфицированных пациентов. Дополнительно проводили поиск по референтным ссылкам метаанализов и выявленных статей.

Результаты

Характеристика вторичной иммунной недостаточности, сопутствующей деструктивным формам туберкулеза легких

Процесс поиска в базах данных и идентификации источников отражен на рис. 1.

В результате просмотра 212 научных источников были выбраны 13 сообщений с общей численностью 1822 больных ТБЛ, в которых в результате проведения клинико-иммунологических исследований были сделаны достоверные выводы о состоянии иммунологической реактивности больных деструктивным ТБЛ [13–25] (табл. 1).

Туберкулез – одно из инфекционных заболеваний, которое протекает с преимущественным поражением легких на фоне нарушений адаптивного иммунного ответа, осуществляемого в основном Т-лимфоцитами. Макрофаги и нейтрофилы, выступая в качестве первичного защитного механизма, идентифицируют и поглощают МБТ путем фагоцитоза, функционируя в дальнейшем как классические антигенпрезентирующие клетки, высвобождая IL-12 и IL-18 для облегчения пролиферации Т-клеток. Th1 способствуют продукции IFN- γ и TNF- α , что приводит к активации антимикробной защиты за счет повышения пула макрофагов соединительной ткани, Th17 и нейтрофилов периферической крови. Когда инвазивность МБТ сильнее, чем иммунитет хозяина, МБТ будет реплицироваться в гранулеме, которая может подвергаться казеозному некрозу, разжижению и кавитации, что приводит к распространению МБТ и инициации активного ТБ [26]. Восприимчивость



Рис. 1. Релевантный поиск литературы по ключевому слову «состояние иммунитета у больных деструктивным туберкулезом легких»

Fig. 1. Relevant keyword literature search "immune status in patients with destructive pulmonary tuberculosis"

к ТБ может повышаться при мутациях в рецепторах цитокинов (таких как IL-12, 18, 6, IFN- γ и TNF- α), обеспечивающих раннюю защиту, что в итоге приводит к дефектной передаче сигналов и прерывает иммунный надзор за уничтожением МБТ [27].

Другая особенность иммунного ответа при ТБ — повышенная готовность к апоптозу гранулоцитов и Т-лимфоцитов, развитие Т-клеточной анергии, а также смещение в сторону преимущественно Th2-ответа (снижение числа CD4⁺-, CD8⁺-, NKT-клеток) наряду с увеличением CD19⁺-лимфоцитов и нарастанием противотуберкулезных антител у больных с двусторонним фиброзно-кавернозным ТБЛ [19].

Распространенный деструктивный ТБЛ вне зависимости от его клинической формы сопровождается выраженной недостаточностью клеточно-опосредованных механизмов иммунологической резистентности [17], снижением антигенспецифического ответа вследствие анергии Т-клеток, а также индуцированной продукции IL-2 [18].

В исследовании, проведенном Б.Е. Кнорингом и соавт. в 2019 г., установлено, что у больных с фиброзно-кавернозным ТБЛ повышение апоптоза лимфоцитов ассоциировалось с угнетением антигенспецифического пролиферативного ответа, снижением уровня CD25⁺-лимфоцитов. При этом продукция IFN- γ , IL-2 и TNF- α была снижена у всех обследованных пациентов с МЛУ-фиброзно-кавернозным ТБЛ, наиболее существенно при двусторонней де-

струкции органа, что свидетельствует о предельном истощении резервов моноцитарно-макрофагальной системы, а также Т-лимфоцитов вследствие длительного массивного антигенного воздействия. Выявлена отчетливая зависимость изменений цитокинового статуса как от степени интенсивности апоптоза, так и от выраженности деструктивного процесса [19].

Э. Лесник и соавт., в 2022 г. исследуя состояние иммунной системы у 169 больных ТБЛ с первичной и приобретенной лекарственной устойчивостью МБТ, установили, что показатели клеточного иммунитета и естественной резистентности наиболее снижены у больных с МЛУ-МБТ по сравнению с ЛЧ-МБТ. Отмечали повышенную активность гуморального иммунитета на фоне недостаточности клеточного звена иммунитета вне зависимости от типа резистентности МБТ. Показатели CD3⁺ и их функциональные характеристики отрицательно коррелировали с клиническими и рентгенологическими проявлениями туберкулезного процесса, которые свидетельствовали о более тяжелом течении ТБЛ у больных с МЛУ [22].

Данные систематического анализа указывают на то, что вторичная иммунная недостаточность при различных формах деструктивного ТБЛ проявляется недостаточностью клеточного звена иммунитета. Основные проявления включают абсолютную лимфопению, количественный дефицит

Таблица 1. Краткая характеристика исследований, включенных в систематический анализ по направлению «Вторичная иммунная недостаточность при деструктивном туберкулезе легких»
Table 1. Brief description of studies included in the systematic review in the area of "Secondary immune deficiency in destructive pulmonary tuberculosis"

Автор, год, библиографическая ссылка Author, year, bibliographic reference	Число пациентов, включенных в исследование/вошедших в анализ данных Number of patients included in the study/included in the data analysis	Форма ТБЛ Form of pulmonary tuberculosis	Выявленные нарушения в иммунном статусе Identified disturbances in immune status
Кноринг и соавт., 2001 [13] Knoring et al., 2001 [13]	193	Инфильтративный ТБЛ, $n = 87$; диссеминированный ТБЛ, $n = 25$; фиброзно-кавернозный ТБЛ, $n = 49$; казеозная пневмония, $n = 32$ Infiltrative pulmonary tuberculosis, $n = 87$; disseminated pulmonary tuberculosis, $n = 25$; fibrocavernous pulmonary tuberculosis, $n = 49$; caseous pneumonia, $n = 32$	Преимущественно гуморальный тип иммунного ответа. Анергия мононуклеаров крови: существенное снижение спонтанной продукции IL-2 Predominantly humoral immune response. Anergy of blood mononuclear cells: significant reduction in spontaneous IL-2 production
Уразова и соавт., 2010 [14] Urazova et al., 2010 [14]	154	Инфильтративный распространенный деструктивный ТБЛ, $n = 97$; диссеминированный ТБЛ, $n = 37$; фиброзно-кавернозный, $n = 20$; лекарственно-чувствительный и МЛУ Infiltrative widespread destructive tuberculosis of the lungs, $n = 97$; disseminated pulmonary tuberculosis, $n = 37$; fibrocavernous pulmonary tuberculosis, $n = 20$; drug-sensitive and multidrug resistance	Т-клеточный дефицит при поли- и мультирезистентном ТБЛ (снижение абсолютного количества $CD4^+CD25^+$ Foxp3-клеток). Гипоэргия макрофагов. Цитокиновый дисбаланс: снижение индуцированной продукции IL-2; дефицит секретиции IL-12 коррелирует со спектром лекарственной бактериорезистентности; увеличение базальной и стимулированной секретиции IL-10 <i>in vitro</i> при инфильтративном лекарственно-чувствительном ТБЛ; снижение базальной и стимулированной секретиции IL-10 <i>in vitro</i> при лекарственно-резистентном инфильтративном ТБЛ и лекарственно-чувствительном фиброзно-кавернозном ТБЛ T-cell deficiency in poly- and multidrug-resistant pulmonary tuberculosis (decrease in the absolute number of $CD4^+CD25^+$ Foxp3- cells). Macrophage hypoergy. Cytokine imbalance: decreased induced IL-2 production; IL-12 secretion deficiency correlates with the spectrum of drug-resistant bacteria; increased basal and stimulated IL-10 secretion <i>in vitro</i> in infiltrative drug-sensitive tuberculosis of the lungs; decreased basal and stimulated IL-10 secretion <i>in vitro</i> in drug-resistant infiltrative and drug-sensitive fibrocavernous tuberculosis of the lungs
Арчакова и соавт., 2008 [15] Archakova et al., 2008 [15]	60	Впервые выявленный инфильтративный ТБЛ Newly diagnosed infiltrative pulmonary tuberculosis	Абсолютная лимфопения ($CD4^+$); угнетение функциональной активности лимфоцитов; снижение индуцированной продукции IL-2; отсутствие спонтанной продукции IL-2 Absolute lymphopenia ($CD4^+$); suppression of lymphocyte functional activity; decreased induced IL-2 production; absence of spontaneous IL-2 production
Кноринг и соавт., 2010 [16] Knoring et al., 2010 [16]	135	Фиброзно-кавернозный ТБЛ Fibrocavernous pulmonary tuberculosis	Вторичный иммунодефицит: подавление клеточного иммунитета; снижение функциональной активности Т-лимфоцитов; изменения в распределении регуляторных и эффекторных субпопуляций лимфоцитов Secondary immunodeficiency: suppression of cellular immunity; decreased functional activity of T-lymphocytes; changes in the distribution of regulatory and effector lymphocyte subpopulations

Продолжение табл. 1
Continuation of table 1

Автор, год, библиографическая ссылка Author, year, bibliographic reference	Число пациентов, включенных в исследование/вошедших в анализ данных Number of patients included in the study/included in the data analysis	Форма ТБЛ Form of pulmonary tuberculosis	Выявленные нарушения в иммунном статусе Identified disturbances in immune status
Воронкова и соавт., 2010 [17] Vorontkova et al. 2010 [17]	123	Остро прогрессирующий ТБЛ: инфильтративный ТБЛ, $n = 51$; фиброзно-кавернозный ТБЛ, $n = 27$; диссеминированный ТБЛ, $n = 45$ Acutely progressive pulmonary tuberculosis: infiltrative pulmonary tuberculosis, $n = 51$; fibrocavernous pulmonary tuberculosis, $n = 27$; disseminated pulmonary tuberculosis, $n = 45$	Абсолютная лимфопения ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD38^+$, $CD45RA^+$); снижение спонтанной продукции IL-1 β , TNF- α , IL-2; активация гуморального звена иммунитета ($CD20^+$) Absolute lymphopenia ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD38^+$, $CD45RA^+$); decreased spontaneous production of IL-1 β , TNF- α , IL-2; activation of humoral immunity ($CD20^+$)
Кноринг и соавт., 2012 [18] Knoring et al., 2012 [18]	95	Фиброзно-кавернозный ТБЛ Fibrocavernous pulmonary tuberculosis	Угнетение клеточного звена иммунитета: снижение относительного содержания Т-хелперов; снижение пролиферативной активности лимфоцитов; снижение иммунорегуляторного индекса $CD4^+/CD8^+$; повышенный апоптоз $CD4^+$ - и $CD8^+$ -Т-клеток; снижение индуцированной продукции IL-2 Suppression of cellular immunity; decreased relative T-helper cell count; decreased lymphocyte proliferative activity; decreased $CD4^+/CD8^+$ immunoregulatory index; increased apoptosis of $CD4^+$ and $CD8^+$ T cells; decreased induced IL-2 production
Кноринг и соавт., 2019 [19] Knoring et al., 2019 [19]	70	Фиброзно-кавернозный ТБЛ, МЛУ 45 % Fibrocavernous pulmonary tuberculosis, multidrug resistance 45 %	Повышение апоптоза Т-лимфоцитов; угнетение антигенспецифического пролиферативного ответа, снижение уровня $CD25^+$ -лимфоцитов; снижение продукции IFN- γ , IL-2 и TNF- α Increased T-lymphocyte apoptosis; suppression of the antigen-specific proliferative response, decreased $CD25^+$ lymphocyte levels; decreased production of IFN- γ , IL-2, and TNF- α
Абильбаева и соавт., 2022 [20] Abilbayeva et al., 2022 [20]	208	Впервые выявленный ТБЛ, $n = 125$; инфильтративный ТБЛ, $n = 67$; фиброзно-кавернозный ТБЛ, $n = 8$; другие формы, $n = 50$; лекарственно-чувствительный, $n = 56$; МЛУ, $n = 69$. Рецидив ТБЛ, $n = 83$; инфильтративный ТБЛ, $n = 45$; фиброзно-кавернозный ТБЛ, $n = 33$; другие формы, $n = 5$; лекарственно-чувствительный, $n = 10$; МЛУ, $n = 73$ Newly diagnosed pulmonary tuberculosis, $n = 125$; infiltrative pulmonary tuberculosis, $n = 67$; fibrocavernous pulmonary tuberculosis, $n = 8$; other forms pulmonary tuberculosis, $n = 50$	Снижение продукции антигенспецифического IL-2 при фиброзно-кавернозной форме и лекарственно-резистентном ТБЛ Decreased production of antigen-specific IL-2 in fibro-cavernous form and multidrug resistance pulmonary tuberculosis

Продолжение табл. 1
Continuation of table 1

Автор, год, библиографическая ссылка Author, year, bibliographic reference	Число пациентов, включенных в исследование/вошедших в анализ данных Number of patients included in the study/included in the data analysis	Форма ТБЛ Form of pulmonary tuberculosis	Выявленные нарушения в иммунном статусе Identified disturbances in immune status
Абильбаева и соавт., 2022 [20] Abilbayeva et al., 2022 [20]	208	n = 50; drug-sensitive, n = 56; multidrug resistance, n = 69; Relapsed pulmonary tuberculosis, n = 83; infiltrative pulmonary tuberculosis, n = 45; fibrocavernous pulmonary tuberculosis, n = 33; other forms pulmonary tuberculosis, n = 5; drug-sensitive, n = 10; multidrug resistance, n = 73	
Алыменко и соавт., 2022 [21] Alymenko et al., 2022 [21]	212	Впервые выявленный ТБЛ: деструктивный, n = 98; недеструктивный, n = 114 First identified pulmonary tuberculosis: destructive, n = 98; non-destructive, n = 114	Недеструктивный ТБЛ в 89,5 % ассоциировался с генотипом EE гена <i>GSTM1</i> , рецессивным генотипом GA гена <i>TNF-α</i> в 71,9 %. Деструктивный ТБЛ в 56,1 % случаев ассоциировался с генотипом DD гена <i>GSTM1</i> , в 93,3 % с доминантным генотипом GG гена <i>TNF-α</i> . Полиморфные варианты генов ферментов метаболизма биотрансформации ксенобиотиков (<i>NAT2</i> , <i>CYP2E1</i> , <i>ABCB1</i> , <i>GSTT1</i>) и цитокинов (<i>IL-1β</i> , 4, 10) не ассоциировались с наличием/отсутствием деструктивных изменений в легких Non-destructive pulmonary tuberculosis was associated with the EE genotype of the <i>GSTM1</i> gene in 89.5 % of cases, and the recessive GA genotype of the <i>TNF-α</i> gene in 71.9 %. Destructive pulmonary tuberculosis was associated with the DD genotype of the <i>GSTM1</i> gene in 56.1 % of cases, and with the dominant GG genotype of the <i>TNF-α</i> gene in 93.3 %. Polymorphic variants of genes encoding enzymes involved in xenobiotic biotransformation metabolism (<i>NAT2</i> , <i>CYP2E1</i> , <i>ABCB1</i> , <i>GSTT1</i>) and cytokines (<i>IL-1β</i> , 4, 10) were not associated with the presence/absence of destructive changes in the lungs
Лесник и соавт., 2022 [22] Lesnik et al., 2022 [22]	169	ТБЛ: лекарственно-чувствительный, n = 80; МЛУ, n = 89 Pulmonary tuberculosis: drug-sensitive, n = 80; multidrug resistance, n = 89	Снижение параметров клеточного иммунитета и естественной резистентности в большей степени у больных с МЛУ микобактерий ТБ; повышение активности гуморального иммунитета вне зависимости от типа резистентности микобактерий ТБ; отрицательная корреляция уровня CD3 ⁺ и их функциональных характеристик с клиническими проявлениями и рентгенологическими характеристиками у больных с МЛУ-ТБЛ A decrease in cellular immunity parameters and natural resistance to a greater extent in patients with multidrug resistance pulmonary tuberculosis; an increase in humoral immunity activity regardless of the type of resistance mycobacterium tuberculosis; a negative correlation between CD3 ⁺ levels and their functional characteristics with clinical manifestations and radiological characteristics in patients with multidrug resistance pulmonary tuberculosis

Окончание табл. 1
End of table 1

Автор, год, библиографическая ссылка Author, year, bibliographic reference	Число пациентов, включенных в исследование/вошедших в анализ данных Number of patients included in the study/included in the data analysis	Форма ТБЛ Form of pulmonary tuberculosis	Выявленные нарушения в иммунном статусе Identified disturbances in immune status
Ап и соавт., 2022 [23] An et al., 2022 [23]	217	ТБЛ Pulmonary tuberculosis	Абсолютная лимфопения (снижение CD4 ⁺ -Т-, CD8 ⁺ -Т-, NK-, NKT-, В-лимфоцитов) Absolute lymphopenia (decrease in CD4 ⁺ T-, CD8 ⁺ T-, NK-, NKT-, B-lymphocytes)
Кононова и соавт., 2023 [24] Kononova et al., 2023 [24]	165	Впервые выявленный ТБЛ: инфильтративный ТБЛ, <i>n</i> = 89; диссеминированный ТБЛ, <i>n</i> = 76 Newly diagnosed infiltrative pulmonary tuberculosis, <i>n</i> = 89; disseminated pulmonary tuberculosis, <i>n</i> = 76	Снижение IL-23 в группе с диссеминированным ТБЛ; повышение экспрессии гена транскрипционного регулятора дифференцировки Th17-лимфоцитов – транскрипционного фактора RORC2 Decreased IL-23 in the group with disseminated pulmonary tuberculosis; increased expression of the gene for the transcriptional regulator of Th17 lymphocyte differentiation – transcription factor RORC2
Wang и соавт., 2023 [25] Wang et al., 2023 [25]	21	ТБЛ Pulmonary tuberculosis	Абсолютная лимфопения; снижение количества как Th1-, так и Th17-клеток; снижение абсолютного количества иммуnoreгуляторных клеток (NK, MAIT, γδТ-клетки); дисфункции Т-клеток (включая CD4 ⁺ - и CD8 ⁺ -Т-клетки) и NK-клеток Absolute lymphopenia; decreased numbers of both Th1 and Th17 cells; decreased absolute numbers of immunoregulatory cells (NK, MAIT, γδT cells); dysfunction of T cells (including CD4 ⁺ and CD8 ⁺ T cells) and NK cells

Примечание. ТБЛ – туберкулез легких; МЛУ – множественная лекарственная устойчивость; IL – интерлейкин; TNF-α – фактор некроза опухоли α; CD – кластер дифференцировки; NK – натуральные киллеры; NKT – натуральные киллеры Т-клетки; MAIT – мукозально-ассоциированные инвариантные Т-клетки; RORC2 – retinoic acid-related orphan receptor C isoform 2.

Note. IL – interleukin; TNF-α – tumor necrosis factor α; CD – cluster of differentiation; NK – natural killers; NKT – natural killers; MAIT – mucosal-associated invariant T cells; RORC2 – retinoic acid-related orphan receptor C isoform 2.

CD4⁺- и/или CD8⁺-лимфоцитов, угнетение функциональной активности Т-клеток, снижение продукции IFN-γ и IL-2 (на 50–70 %), а также уменьшение в 3–4 раза количества антигенспецифических CD8⁺-Т-клеток памяти [11, 12]. В исследовании 2023 г. Y. Wang и соавт. отметили резкое снижение количества лимфоцитов у пациентов ТБЛ с тяжелым течением заболевания. У больных наблюдали снижение количества как Th1-, так и Th17-клеток. Установлено, что лимфопения затрагивает различные клеточные популяции (NK-, MAIT-, γδТ-клетки и т.д.). Исследование scRNA-seq показали, что Т-клетки (включая CD4⁺- и CD8⁺-) и NK-клетки у пациентов с тяжелой формой ТБ становятся дисфункциональными [25].

Результаты анализа с достоверной определенностью продемонстрировали, что у пациентов с активным ТБ отмечается снижение продукции IL-2 и экспрессии его рецепторов, обусловленное нарушением клеточного иммунитета и развитием вторичной иммунной недостаточности. На основании этого можно заключить, что включение иммунокоррекции препаратами rIL-2 в комплексное лечение больных деструктивным ТБЛ патогенетически обосновано. Экзогенный IL-2 позволяет преодолеть анергию Т-клеток, восстановить их функциональную активность, нормализовать популяции CD4⁺-Т- и NK-клеток, соотношение CD4/CD8, а также нивелировать супрессорную активность регуляторных Т-клеток.

Применение рекомбинантного интерлейкина 2 как патогенетически обоснованного средства иммунокоррекции

В результате анализа 213 сообщений выбрали 20 работ о применении препаратов rIL-2 при ТБЛ в качестве адъювантной иммунотерапии на фоне стандартной противотуберкулезной ПХТ [28–47] (табл. 2). Всего в отобранных исследованиях участвовали 2730 пациентов с ТБЛ, которые и вошли в окончательный анализ. Препараты rIL-2 назначали дополнительно к стандартной противотуберкулезной терапии как при впервые диагностированном ТБЛ [30, 36–40, 46, 47], так и при рецидивирующем [28, 29, 31, 32, 34, 35, 41–43], а также МЛУ-ТБ [28, 31, 34, 42–44] или лекарственно-чувствительном ТБЛ [30, 36, 38–40, 46, 47]. Средний возраст пациентов варьировал от 35 до 57 лет.

Процесс поиска в базах данных и идентификации источников отражен на рис. 2.

Эффективность терапии оценивали по клиническим, микробиологическим и рентгенологическим исходам. В исследованиях использовали различные суточные дозы (от 200 000 до 1 000 000 МЕ), пути введения rIL-2 (подкожный, внутривенный, внутримышечный) и длительность курса адъювантной иммунотерапии (от 1 до 4 мес). Продолжительность наблюдения составила от 1 до 24 мес. Два включенных исследования были двойными слепыми плацебо-контролируемыми [28, 30].

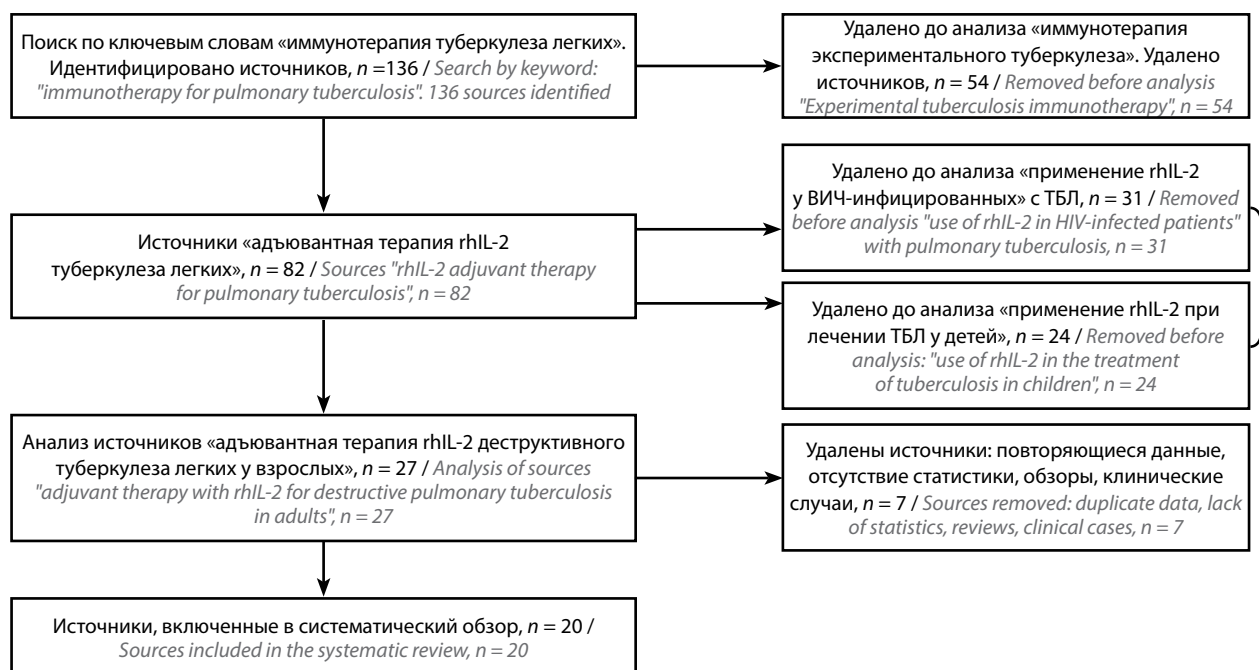


Рис. 2. Релевантный поиск литературы по ключевому слову «иммунотерапия деструктивного туберкулеза легких с применением рекомбинантного интерлейкина 2 (человека)» (rhIL-2)

Fig. 2. Relevant keyword literature search “immunotherapy of destructive pulmonary tuberculosis using recombinant (human) interleukin-2” (rhIL-2)

Таблица 2. Краткая характеристика исследований, включенных в систематический анализ по направлению «Результаты применения рекомбинантного интерлейкина 2 (rIL-2) как патогенетически обоснованного средства иммунокоррекции при ТБЛ»

Table 2. Brief description of studies included in the area of "Results of the use of recombinant interleukin-2 (rIL-2) as a pathogenetically based immunocorrective agent for pulmonary tuberculosis"

Автор, год, библиографическая ссылка Author, year, bibliographic reference	Тип исследования Type of study	Число пациентов, включенных в исследование/вошедших в анализ данных Number of patients included in the study/included in the data analysis	Впервые выявленный или рецидивирующий ТБЛ Newly diagnosed or recurrent pulmonary tuberculosis	Чувствительность к противотуберкулезным препаратам Sensitivity to anti-tuberculosis drugs	Доза, путь введения r-IL2 Dose and route of administration of r-IL2	Суммарная длительность курса назначения rIL2, мес Total duration of rIL2 treatment, months
Johnson и соавт., 1997 [28] Johnson et al., 1997 [28]	Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое Randomized double-blind placebo-controlled	33	Рецидивирующий ТБЛ Recurrent pulmonary tuberculosis	МЛУ multidrug resistance	225 000 ЕД внутривенно ежедневно или 450 000 ЕД внутривенно с интервалом 12 ч в течение 5 дней с последующим 9-дневным «отдыхом» в течение 3 циклов 225,000 IU intravenously daily or 450,000 IU intravenously at 12-hour intervals for 5 days followed by a 9-day «rest» for 3 cycles	1
Li и соавт., 2003 [29] Li et al., 2003 [29]	Рандомизированное Randomized	51	Рецидивирующий ТБЛ Recurrent pulmonary tuberculosis	Нет данных No data	200 000 ЕД внутривенно 1 раз в сутки 200,000 IU intravenously once daily	2
Johnson и соавт., 2003 [30] Johnson et al., 2003 [30]	Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое Randomized double-blind placebo-controlled	110	Впервые выявленный ТБЛ Newly diagnosed pulmonary tuberculosis	ЛЧ-ТБ drug-sensitive pulmonary tuberculosis	225 000 ЕД внутривенно 2 раза в сутки 225,000 IU intravenously twice daily	1
Liang и соавт., 2003 [31] Liang et al., 2003 [31]	Рандомизированное Randomized	41	Рецидивирующий ТБЛ Recurrent pulmonary tuberculosis	МЛУ Multidrug resistance	200 000 ЕД внутримышечно 1 раз в сутки на протяжении 1 мес, через 1 мес повторение курса 200,000 IU intramuscularly once a day for 1 month, repeat the course after 1 month	3
Chu и соавт., 2003 [32] Chu et al., 2003 [32]	Рандомизированное Randomized	203	Рецидивирующий ТБЛ Recurrent pulmonary tuberculosis	Смешанный Mixed	200 000 ЕД внутримышечно 1 раз в сутки на протяжении 1 мес, через 1 мес повторение курса 200,000 IU intramuscularly once a day for 1 month, repeat the course after 1 month	3
Xu и соавт., 2004 [33] Xu et al., 2004 [33]	Рандомизированное Randomized	100	Смешанная Mixed forms of pulmonary tuberculosis	Нет данных No data	200 000 ЕД подкожно 1 раз в сутки на протяжении 1 мес, через 1 мес повторение курса 200,000 IU subcutaneously once a day for 1 month, repeat the course after 1 month	3

Продолжение табл. 2
Continuation of table 2

Автор, год, библиографическая ссылка Author, year, bibliographic reference	Тип исследования Type of study	Число пациентов, включенных в исследование/вошедших в анализ данных Number of patients included in the study/included in the data analysis	Впервые выявленный или рецидивирующий ТБЛ Newly diagnosed or recurrent pulmonary tuberculosis	Чувствительность к противотуберкулезным препаратам Sensitivity to anti-tuberculosis drugs	Доза, путь введения r-IL2 Dose and route of administration of r-IL2	Суммарная длительность курса назначения rIL2, мес Total duration of rIL2 treatment, months
Zhang и соавт., 2005 [34] Zhang et al., 2005 [34]	Рандомизированное Randomized	40	Рецидивирующий ТБЛ Recurrent pulmonary tuberculosis	МЛУ Multidrug resistance	200 000 ЕД внутривенно 1 раз в сутки 200,000 IU intravenously once a day	3
Yu и соавт., 2008 [35] Yu et al. 2008 [35]	Рандомизированное Randomized	83	Рецидивирующий ТБЛ Recurrent pulmonary tuberculosis	Нет данных No data	200 000 ЕД внутривенно 1 раз в сутки 200,000 IU intravenously once a day	2
Арчакова и соавт., 2008 [36] Archakova et al., 2008 [36]	Многоцентровое проспективное рандомизированное открытое исследование с активным контролем Multicenter prospective randomized open-label active-controlled	60	Впервые выявленный ТБЛ Newly diagnosed pulmonary tuberculosis	ЛЧ-ТБ Drug-sensitive pulmonary tuberculosis	500 000 МЕ внутривенно с интервалом 48 ч между инфузиями 500,000 IU intravenously with an interval of 48 hours between infusions	1
Лысов и соавт., 2011 [37] Lysov et al., 2011 [37]	Рандомизированное Randomized	40	Впервые выявленный ТБЛ Newly diagnosed pulmonary tuberculosis	Нет данных No data	500 000 МЕ эндолимфатически с интервалом 48 ч № 3 500,000 IU endolymphatically at intervals of 48 hours No. 3	1
Song и соавт., 2011 [38] Song et al., 2011 [38]	Рандомизированное Randomized	86	Впервые выявленный ТБЛ Newly diagnosed pulmonary tuberculosis	ЛЧ-ТБ drug-sensitive pulmonary tuberculosis	600 000 ЕД подкожно 3 раза в неделю 600,000 IU subcutaneously 3 times a week	1
Xue и соавт., 2012 [39] Xue et al., 2012 [39]	Рандомизированное Randomized	48	Впервые выявленный ТБЛ Newly diagnosed pulmonary tuberculosis	ЛЧ-ТБ drug-sensitive pulmonary tuberculosis	1000 000 ЕД подкожно 3 раза в неделю 1000,000 IU subcutaneously 3 times a week	2
Tang и соавт., 2013 [40] Tang et al., 2013 [40]	Рандомизированное Randomized	62	Впервые выявленный ТБЛ Newly diagnosed pulmonary tuberculosis	ЛЧ-ТБ drug-sensitive pulmonary tuberculosis	400 000 ЕД внутривенно 1 раз в сутки 400,000 IU intravenously once a day	3

Окончание табл. 2
End of table 2

Автор, год, библиографическая ссылка Author, year, bibliographic reference	Тип исследования Type of study	Число пациентов, включенных в исследование/вошедших в анализ данных Number of patients included in the study/included in the data analysis	Впервые выявленный или рецидивирующий ТБЛ Newly diagnosed or recurrent pulmonary tuberculosis	Чувствительность к противотуберкулезным препаратам Sensitivity to anti-tuberculosis drugs	Доза, путь введения r-IL2 Dose and route of administration of r-IL2	Суммарная длительность курса назначения rIL2, мес Total duration of rIL2 treatment, months
Cui и соавт., 2014 [41] Cui et al., 2014 [41]	Рандомизированное Randomized	188	Рецидивирующий ТБЛ Recurrent pulmonary tuberculosis	Нет данных No data	200 000 ЕД подкожно 1 раз в сутки 200,000 IU subcutaneously once a day	2
Shen и соавт., 2015 [42] Shen et al., 2015 [42]	Рандомизированное многоцентровое Randomized multicenter	50	Рецидивирующий ТБЛ Recurrent pulmonary tuberculosis	МЛУ Multidrug resistance	500 000 ЕД внутривенно через день в 1, 3, 5, 7-й месяцы терапии 500,000 IU intradermally every other day in months 1, 3, 5, 7 of therapy	7
Liang и соавт., 2015 [43] Liang et al., 2015 [43]	Рандомизированное Randomized	54	Рецидивирующий ТБЛ Recurrent pulmonary tuberculosis	МЛУ Multidrug resistance	1000 000 ЕД подкожно через день 1,000,000 IU subcutaneously every other day	2
Tan и соавт., 2017 [44] Tan et al., 2017 [44]	Многоцентровое проспективное рандомизированное контролируемое сравнительное Multicenter prospective randomized controlled comparative	216	Смешанные формы ТБЛ Mixed forms of pulmonary tuberculosis	МЛУ Multidrug resistance	500 000 ЕД внутривенно через день в 1, 3, 5, 7-й месяцы терапии 500,000 IU intradermally every other day in months 1, 3, 5, 7 of therapy	7
Chen и соавт., 2019 [45] Chen et al., 2019 [45]	Рандомизированное Randomized	64	Рецидивирующий ТБЛ Recurrent pulmonary tuberculosis	Нет данных No data	200 000 ЕД подкожно 1 раз в сутки 200,000 IU subcutaneously once a day	3
Nie и соавт., 2022 [46] Nie et al., 2022 [46]	Рандомизированное Randomized	1151	Впервые выявленный ТБЛ Newly diagnosed pulmonary tuberculosis	ЛЧ-ТБ Drug-sensitive pulmonary tuberculosis	400 000 ЕД внутривенно 1 раз в сутки 400,000 IU intradermally once daily	1
Yan и соавт., 2022 [47] Yan et al., 2022 [47]	Рандомизированное Randomized	50	Впервые выявленный ТБЛ Newly diagnosed pulmonary tuberculosis	ЛЧ-ТБ Drug-sensitive pulmonary tuberculosis	500 000 ЕД внутривенно 1 раз в сутки 500,000 IU intradermally once daily	1

Примечание. ТБЛ – туберкулез легких; МЛУ – множественная лекарственная устойчивость; ЛЧ-ТБ – лекарственно-чувствительный туберкулез.
Note. ТБЛ – pulmonary tuberculosis; МЛУ – multidrug resistant; ЛЧ-ТБ – drug-sensitive pulmonary tuberculosis.

Одним из первых клинических исследований, доказавших клинический эффект дополнительной иммунотерапии rIL-2 при МЛУ-ТБ, было двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование, выполненное в 1997 г. В. J. Johnson и соавт., включившее 33 пациента с рецидивирующим ТБЛ и МЛУ МБТ. Применение низкодозированной иммунотерапии rIL-2 в режиме ежедневного назначения 225 000 ЕД внутривенно в течение 1 мес приводило к стимуляции иммунного ответа (увеличение количества CD25- и CD56-клеток в периферической крови). Это способствовало более интенсивному снижению бактериальной нагрузки мокроты (у 68 % пациентов основной группы против 25 % группы сравнения), а также существенному рентгенологическому улучшению (у 58 % пациентов основной группы против 42 % группы сравнения). Тогда же было установлено, что IL-2 способствует пролиферации антигенспецифических CD4- и CD8-Т-лимфоцитов, активирует сигнальный путь JAK-STAT (Janus kinase—Signal Transducer and Activator of Transcription) для транскрипции генов роста и выживания клеток [28].

В 2003 г. N. H. Chu и соавт. сообщили о результатах рандомизированного контролируемого исследования с участием 203 пациентов с МЛУ-ТБ, которые повторно проходили курс противотуберкулезной терапии [32]. Авторы показали, что иммунотерапия rIL-2 в сочетании со стандартной химиотерапией (ХТ) повышает ее эффективность, существенно не влияя на профиль безопасности. Частота отрицательных результатов бактериоскопии мокроты на 1-м и 2-м месяцах терапии соответственно составила 33,3 и 69,4 % в основной группе с применением rIL-2 и 7,2 и 44,9 % в группе стандартной противотуберкулезной терапии ($p < 0,01$). Положительную рентгенологическую динамику к концу курса терапии наблюдали у 64,1 % пациентов, получавших дополнительно иммунотерапию rIL-2, и у 36,0 % пациентов, находящихся на стандартной противотуберкулезной терапии ($p < 0,001$). Выявлены достоверные различия в количестве CD4 Т-клеток, соотношении CD4/CD8 и NK-клеток между двумя группами ($p < 0,01$). Уровень растворимого рецептора интерлейкина 2 (sIL-2R) достоверно различался между двумя группами после 3 мес лечения ($p < 0,05$). Побочные эффекты, связанные с rIL-2, встречались редко и были слабо-выраженными.

Вместе с тем, по данным двойного слепого плацебо-контролируемого клинического исследования с участием 110 пациентов с первичным ЛЧ-ТБЛ, дополнительное ежедневное внутривенное назначение rIL-2 450 000 МЕ в течение 1-го месяца стандартной противотуберкулезной терапии не способствовало увеличению бациллярного клиренса или улучшению клинических симптомов у данной категории больных

[30]. Однако установлен умеренный системный эффект rIL-2. Об этом свидетельствовало увеличение доли CD4/CD25-Т-клеток и повышение уровней sIL-2R и IL-2 в сыворотке крови по данным проточного цитометрического анализа клеток периферической крови, окрашенных комбинацией моноклональных антител к CD3, CD4 или CD8 и CD25 (для оценки активации субсетов Т-клеток) или CD3, CD16 и CD56 (для определения NK-клеток), проводимого исходно и через 2 и 6 нед после начала противотуберкулезной терапии. Медиана процентного содержания CD4/CD25-Т-лимфоцитов была выше после 2 и 6 нед противотуберкулезной терапии у пациентов, получавших rIL-2, по сравнению с плацебо ($p = 0,05$ и $p = 0,08$ по *U*-критерию Манна–Уитни) [30].

А. В. Лысов и соавт. в 2011 г. сообщили об эффективном применении препарата rIL-2 (Ронколейкин®) в дозе 500 тыс. МЕ эндолимфатически в загрудинную клетчатку с интервалом 48 ч (3 введения) в составе лимфотропной смеси, содержащей канамицин, изониазид, гепарин, димексид, лидокаин. В открытом рандомизированном исследовании участвовали 40 пациентов с прогрессирующим инфильтративным ТБЛ [37]. Применение лимфотропной химиоиммунотерапии с использованием рекомбинантного препарата Ронколейкин способствовало достоверно более быстрому купированию интоксикационного и бронхолегочного синдромов, улучшению общего состояния больных прогрессирующим ТБЛ, оцениваемого по шкалам физического функционирования с 58,8 до 72,2 ($p < 0,05$), ролевого физического функционирования с 30,5 до 53,2 ($p < 0,05$), значительному снижению концентрации про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1b — с 184,6 до 38,21 мкмоль/л, IL-4 — с 47,68 до 4,46 мкмоль/л). Положительную рентгенологическую динамику через 2 мес после начала иммунотропной ХТ отмечали у 19 пациентов основной группы по сравнению с 3 — в группе сравнения ($p < 0,05$).

В многоцентровом рандомизированном исследовании 2015 г. с участием 50 пациентов с МЛУ-ТБ, описанном Н. Shen и соавт., стандартная противотуберкулезная ХТ была дополнена внутривенным введением rIL-2 в дозе 500 000 МЕ 1 раз в 2 дня, в течение 1, 3, 5 и 7-го месяцев лечения. При этом негативация мазков мокроты увеличилась с 52 до 75 % ($p = 0,019$), негативация посевов мокроты — с 52 до 67 % ($p = 0,043$). Позитивную рентгенологическую динамику — рассасывание очагов поражения на 24-м месяце лечения — наблюдали у 54 % пациентов в основной группе, дополнительно получавших rIL-2, и у 25 % пациентов, находящихся на стандартной противотуберкулезной терапии (контрольная группа) ($p = 0,039$). Закрывание полостей распада зарегистрировано у 23 % пациентов основной группы и у 17 % —

контрольной ($p > 0,05$). Иммуноterapia гПЛ-2 не вызывала тяжелых нежелательных реакций [42].

Исследование 2017 г. Q. Тап и соавт. на большой многоцентровой когорте с участием 271 пациента с МЛУ-ТБ убедительно показало, что дополнительное назначение гПЛ-2 в дозе 500 000 ЕД внутривенно через день в 1, 3, 5, 7-й месяцы проведения стандартной противотуберкулезной ПХТ (пиразинамидом, канамицином, амикацином, капреомицином, левофлоксацином, протионамидом, пара-аминосалициловой кислотой, пасиназидом) было безопасным и способствовало сокращению традиционной 24-месячной схемы как минимум на 6 мес, с увеличением частоты излечения с 37,2 до 55,6 % ($p < 0,01$). Иммуноterapia гПЛ-2 ускоряла клиренс внутрилегочных микобактерий и эффективную репарацию легочной ткани, способствуя клиническому излечению. Частота клиренса микобактерий (по данным мазков мокроты) в конце 18-месячного курса терапии была достоверно выше в группе с дополнительным назначением гПЛ-2 (80 % против 65 %; $p < 0,05$), в то время как частота неудач и смертность были схожими между 2 группами (3,5 % против 5,4 %; $p > 0,05$). Рентгенологический контроль проводили через 3, 6, 12, 18, 24 мес в период наблюдения. Пациенты группы с дополнительной иммунотропной терапией гПЛ-2, как правило, демонстрировали положительную рентгенологическую динамику (эффективный регресс инфильтративных изменений в легких, а также закрытие полостей) в течение более короткого периода, по сравнению с пациентами, получавшими стандартную противотуберкулезную терапию [44].

В исследовании 2022 г. W. Nie и соавт. с участием 1151 пациента с впервые выявленным ЛЧ-ТБЛ гПЛ-2 применяли по 500 000 ЕД внутривенно 1 раз в сутки в течение 1-го месяца вместе с противотуберкулезной терапией. Результатом стало ускорение негативации культуры МБТ ($p < 0,05$), а также положительная рентгенологическая динамика по скорости закрытия полости в легких ($p = 0,001$) [46].

Для оценки эффективности лечения необходимо указать на важность комплексного анализа эффективности лечения прогрессирующего ТБЛ с использованием клинических, микробиологических, рентгенологических и иммунологических показателей [36, 37]. Адьювантная терапия гПЛ-2 приводит к коррекции вторичной иммунной недостаточности и позволяет оптимизировать результаты лечения больных прогрессирующим ТБЛ. Клиническая эффективность сочетанного применения гПЛ-2 и стандартной противотуберкулезной ХТ проявляется более интенсивным снижением уровня эндогенной интоксикации, увеличением вероятности абациллирования мокроты и резорбции очагов на рентгенограммах, повышением частоты закрытия полостей распада. Однако кли-

ническая эффективность и выраженность эффекта зависят от исходного иммунного статуса пациента и режима введения препарата. Хотя средние суточные дозы, способ и продолжительность введения гПЛ-2 варьировали в различных исследованиях, метарегрессионный анализ не выявил, что различия в этих факторах оказывают существенное влияние на эффективность гПЛ-2 [48].

Проведенный метаанализ, включающий 18 рандомизированных контролируемых исследований [48], убедительно показал, что адьювантная иммуноterapia гПЛ-2 достоверно улучшала клинические, микробиологические и рентгенологические исходы при легочных формах ТБ, даже у пациентов с МЛУ-ТБ и рецидивирующим ТБ. Дополнительное назначение к стандартной противотуберкулезной терапии гПЛ-2 достоверно увеличивало долю пациентов, достигших положительной рентгенологической динамики: абсорбции рентгенологического очага (отношение рисков (ОР) 1,17, 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,06–1,3; $p = 0,002$), закрытия кавернозных полостей (ОР 1,24, 95 % ДИ 1,09–1,4); повышало вероятность конверсии культуры мокроты в отрицательную (ОР 1,27, 95 % ДИ 1,09–1,47, $p = 0,002$), конверсии мазка мокроты в отрицательный (ОР 1,35, 95 % ДИ 1,17–1,57; $p < 0,001$). Применение гПЛ-2 не было связано с какими-либо тяжелыми нежелательными явлениями, что свидетельствует о хорошем профиле безопасности препарата. Из нежелательных явлений отмечали высокий риск развития лихорадки (ОР 2,46, 95 % ДИ 1,29–4,70; $p = 0,006$).

Поскольку ТБЛ является хронической инфекцией, склонной к рецидивам, не менее важен анализ отдаленных результатов иммунотерапии гПЛ-2. Наблюдение за пациентами в течение 1,5–4,5 года, получавшими противотуберкулезную терапию в сочетании с иммунотерапией гПЛ-2 (препарат Ронколейкин), показало значительное влияние проведенного лечения на частоту летальности и инвалидизации при отдаленных сроках наблюдения [49].

Обсуждение

Сценарий развития туберкулезного процесса зависит от эффективности клеточного иммунного ответа против патогена. К настоящему моменту установлено, что иммунное распознавание, иммунный ответ и иммунная регуляция *M. tuberculosis* определяют возникновение, развитие и исход заболеваний после инфицирования [26]. Прогрессирующее течение туберкулезного процесса, приводящее к хронической форме заболевания, в значительной мере обусловлено вторичной иммунной недостаточностью макроорганизма. Недостаточность клеточного иммунитета у больных деструктивным ТБЛ имеет стойкий характер и усугубляется по мере прогрессирования

и распространения специфического процесса. В условиях хронической инфекции наблюдается снижение количества Т-лимфоцитов (лимфопения, вторичный иммунодефицит), угнетение их функциональной активности, проявляющееся анергией Т-клеток, снижением продукции IFN- γ и IL-2. Проведенный систематический анализ современных исследований наглядно демонстрирует сопряженность клинического течения ТБЛ и развивающегося вторичного иммунодефицитного состояния [13–25].

Исследования, выполненные ранее, показали, что хроническая инфекция МЛУ-ТБ истощает клетки Th1 и активирует ответ клеток Th17. Более высокие уровни IL-17 способствуют активации и привлечению нейтрофилов, макрофагов и Th1-лимфоцитов к месту инфекции, пытаясь ограничить инфекцию и подавить рост МБТ. Однако, как сообщалось, IL-17 стимулирует апоптоз альвеолярных эпителиальных клеток с последующим усилением патологического повреждения тканей при ТБЛ [50]. Основная причина повышенной экспансии циркулирующих клеток Th17 у пациентов с МЛУ-ТБ – популяция $\gamma\delta$ Т-клеток, которая, как выяснилось, является основным источником микобактериального IL-17 [51].

Последние данные указывают на то, что ТБ – не мономорфное заболевание, и реакции организма на инфекцию МБТ представляют собой широкий спектр клинических проявлений, патологий иммунных и молекулярных путей (эндотипов) [52–56].

В доклинических исследованиях подтверждено, что активация и регуляция иммунитета опосредованы связанным с иммунным ответом Th1-типа IL-2. Пилотные исследования показали, что IL-2 может вызывать дифференциальную экспрессию генов в периферических мононуклеарных клетках крови, стимулированных МБТ, и усиливать пролиферацию и трансформацию CD4⁺-Т- и NK-клеток [55], что способствует повышению эффективности стандартной противотуберкулезной ХТ. Установлено, что IL-2 способствует элиминации внутриклеточного МБТ, повышая пролиферацию NK-клеток и Т-лимфоцитов, а также увеличивая бактерицидную активность макрофагов. Поскольку IL-2 критически важный цитокин для дифференцировки Т-клеток посредством регуляции активации STAT5, это предполагает, что инфекция МБТ может подавлять экспрессию IL-2 в IFN- γ ⁺ CD3⁺-Т-клетках, потенциально помогая бактериям избегать иммунного клиренса хозяина [56]. Снижение уровня IL-2 ухудшает цитотоксическую активность NK-клеток и снижает их способность лизировать и элиминировать МБТ-инфицированные клетки [54].

Так, IL-2, будучи плейотропным цитокином, вырабатывается активированными Т-лимфоцитами, играет решающую роль в иммунном ответе, необхо-

дим для активации, роста и дифференцировки нескольких семейств иммунных клеток, включая Т-, В-лимфоциты и NK-клетки. IL-2 не только контролирует процесс интратимусной дифференцировки регуляторных Т-клеток, но и направляет их дифференцировку с различными фенотипами, формируя антигенную специфичность регуляторных Т-клеток в тимусе [55]. IL-2 – также эффективный маркер для дифференциации латентной и активной туберкулезной инфекции [57]. Потенциал IL-2/IL-2R может использоваться в качестве перспективных диагностических и прогностических биомаркеров прогноза заболевания, а также терапевтических мишеней [27, 58].

Используемый в клинической практике rIL-2 обладает той же биологической активностью, что и нативная молекула [59]. Ранее показано, что на мышинных моделях инфекций *M. lepraemurium*, *M. avium* и *M. bovis bacillus* Кальметта–Герена IL-2 ограничивает репликацию микобактерий, с участием активированных макрофагов через IFN-опосредованные пути или с помощью цитотоксических Т-лимфоцитов, распознающих антигены микобактерий [60]. Эти наблюдения легли в основу исследований rIL-2 в качестве дополнительной иммунотерапии против микобактериальных заболеваний у человека.

На необходимость включения иммуотропных препаратов в комплексное лечение больных деструктивным ТБЛ указывают как недостаточная эффективность противотуберкулезной ХТ, так и ее негативное влияние на иммунореактивность больного. Иммуодестабилизирующее действие противотуберкулезной ХТ характеризуется угнетением пролиферативной реакции лимфоидных клеток крови, развитием и усугублением вторичного иммунодефицита по Т-клеточному типу, активацией гуморального иммунитета, аутоиммунных и аллергических реакций [16].

Проведенный систематический анализ рандомизированных контролируемых исследований с участием ВИЧ-серонегативных пациентов с деструктивным ТБЛ показал, что иммунокоррекция rIL-2 способствует восстановлению клеточного звена иммунитета и выступает необходимым условием для достижения положительного клинического эффекта.

Дополнительная иммунотерапия rIL-2 вместе с ХТ может улучшить результаты лечения МЛУ-ТБ [29, 31, 34, 42–44]. Аджьювантная терапия rIL-2 при деструктивном ТБЛ способствует коррекции вторичного иммунодефицита, улучшает результаты стационарного лечения и оказывает существенное влияние на его отдаленные результаты [49]. На основании результатов проведенных исследований установлено, что rIL-2 эффективно улучшает лечение ТБЛ за счет восстановления дисбаланса активации CD4-Т-клеток и благоприятной модуляции ответа пути Th1/Th17

in vivo. В дальнейших исследованиях должны быть подтверждены более убедительные доказательства в пользу новой целевой иммунотерапии с оптимальной дозой иммунотерапии rIL-2, а также продолжительностью лечения.

Заключение

Патогенетическая структура иммунных дисфункций, наблюдаемая при различных формах деструктивного ТБЛ, указывает на существенную роль IL-2 в патогенезе заболевания и определяет патогенетическую обоснованность его применения в сочетании с противотуберкулезной ХТ. Коррекция вторичной иммунной недостаточности препаратами rIL-2 является одной из перспективных стратегий вмешательств при ТБЛ.

Результаты систематического анализа свидетельствуют о том, что применение адыювантной иммунотерапии rIL-2 эффективно и безопасно для пациентов с ТБЛ, особенно с МЛУ-ТБ и рецидивирующим ТБ.

Иммунотерапия rIL-2 хорошо переносится большинством пациентов, не вызывая серьезных побочных эффектов, за исключением повышенного риска незначительной лихорадки. Следует предполагать дозозависимый эффект препарата и возможность сохранения последствий по окончании курса терапии, но это требует дальнейшего изучения в рандомизированных контролируемых исследованиях.

Необходимы дальнейшие крупномасштабные рандомизированные контролируемые исследования для определения потенциального влияния дополнительного назначения иммунотерапии rIL-2 к стандартной противотуберкулезной терапии при ТБЛ на риск рецидива заболевания и летальности у данной категории больных, а также на долгосрочную безопасность. Целесообразно проведение дальнейших исследований для определения оптимальных схем дополнительного лечения rIL-2 у пациентов как с легочными формами ТБ, так и с внелегочным ТБ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Слогоцкая Л.В., Ловачева О.В., Клевно Н.И. Стадии туберкулезной инфекции, что нового? Туберкулез и болезни легких 2025;103(2):93–101.
DOI: 10.58838/2075-1230-2025-103-2-93-101
Slogotskaya L.V., Lovacheva O.V., Klevno N.I. Stages of tuberculosis infection, What's new? Tuberkulyoz y bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases 2025;103(2):93–101. (In Russ.).
DOI: 10.58838/2075-1230-2025-103-2-93-101
2. Васильева И.А., Самойлова А.Г., Зими́на В.Н. и др. Химиотерапия туберкулеза в России – история продолжается. Туберкулез и болезни легких 2023;101(2):8–12.
DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-2-8-12
Vasilyeva I.A., Samoylova A.G., Zimina V.N. et al. Chemotherapy for tuberculosis in Russia – the story continues. Tuberkulyoz y bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases 2023;101(2):8–12 (In Russ.).
DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-2-8-12
3. Елисеев П.И., Байракова А.Л., Ганджала́н Т.А. и др. Мониторинг мутаций, ассоциированных с устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам. Туберкулез и болезни легких 2025;103(1):45–53.
DOI: 10.58838/2075-1230-2025-103-1-45-53
Eliseev P.I., Bayrakova A.L., Gandzhalyan T.A., Zorina V.V. et al. Monitoring of mutations associated with drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberkulyoz y bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases 2025;103(1):45–53. (In Russ.).
DOI: 10.58838/2075-1230-2025-103-1-45-53
4. Кукурика А.В., Веселова Е.И., Перегудова А.Б. Генетические аспекты лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза к новым препаратам с противотуберкулезной активностью. Туберкулез и болезни легких 2023;101(4):87–93.
DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-4-87-93
Kukurika A.V., Veselova E.I., Peregudova A.B. Genetic aspects of *Mycobacterium tuberculosis* resistance to new anti-tuberculosis drugs. Tuberkulyoz y bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases 2023;101(4):87–93. (In Russ.).
DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-4-87-93
5. Иванова Д.А., Юровская Е.И., Галкина К.Ю. Фармакогенетические маркеры в лечении больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Фармакогенетика и фармакогеномика 2025;4:29–35.
DOI: 10.37489/2588-0527-2025-4-29-35
Ivanova D.A., Yurovskaya E.I., Galkina K.Yu. Pharmacogenetic markers in the treatment of patients with multidrug-resistant tuberculosis. Farmakogenetika y farmakogenomika = Pharmacogenetics and Pharmacogenomics 2025;4:29–35. (In Russ.). DOI 10.37489/2588-0527-2025-4-29-35
6. Zhu L., Wang B., Gu J. et al. IFN γ -secreting T cells that highly express IL-2 potently inhibit the growth of intracellular *M. tuberculosis* in macrophages. Front Immunol 2024;15:1469118. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1469118
7. Cohen A., Mathiasen V.D., Schön T., Wejse C. The global prevalence of latent tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Eur Respir J 2019;54(3):1900655.
DOI: 10.1183/13993003.00655-2019
8. Stewart E.L., Counoupas C., Quan D.H. et al. Lung IL-17A-producing CD4⁺ T cells correlate with protection after intrapulmonary vaccination with differentially adjuvanted tuberculosis vaccines. Vaccines (Basel) 2024;12(2):128.
DOI: 10.3390/vaccines12020128
9. Wallis R.S., O'Garra A., Sher A. et al. Host-directed immunotherapy of viral and bacterial infections: past, present and future. Nat Rev Immunol 2023;23:121–33.
DOI: 10.1038/s41577-022-00734-z
10. Sampath P., Natarajan A.P., Moideen K. et al. Differential frequencies of intermediate monocyte subsets among individuals infected with drug-sensitive or drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. Front Immunol 2022;13:892701.
DOI: 10.3389/fimmu.2022.892701

11. Чурина Е.Г., Попова А.В., Уразова О.И. и др. Экспрессия скавенджер-рецепторов CD163, CD204 и CD206 на макрофагах у больных туберкулезом легких. Бюллетень сибирской медицины 2022;21(4):140–9.
Churina E.G., Popova A.V., Urazova O.I. et al. Expression of scavenger receptors CD163, CD204, and CD206 on macrophages in patients with pulmonary tuberculosis. Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine 2022;21(4):140–9. (In Russ.).
12. Шовкун Л.А., Кудлай Д.А., Кампос Е.Д. и др. Особенности терапии больных туберкулезом легких гамма-интерфероном в зависимости от характера тканевой воспалительной реакции. Туберкулез и болезни легких 2023;101(5):51–8.
DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-5-51-58
Shovkun L.A., Kudlai D.A., Campos E.D. et al. Features of therapy of patients with pulmonary tuberculosis with gamma interferon depending on the nature of the tissue inflammatory reaction. Tuberkulyoz y bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases 2023;101(5):51–8. (In Russ.).
DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-5-51-58
13. Кноринг Б.Е., Фрейдлин И.С., Симбирцев А.С. и др. Характер специфического иммунного ответа и продукция цитокинов мононуклеарами крови больных разными формами туберкулеза легких. Медицинская иммунология 2001;3(1):61–9.
Knoring B.E., Freidlin I.S., Simbirtsev A.S. et al. The nature of the specific immune response and cytokine production by blood mononuclears in patients with different forms of pulmonary tuberculosis. Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology 2001;3(1):61–9. (In Russ.).
14. Уразова О.И., Новицкий В.В., Воронкова О.В. и др. Реактивность иммунокомпетентных клеток при туберкулезе легких: молекулярно-генетическое исследование. Вестник Уральской медицинской академической науки 2010;4(32):104–7.
Urazova O.I., Novitsky V.V., Voronkova O.V. et al. Reactivity of immunocompetent cells in pulmonary tuberculosis: a molecular genetic study. Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academic Science 2010;4(32):104–7. (In Russ.).
15. Арчакова Л.И., Елькин А.В., Скворцова Л.А. и др. Ронколейкин в комплексном режиме терапии туберкулеза легких. Биопрепараты 2008;4(32):16–9.
Archakova L.I., Elkin A.V., Skvortsova L.A. et al. Roncoleukin in the complex treatment of pulmonary tuberculosis. Biopreparaty = Biopreparations 2008;4(32):16–9. (In Russ.).
16. Кноринг Б.Е., Елькин А.В., Басек Т.С., Потапенко Е.И. Состояние иммунитета у больных прогрессирующим фиброзно-кавернозным туберкулезом легких. Пермский медицинский журнал 2010;27(6):55–61.
Knoring B.E., Elkin A.V., Basek T.S., Potapenko E.I. The state of immunity in patients with progressive fibro-cavitary pulmonary tuberculosis. Permskiy meditsinskiy zhurnal = Perm Medical Journal 2010;27(6):55–61. (In Russ.).
17. Воронкова О.В., Уразова О.И., Новицкий В.В. и др. Особенности иммунного дисбаланса при различных клинико-патогенетических вариантах остро прогрессирующего туберкулеза легких. Бюллетень сибирской медицины 2010;3(42):50.
DOI: 10.20538/1682-0363-2010-3-42-50
Voronkova O.V., Urazova O.I., Novitski V.V. et al. Features of immune imbalance in various clinical and pathogenetic variants of acute-progressing pulmonary tuberculosis. Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine 2010;3(42):50 (In Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2010-3-42-50
18. Кноринг Б.Е., Давыдова Н.И., Басек Т.Ф. и др. Показатели иммунитета у больных прогрессирующим фиброзно-кавернозным туберкулезом в зависимости от выраженности деструктивных изменений в легких. Медицинская иммунология 2012;14(4-5):329–36.
DOI: 10.15789/1563-0625-2012-4-5-329-336
19. Кноринг Б.Е., Давыдова Н.И., Аветисян А.О., Яблонский П.К. Апоптоз лимфоцитов и иммунный ответ у больных лекарственно-устойчивым фиброзно-кавернозным туберкулезом с различной распространенностью деструктивных изменений в легких. Медицинская иммунология 2019;21(6):1099–114.
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-6-1099-1114
20. Абилбаева А.А., Тарабаева А.С., Охас И.М. и др. Факторы, ассоциированные с развитием рецидива туберкулеза. Туберкулез и болезни легких 2022;100(10):30–6.
DOI: 10.21292/2075-1230-2022-100-10-30-36
21. Алыменко М.А., Валиев Р.Ш., Валиев Н.Р. и др. Ассоциация полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и цитокинов с деструкцией легочной ткани у больных туберкулезом. Туберкулез и болезни легких 2022;100(8):25–30.
DOI: 10.21292/2075-1230-2022-100-8-25-30
22. Лесник Э., Гинда С. Нарушения иммунитета у больных туберкулезом легких с первичной и приобретенной лекарственной устойчивостью микобактерии туберкулеза. Туберкулез и болезни легких 2022;100(10):50–6.
DOI: 10.21292/2075-1230-2022-100-10-50-56
23. An H.R., Bai X.J., Liang J.Q. et al. The relationship between absolute counts of lymphocyte subsets and clinical features in patients with pulmonary tuberculosis. Clin Respir J 2022;16(5):369–79. DOI: 10.1111/crj.13490
24. Кононова Т.Е., Уразова О.И., Серебрякова В.А. и др. Роль IL-23 в развитии Th17-лимфоцитов у пациентов с туберкулезом легких. Туберкулез и болезни легких 2023;101(5):45–50.
DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-5-45-50
25. Wang Y., Sun Q., Zhang Y. et al. Systemic immune dysregulation in severe tuberculosis patients revealed by a single-cell transcriptome atlas. J Infection 2023;86(5):421–38.
DOI: 10.1016/j.jinf.2023.03.020

26. Mi J., Wu X., Liang J. The advances in adjuvant therapy for tuberculosis with immunoregulatory compounds. *Front Microbiol* 2024;15:1380848. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1380848
27. Sampath P., Rajamanickam A., Thiruvengadam K. et al. Cytokine upsurge among drug-resistant tuberculosis endorse the signatures of hyper inflammation and disease severity. *Sci Rep* 2023;13(1):785. DOI: 10.1038/s41598-023-27895-8
28. Johnson B.J., Bekker L.G., Rickman R. et al. rhuIL-2 adjunctive therapy in multidrug resistant tuberculosis: a comparison of two treatment regimens and placebo. *Tuber Lung Dis* 1997;78(3–4): 195–203. DOI: 10.1016/s0962-8479(97)90026-5
29. Li H.B., Zhang C.X., Yu J. et al. Recombinant human interleukin-2 as adjuvant for the retreatment of patients with infiltrative pulmonary tuberculosis. *J Clin Med* 2003;7(5):472–3.
30. Johnson J.L., Sekasanvu E., Okwera A. et al. Randomized trial of adjunctive interleukin-2 in adults with pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168(2):185–91. DOI: 10.1164/rccm.200211-1359OC
31. Liang Q., Li S., Tian L. Clinical trial report on adjuvant treatment of pulmonary tuberculosis with recombinant human interleukin-2. *Chinese Journal of Practical Internal Medicine* 2003;23(5):294–5.
32. Chu N.H., Zhu L.Z., Yie Z.Z. et al. A controlled clinical study on the efficacy of recombinant human interleukin-2 in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2003;26(9):548–51. PMID: 14521759
33. Xu J.Y., Wu B. Adjuvant treatment of pulmonary tuberculosis with recombinant human interleukin-2. *International Medicine and Health Guidance News* 2004;10(14):51–2.
34. Zhang H.M., Wu W.H., Han Z.R. et al. The clinical observation on adjunctive immunotherapy with recombinant human IL-2 in adults with retreatment pulmonary tuberculosis. *Chinese Journal of Antituberculosis* 2005;27(4):219–23.
35. Yu L.F., Zhu J., Xu J. et al. Effect of recombinant human interleukin-2 on retreated pulmonary tuberculosis. *Modern Practical Medicine* 2008;20(7):542–3.
36. Оценка эффективности и безопасности Ронколейкина® в комплексной терапии инфильтративного деструктивного туберкулеза легких. Отчет о результатах многоцентрового проспективного рандомизированного открытого исследования с активным контролем. Санкт-Петербург, 2008. Evaluation of the efficacy and safety of Roncoleukin® in the complex therapy of infiltrative destructive pulmonary tuberculosis. Report on the results of a multicenter prospective randomized open-label study with active control. St. Petersburg, 2008. (In Russ.).
37. Лысов А.В., Редькин Ю.В., Казаков А.В. и др. Эффективность эндолимфатического введения Ронколейкина с комплексом противотуберкулезных препаратов при лечении больных прогрессирующим туберкулезом легких. *Terra Medica* 2009;4–5:13–6. Lysov A.V., Redkin Yu.V., Kazakov A.V. et al. Efficiency of endolymphatic administration of Roncoleukin with a complex of anti-tuberculosis drugs in the treatment of patients with progressive pulmonary tuberculosis. *Terra Medica* 2009; 4–5:13–16. (In Russ.).
38. Song S.B. Efficacy of recombinant human interleukin-2 (125ala) in adjuvant treatment of smear positive pulmonary tuberculosis complicated with diabetes. *Clinical Pulmonary Medicine* 2011;16(11):1798–9.
39. Xue X., Qiu Y. The clinical observation on adjunctive immunotherapy with recombinant human IL-2 in adults with treatment pulmonary tuberculosis. *Clinical Pulmonary Medicine* 2012;17(2):279–81.
40. Tang T.B., Wang J.P., Wu D., Gao Y.G. Effect of recombinant human interleukin-2 injection on pulmonary tuberculosis complicated with type 2 diabetes. *Chinese Pharmaceutical* 2013;16(11):1717–9.
41. Cui D.G., Zhu W.J. Efficacy and safety of recombinant human interleukin-2 in the adjuvant treatment of relapsing infiltrative pulmonary tuberculosis. *Life Sci J* 2014;11(7):543–7.
42. Shen H., Min R., Tan Q. et al. The beneficial effects of adjunctive recombinant human interleukin-2 for multidrug resistant tuberculosis. *Arch Med Sci* 2015;11(3):584–90. DOI: 10.5114/aoms.2015.52362
43. Liang R.X. Clinical analysis of adjuvant therapy with recombinant human interleukin-2 in the treatment of retreatment pulmonary tuberculosis. *Int Med Health Guidance News* 2015;21(16):2417–9.
44. Tan Q., Min R., Dai G.Q. et al. Clinical and immunological effects of rhIL-2 therapy in eastern Chinese patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Sci Rep* 2017;7(1):17854. DOI: 10.1038/s41598-017-18200-5
45. Chen H.Y., Xu D.J., Peng W.Y. et al. Clinical effect of recombinant human interleukin-2 immunization for injection in adjuvant therapy for pulmonary tuberculosis. *Chinese Medicine Pharmacy* 2019;9(5):156–9.
46. Nie W., Wang J., Zeng J. et al. Adjunctive interleukin-2 for the treatment of drug-susceptible tuberculosis: a randomized control trial in China. *Infection* 2022;50(2):413–21. DOI:10.1007/s15010-021-01698-3
47. Yan P. Effect of recombinant human interleukin-2 for injection combined with 2HREZ/4HRE regimen in the treatment of primary smear positive pulmonary tuberculosis patients. *Chinese Foreign Medicine Research* 2022;20(2):120–3.
48. Sheng L., Li X., Weng F. et al. Efficacy and safety of adjunctive recombinant human interleukin-2 for patients with pulmonary tuberculosis: a meta-analysis. *J Trop Med* 2022;23:5071816. DOI: 10.1155/2022/5071816
49. Кроткова Е.Н., Гельберг И.С. Оценка клинической эффективности Ронколейкина® у больных распространенными формами туберкулеза легких по данным отдаленных результатов. Журнал Гродненского государственного медицинского университета 2004;4(8):45–8. Krotkova E.N., Gelberg I.S. Evaluation of the clinical efficacy of Roncoleukin® in patients with widespread forms of pulmonary tuberculosis based on long-term results. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* = Journal of Grodno State Medical University 2004;4(8):45–8. (In Russ.).
50. Elmadbouly A.A., Abdul-Mohymen A.M., Eltrawy H.H. et al. The association of IL-17A rs2275913 single nucleotide polymorphism with anti-tuberculous drug resistance in patients with pulmonary tuberculosis. *J Genet Eng Biotechnol* 2023;21(1):90. DOI: 10.1186/s43141-023-00542-5
51. Kayongo A., Nyiro B., Siddharthan T. et al. Mechanisms of lung damage in tuberculosis: implications for chronic obstructive pulmonary disease. *Front Cell Infect Microbiol* 2023;13:1146571. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1146571
52. DiNardo A.R., Gandhi T., Heyckendorf J. et al. Gene expression signatures identify biologically and clinically distinct tuberculosis endotypes. *Eur Respir J* 2022;60(3):2102263. DOI: 10.1183/13993003.02263-2021
53. Pol J.G., Caudana P., Paillet J. et al. Effects of interleukin-2 in immunostimulation and immunosuppression. *J Exp Med* 2020;217(1): e20191247. DOI: 10.1084/jem.20191247.e20191247
54. Xue Y., Wu X.Q. Interpretation of the immune function assessment section in the Expert Consensus on Immune Function Assessment and Immunotherapy for Active Tuberculosis Patients (2021 Edition). *Chinese Journal of Antituberculosis* 2023;45(2):134–8. DOI:10.19982/j.issn.1000-6621.20220421.10.19982/j.issn.1000-6621.202204
55. Apert C., Galindo-Albarrán A.O., Castan S. et al. IL-2 and IL-15 drive intrathymic development of distinct periphery-seeding CD4⁺Foxp3⁺ regulatory T lymphocytes. *Front Immunol* 2022;13:965303. DOI: 10.3389/fimmu.2022.965303
56. Jeger-Madiot R., Vaineau R., Heredia M. et al. Naive and memory CD4⁺ T cell subsets can contribute

Иммунобиологические свойства смеси антигенов экспериментальных протективных белоксодержащих фракций, выделенных разными методами из штамма *Streptococcus oralis*

О.М. Афанасьева, И.М. Грубер, Д.С. Воробьев, Л.Н. Нестеренко, Г.И. Алаторцева,
Н.Е. Ястребова, О.В. Жигунова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»; Россия, 105064 Москва,
Малый Казенный пер., 5А

Контакты: Ольга Максимовна Афанасьева kukina1994@mail.ru

Введение. Ранее определены основные факторы патогенности близкородственных штаммов стрептококков группы *Mitis* разной вирулентности, к которым относятся *Streptococcus pneumoniae* и *S. oralis*. Были установлены различия в белковом составе выделенных из них с использованием фильтров Amicon®Ultra (Millipore, Ирландия) белоксодержащих фракций (БСФ) с молекулярной массой 30–100 кДа. Представляло интерес получение БСФ методом гель-фильтрации (БСФ-К) и определение возможности ее использования при разработке противопневмококкового препарата.

Цель исследования – сравнение иммунобиологических свойств белоксодержащих фракций из штамма *S. oralis*, выделяемых разными методами, и изучение протективной активности смеси антигенов стрептококков группы *Mitis*.

Материалы и методы. БСФ-К получали методом эксклюзионной хроматографии на колонке с Toyopearl HW-55. Поверхностные белоксодержащие антигены *S. oralis* оценивали по содержанию белка методом Лоури и электрофоретической характеристике – методом Лэммли. Протективную активность изучали в опытах активной защиты мышей линии BALB/c при 2-кратном внутрибрюшинном введении 3 препаратов: БСФ и БСФ-К (по 50 мкг белка/мышь) и смеси БСФ-К + рекомбинантный атоксичный пневмолизин (raPly) (по 25 мкг белка/мышь). Иммунизированных мышей интраназально заражали вирулентным штаммом *S. pneumoniae* серотипа 3 № 10196. В гипериммунных сыворотках мышей определяли уровень специфических иммуноглобулиновых антител класса G (IgG) с помощью твердофазного иммуноферментного анализа. Статистическую обработку результатов проводили с применением параметрических и непараметрических методов сравнения.

Результаты. При сравнительном анализе серий БСФ-К и БСФ установлена их протективная активность в отношении вирулентного штамма *S. pneumoniae*; оба препарата индуцировали выработку специфических IgG-антител, не различались по выходу белка и были нетоксичны. Установлена протективная активность смеси БСФ-К + raPly.

Заключение. Показана целесообразность использования поверхностного белоксодержащего антигена *S. oralis*, полученного с помощью эксклюзионной хроматографии, в том числе в составе двухкомпонентного экспериментального препарата в смеси с несорбированным на гидроксиде алюминия raPly.

Ключевые слова: эксклюзионная хроматография, белоксодержащие антигены, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus oralis*

Для цитирования: Афанасьева О.М., Грубер И.М., Воробьев Д.С. и др. Иммунобиологические свойства смеси антигенов экспериментальных протективных белоксодержащих фракций, выделенных разными методами из штамма *Streptococcus oralis*. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(2):72–80.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-72-80>

Immunobiological properties of a mixture of antigens from experimental protective protein-containing fractions isolated by different methods from the *Streptococcus oralis* strain

Olga M. Afanasyeva, Irina M. Gruber, Denis S. Vorobyev, Lyubov N. Nesterenko, Galina I. Alatorseva,
Natalia E. Yastrebova, Olga V. Zhigunova

I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums; 5A Maly Kazenny Lane, Moscow 105064, Russia

Contacts: Olga Maksimovna Afanasyeva kukina1994@mail.ru

Background. Previously, the main pathogenicity factors of closely related strains of *Mitis* group streptococci of different virulence, including *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus oralis*, were determined. Differences in the protein composition of protein-containing fractions (PCF) with a molecular weight of 30–100 kDa isolated from them using Amicon®Ultra filters (Millipore, Ireland) were established. It was of interest to obtain PCF by gel filtration (PCF-C) and the determination of the possibility of its use in the development of an antipneumococcal drug.

Aim. Comparison of the immunobiological properties of PCF from the *S. oralis* strain isolated by different methods and a study of the protective activity of a mixture of antigens of the *Mitis* group of streptococci.

Materials and methods. PCF-C was prepared by exclusion chromatography on a Toyopearl HW-55 column. Surface protein-containing antigens of *S. oralis* were assessed by protein content using the Lowry method and electrophoretic characteristics using the Laemmli method. The protective activity was studied in experiments on active protection of BALB/c mice with two intraperitoneal injections (with an interval of 14 days) of three preparations: PCF and PCF-C (50 µg protein/mouse) and a mixture of PCF-C + recombinant atoxic pneumolysin (raPly) (25 µg protein/mouse). Immunized mice were intranasally infected with a virulent strain of *S. pneumoniae* serotype 3 No. 10196. The level of specific immunoglobulin G (IgG) antibodies was determined in the hyperimmune sera of mice using solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. Statistical processing of the results was performed using parametric and nonparametric comparison methods.

Results. A comparative analysis of the PCF-C and PCF series established their protective activity against the virulent strain of *S. pneumoniae*; both preparations induced the production of specific IgG antibodies, did not differ in protein yield and were non-toxic. The protective activity of the PCF-C + raPly mixture was established.

Conclusion. The feasibility of using a surface protein-containing antigen of *S. oralis* obtained using size-exclusion chromatography, including as part of a two-component experimental preparation in a mixture with raPly not sorbed on aluminum hydroxide, is demonstrated.

Keywords: exclusion chromatography, protein-containing antigens, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus oralis*

For citation: Afanasyeva O.M., Gruber I.M., Vorobyev D.S. et al. Immunobiological properties of a mixture of antigens from experimental protective protein-containing fractions isolated by different methods from the *Streptococcus oralis* strain. Rossijskij bioterapevticeskij žurnal = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(2):72–80. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-72-80>

Введение

В последние годы разработка инновационных серотипнезависимых пневмококковых вакцин направлена в основном на создание мультиантигенных препаратов, содержащих многочисленные протективные белковые антигены *Streptococcus pneumoniae* (детоксицированную форму пневмолизина – dPly, пневмококковый поверхностный белок А – PspA, белок гистициновой триады – PhtD) [1–5]. По мнению исследователей, такие вакцины могут обеспечить серотипнезависимую защиту от *S. pneumoniae* за счет компонентов, стимулирующих как мукозальный, так и системный иммунитет.

Нами ранее определены основные факторы патогенности близкородственных штаммов стрептококков группы *Mitis* разной вирулентности, к которым относятся *S. pneumoniae* и *S. oralis*. Были установлены как общие, так и уникальные белки в составе белоксодержащих фракций (БСФ) с молекулярной массой 30–100 кДа, выделенные из них с применением фильтров Amicon®Ultra (Millipore,

Ирландия) [6, 7]. Так, в обеих фракциях присутствовали поверхностные белки *S. pneumoniae*, относящиеся к семействам якорных белков с LPxTG-мотивом, холинсвязывающих белков, неклассических поверхностных белков и липопотеинов; при этом в БСФ слабовирулентного штамма *S. oralis*¹ преобладали белки адгезии и систем метаболизма – сериновая протеаза BgaA, экзо-β-галактозидаза PrtA, а также АВС-транспортеры (АТФ synthase binding cassette transporters), имеющие патогенетическое значение, – мальтодекстрина – MalX, марганца – PsaA, цинка – AdcA, железа – PiuA, аминокислот – LivJ, олигопептидов – AliB, а в БСФ вирулентного штамма *S. pneumoniae* более выражены основные факторы патогенности пневмококка (Ply, аутолизин – LytA, цинк-металлопротеаза – ZmpB) [7]. В результате исследований установлено, что БСФ из *S. oralis* активировала эффекторы врожденного и адаптивного иммунитета и способствовала защите мышей от заражения вирулентными штаммами пневмококка серотипов 3 и 6В в отличие от БСФ из *S. pneumoniae* 6В,

¹Штамм, ранее дифференцированный как *S. pneumoniae* 6В, в 2022 г. идентифицирован как *S. oralis* [7].

активной только в отношении высоковирулентного штамма гомологичного серотипа [7, 8]. Необходимость разработки серотипнезависимого препарата диктует целесообразность определения возможности использования изученной БСФ *S. oralis* в составе комплексного двухкомпонентного экспериментального антигена — смеси с рекомбинантным атотоксичным пневмолизинном (гаРly) [9] без его сорбции на гидроксиде алюминия.

Поскольку применение фильтров Amicon®Ultra допустимо только в исследовательских целях, для выделения БСФ в препаративном количестве использовали общепринятый метод эксклюзионной хроматографии, что требует подтверждения сохранности иммунобиологических свойств антигена.

Цель исследования — сравнение иммунобиологических свойств белоксодержащих фракций из штамма *S. oralis*, выделенных разными методами, и изучение протективной активности смеси антигенов стрептококков группы *Mitis*.

Материалы и методы

Водный экстракт (ВЭ) и БСФ из штамма *S. oralis*, а также гаРly мы получали, как описано ранее в работах [7, 9].

Для эксклюзионной хроматографии использовали колонку Тоуорpearl HW-55 (Тоуо Soda Corp., Япония). При последующей фильтрации через нитроцеллюлозную мембрану Millex-HV 0,45 µm (Merck, Германия) получали экспериментальный антиген — белоксодержащую фракцию, выделенную с колонки (БСФ-К). Содержание белка в получаемых препаратах определяли по методу Лоури [10].

Предварительную оценку белкового состава получаемых препаратов проводили методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле додецилсульфата натрия (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) по Лэммли в 10 % полиакриламидном геле при силе тока 15 мА [11].

Иммунобиологическую активность выделенных белоксодержащих препаратов изучали, определяя их протективную активность (в опытах активной защиты мышей) и выработку к ним специфических иммуноглобулиновых антител класса G (IgG) с помощью твердофазного иммуоферментного анализа. В экспериментах использовали мышей линии BALB/c массой 12–14 г, полученных из питомника — филиала «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Двукратную иммунизацию с интервалом 14 сут проводили путем внутрибрюшинного введения 3 препаратов: БСФ и БСФ-К (по 50 мкг

белка/мышь) и смеси БСФ-К + гаРly (по 25 мкг белка/мышь), которые вводили в объеме 0,5 мл/мышь (в изотоническом растворе натрия хлорида). Через 14 дней после иммунизации мышей заражали интраназально введением под эфирным наркозом 4 доз (в объеме 20 мкл) взвеси вирулентного штамма *S. pneumoniae* серотипа 3 № 10196. Полуетальную дозу и индекс эффективности (ИЭ) определяли, как описано ранее [7].

Животных содержали в условиях вивария Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова (далее — НИИВС им. И.И. Мечникова) в соответствии с ГОСТ 33216–2014 («Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами»²). Исследования одобрены локальным этическим комитетом НИИВС им. И.И. Мечникова (протокол № 3 от 26.04.2024).

В гипериммунных сыворотках мышей, полученных при 5-кратном внутрибрюшинном введении препаратов, оценивали уровень специфических IgG-антител. В качестве конъюгата использовали меченные пероксидазой хрена антитела козы к мыши Р-GAM Iss («Имтек», Россия). Результаты выражали в условных единицах (J), рассчитанных по формуле

$$J = \text{ОП}_{\text{анал}} : (\text{ОП}_{\text{к-}} + 0,25) \times 100,$$

где ОП_{анал} — оптическая плотность анализируемой сыворотки; ОП_{к-} — оптическая плотность отрицательной контрольной сыворотки [12].

Статистическую обработку результатов проводили с применением параметрических и непараметрических методов сравнения с использованием пакета статистических программ BioStat D (AnalystSoft, США), прикладных программ Statistica for Windows версии 10.0 (Stat Soft, Inc., США). Достоверность различий между средними показателями рассматривали как значимую при $p < 0,05$.

Результаты

Эксклюзионная хроматография (гель-фильтрация) — один из наиболее распространенных методов, основанных на разделении молекул в соответствии с их размером, часто используемый для разделения и очистки белков. Данным методом было получено 6 серий БСФ-К, белковый состав которых исследовали с помощью электрофореза.

В I серии, которую использовали для предварительной оценки условий выделения белков, на хроматограмме отмечено 2 пика. На 1-й пик приходилось

²URL: https://www.academpharm.ru/images/upload/ru/1241/zamenyayuschij_GOST_33216-2014.pdf.

небольшое количество белка с молекулярной массой примерно 75 кДа. Фракции 2-го пика содержали основную часть белков с молекулярной массой приблизительно 50, 43, 37, 34, 25 кДа. Анализ результатов электрофореза ВЭ и выделенных из них II–VI серий БСФ-К показал доминирующее присутствие белка с молекулярной массой примерно 40 кДа во 2-м пике (рис. 1). Для последующих исследований иммунобиологических свойств 5 серий БСФ-К использованы фракции только 2 пиков.

Для сравнительного анализа БСФ и БСФ-К серии антигенов были приготовлены из 2 исходных ВЭ (№ 29, 30). Установлено, что данные серии не различались по выходу белка (в процентном отношении к содержанию белка в ВЭ) (табл. 1).

В 2 экспериментах (по 5 мышей в каждой группе) показано, что БСФ и БСФ-К не обладали аномальной (острой) токсичностью, изученной в соответствии с Государственной фармакопеей РФ (XV издание, 2025 г.)³ (табл. 2).

Исследование в иммуноферментном анализе гипериммунных сывороток (пул от 5 мышей), полученных при иммунизации БСФ и БСФ-К, показало

увеличение уровня специфических IgG-антител в 3,7 и 4,5 раза соответственно по сравнению с образцами сывороток контрольной группы животных (табл. 3).

В табл. 4 представлены результаты опытов активной защиты с использованием модели интраназального заражения мышей. Установлена высокая протективная активность БСФ-К в 2 опытах (ИЭ = 4,14 в опыте № 1 и ИЭ = 6,3 – в опыте № 2). Показано отсутствие отличий протективной активности препарата БСФ-К по сравнению с БСФ, выделенной с использованием фильтров Amicon®Ultra, а именно: значения ИЭ в опыте № 2 составили соответственно 6,3 и 6,91. Следует отметить также протективную активность двухкомпонентного препарата (ИЭ = 7,6) – смеси БСФ-К и гаРлу в дозе по 25 мкг/мышь, содержащей в 2 раза уменьшенную дозу БСФ-К по сравнению с использованной в монопрепарате, и гаРлу, несорбированного на гидроксиде алюминия.

Обсуждение

При сравнении серий БСФ и БСФ-К, полученных разными методами, установлено отсутствие различий по выходу белка, а при их электрофоретическом разделении показано, что основная часть белков

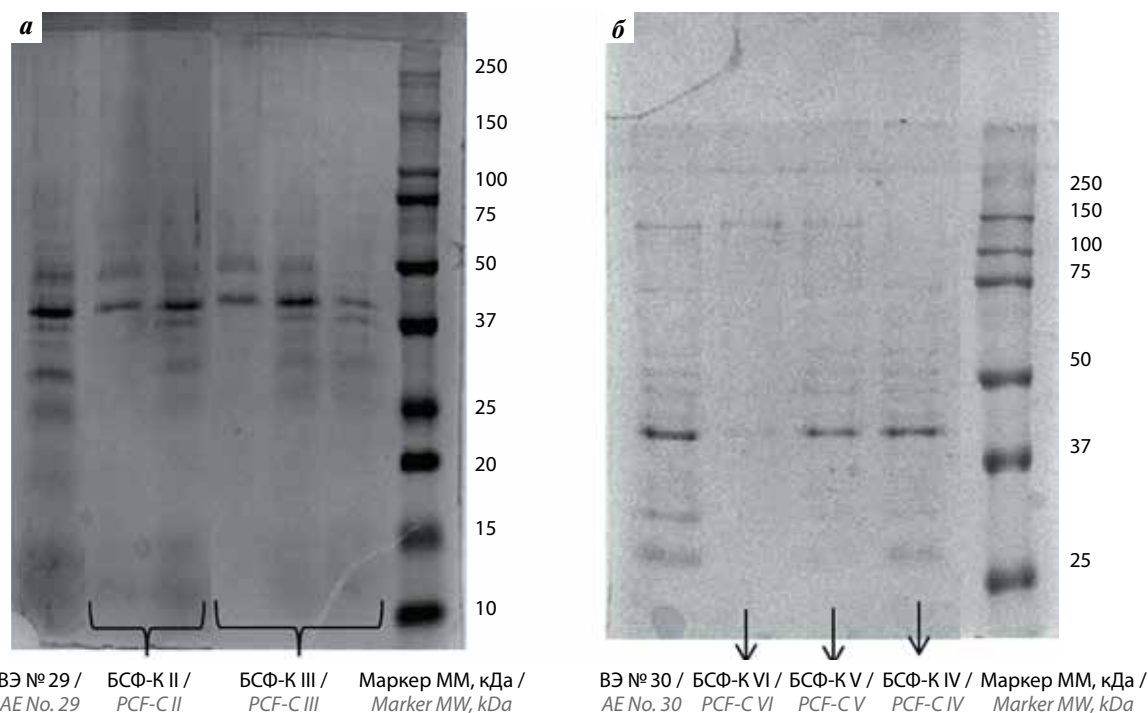


Рис. 1. Электрофорез серий белоксодержащих фракций, полученных методом гель-фильтрации (БСФ-К), II–VI в полиакриламидном геле додецилсульфата натрия: а – исходный образец ВЭ № 29; БСФ-К 2-й пик серий II и III; б – исходный образец ВЭ № 30; БСФ-К 2-й пик серий IV–VI. Маркер ММ – маркер молекулярной массы, кДа; ВЭ – водный экстракт

Fig. 1. Electrophoresis of PCF-C II–VI series in sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel: а – initial sample AE No. 29; PCF-C 2nd peak of series II and III; б – initial sample AE No. 30; PCF-C 2nd peak of series IV–VI. Marker MW – molecular weight marker, kDa; AE – aqueous extract

³URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>.

Таблица 1. Выход белка (%) в БСФ и БСФ-К, серии которых получены из водного экстракта (ВЭ) (№ 29, 30)

Table 1. Protein yield (%) in PCF and PCF-C, series of which were obtained from aqueous extract (AE) (No. 29, 30)

Номер исходного ВЭ Number initial AE	БСФ PCF		БСФ-К PCF-C	
	номер серии number series	выход белка, % protein yield, %	номер серии number series	выход белка, % protein yield, %
29	73	36,19	II	31,66
	74	33,48	III	28,95
	75	25,6	—	—
	76	26,24		
	77	23,48		
30	79	21,49	IV	21,66
	80	36,07	V	25,95
			VI	37,91
M ± SD	—	29,12 ± 6,05	—	29,23 ± 6,11

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: БСФ — белоксодержащие фракции; БСФ-К — белоксодержащие фракции, полученные методом гель-фильтрации; M ± SD — среднее арифметическое значение и его стандартное отклонение.

Note. Here and in Tables 2–4: PCF — protein-containing fractions; PCF-C — protein-containing fractions obtained by gel filtration; M ± SD — is the arithmetic mean and its standard deviation.

Таблица 2. Острая (аномальная) токсичность БСФ-К и БСФ, полученных из Streptococcus oralis

Table 2. Acute (abnormal) toxicity of PCF-C and PCF obtained from Streptococcus oralis

Номер опыта Experience number	Препарат Preparation	Масса мышей, г (M ± SD) Mouse weight, g (M ± SD)								Увеличение массы через 7 сут Weight increase after 7 days	
		до введе- ния before injection	после введения (через 24 ч) after injection (after 24 h)								
			1	2	3	4	5	6	7	г	%
1	БСФ-К PCF-C	16,86 ± 1,41	17,22 ± 1,37	17,38 ± 1,40	17,38 ± 1,54	17,71 ± 1,73	17,76 ± 1,74	17,79 ± 1,63	17,82 ± 1,65	0,96 ± 0,70	5,7
	Контроль (0,9 % NaCl) Control (0.9 % NaCl)	15,88 ± 1,50	16,34 ± 1,13	16,73 ± 1,45	17,27 ± 1,32	17,47 ± 1,33	17,83 ± 1,28	17,99 ± 1,33	17,87 ± 1,39	1,99 ± 0,49	12,5
2	БСФ-К PCF-C	19,00 ± 0,14	19,13 ± 0,21	19,33 ± 0,19	19,45 ± 0,37	19,95 ± 0,64	20,24 ± 0,75	20,34 ± 0,85	20,36 ± 0,91	1,36 ± 0,85	7,16
	БСФ PCF	19,24 ± 0,25	19,44 ± 0,29	19,88 ± 0,19	20,01 ± 0,51	20,65 ± 0,33	20,97 ± 0,51	21,05 ± 0,66	20,97 ± 0,46	1,73 ± 0,61	9,0
	Контроль (0,9 % NaCl) Control (0.9 % NaCl)	19,22 ± 0,52	19,67 ± 0,77	19,73 ± 0,72	19,89 ± 0,63	20,39 ± 0,67	20,59 ± 0,77	20,47 ± 0,92	20,25 ± 0,67	1,03 ± 0,43	5,36

Примечание. В каждой группе использовано по 5 мышей. NaCl — натрия хлорид; M ± SD — среднее арифметическое значение и его стандартное отклонение.

Note. 5 mice were used in each group. NaCl — sodium chloride; M ± SD — is the arithmetic mean and its standard deviation.

Таблица 3. Уровень специфических иммуноглобулиновых антител класса G к БСФ из *Streptococcus oralis* у мышей, иммунизированных БСФ и БСФ-К

Table 3. Levels of specific immunoglobulin G antibodies to PCF from *Streptococcus oralis*, in mice immunized with PCF and PCF-C

Сыворотка (рабочее разведение 1:320) Serum (working dilution 1:320)	ОП OD	J
1. БСФ 1. PCF	0,73	158,7
2. БСФ-К 2. PCF-C	0,89	193,5
3. Контрольная 3. Control	0,21	42,9
4. Референс-сыворотка 4. Reference serum	0,24	49

Примечание. 3 – контрольная сыворотка, полученная от неиммунизированных мышей; 4 – сыворотка интактных мышей, используемая в лаборатории иммунохимической диагностики в качестве референс-контроля; ОП – оптическая плотность при рабочем разведении; J – условные единицы [12].

Note. 3 – control serum obtained from unimmunized mice; 4 – serum of intact mice used in the laboratory of immunochemical diagnostics as a reference control; OD – optical density at working dilution; J – conditional units [12].

характеризуется небольшой молекулярной массой. Учитывая данные литературы и проведенного ранее протеомного анализа БСФ [7], можно предположить в БСФ-К содержание поверхностных белков молекулярной массой 30–45 кДа, отвечающих за ключевые факторы метаболизма, участвующие в патогенезе пневмококковой инфекции, а особенно в колонизации и адгезии. Из таких белков можно отметить липопротеины, относящиеся к АВС-транспортёрам, особенно транспортеры мальтодекстрина (MalX), железа (PiuA) и марганца (PsaA), аминокислот (livJ) и липопроtein SP_0845, а также транспортер цинка (AdcA), соответствующий молекулярной массе 56 кДа; неклассические поверхностные белки – энолаза (Eno), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (Gap), белок теплового шока сериновая протеаза (HtrA). Учитывая в выделенных белоксодержащих антигенах наличие белков, связанных с адгезией и колонизацией, модель интраназального заражения мышей является адекватной для динамического наблюдения за развитием инфекционного процесса в легких, в том числе при изучении протективных свойств антигенов [13].

Представленные результаты изучения иммуногенных свойств, протективной активности и аномальной (острой) токсичности показали, что БСФ и БСФ-К не различались по иммунобиологическим свойствам, что предполагает дальнейшее использование эксклюзионной хроматографии для получения

поверхностного белоксодержащего антигена с молекулярной массой 30–100 кДа в препаративном количестве.

Принимая во внимание, что для защиты при естественной инфекции имеет значение не только гуморальный, но и клеточный иммунный ответ, а также отмечая возможные адъювантные свойства БСФ-К, констатируем, что дальнейшие исследования в направлении разработки противопневмококковой двухкомпонентной смеси поверхностного белоксодержащего антигена *S. oralis* и гаРly перспективны. Об этом также свидетельствуют ранее полученные данные о влиянии БСФ на врожденный и адаптивный иммунитет, в частности повышение количества клеток с маркерами терминальной дифференцировки дендритных клеток (cluster of differentiation – CD) CD83 и МНСII (главного комплекса гистосовместимости класса II – major histocompatibility complex class II) и, соответственно, увеличение количества клеток с маркером Т-хелперов (CD45⁺/CD4⁺), цитотоксических лимфоцитов (CD8a⁺/CD3) и В-лимфоцитов (CD45⁺/CD19⁺/CD5⁺) [8, 14]. При исследовании гаРly, сорбированного на геле гидроксида алюминия, были установлены его протективная активность при интраназальном способе заражения, а также значимое увеличение титра IgG-антител к пневмолизину после 2- и 3-кратной иммунизаций [15]. Следует отметить, что рекомбинантные белковые антигены слабо иммуногенны и требуют использования носителей и адъювантов. В нашем исследовании показана протективная активность двухкомпонентной смеси, содержащей уменьшенную в 2 раза дозу БСФ-К и несорбированный на гидроксиде алюминия гаРly, что говорит в пользу адъювантных свойств белоксодержащей фракции и требует дальнейших исследований.

Перспективными представляются также исследования по созданию трехкомпонентной смеси с включением в состав кандидатных вакцин капсульных полисахаридов наиболее актуальных серотипов *S. pneumoniae*.

Заключение

Полученные в настоящем исследовании результаты показали целесообразность использования поверхностного белоксодержащего антигена *S. oralis*, полученного с помощью эксклюзионной хроматографии, в том числе в составе двухкомпонентного экспериментального препарата в смеси с несорбированным на геле гидроксида алюминия гаРly.

Представляется обоснованным дальнейшее изучение белкового состава и адъювантных свойств белоксодержащего антигена (БСФ-К), в том числе в составе комплексного препарата с другими рекомбинантными белками и капсульными полисахаридами актуальных серотипов *S. pneumoniae*.

Таблица 4. Протективная активность БСФ, БСФ-К, полученных из *Streptococcus oralis*, и смеси БСФ-К + гаРу при интраназальном заражении мышей штаммом *S. pneumoniae* серотипа 3 №10196
Table 4. Protective activity of PCF, PCF-C obtained from *Streptococcus oralis*, and PCF-C + гаРу mixture in intranasal infection of mice with *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 strain No. 10196

Номер опыта Experience number	Препарат Preparation	Заражающая доза, м.к. (в 20 мкл) Infectious dose, m.c. (in 20 µl)	Пибель мышей, сут Death of mice, per day								Пало/ заражено Fallen/ infected	Полулетальная доза Lethal dose 50 % δ t _p	Индекс эффективности Index of effectiveness
			2	3	4	5	6	7	8	9—10			
1	БСФ-К PCF-C	2 × 10 ⁷		3		1					4/10	5,26 × 106* δ = 0,167 t _p = 2,49	4, 14
		4 × 10 ⁶	1			2	1				4/10		
		8 × 10 ⁵					1				1/10		
	Контроль Control	2 × 10 ⁷	1	2	2	1	1				7/10	1,27 × 106 δ = 0,185	...
		4 × 10 ⁶			2	2		2			6/10		
		8 × 10 ⁵			1	1	1		1	1	5/10		
2	БСФ PCF	2 × 10 ⁷	2	1			1	1	1	1	6/10	4,7 × 106** δ = 0,185 t _p = 3,1	6,91
		4 × 10 ⁶			1		1	1			3/10		
		8 × 10 ⁵							5		5/10		
	БСФ-К PCF-C	1,6 × 10 ⁵									0/10	4,27 × 106** δ = 0,196 t _p = 2,86	6, 3
		2 × 10 ⁷			2	2	1	1			6/8		
		4 × 10 ⁶					1	1			2/10		
2	БСФ-К + гаРly PCF-C + гаРly	8 × 10 ⁵		2	1	1					4/10	5,17 × 106** δ = 0,182 t _p = 3,38	7, 6
		1,6 × 10 ⁵			1						1/9		
		2 × 10 ⁷	1				1	2			4/9		
	Контроль Control	4 × 10 ⁶			2	2	1	1	1		7/10	0,68 × 106** δ = 0,196	...
		8 × 10 ⁵							1		1/10		
		1,6 × 10 ⁵				1					1/10		
	Контроль Control	2 × 10 ⁷		2	1		2	1	1	1	8/10		
		4 × 10 ⁶			1	2	1	1	1		6/10		
		8 × 10 ⁵					1	1	1	2	5/10		
		1,6 × 10 ⁵		1			1	1	4		7/10		

Примечание. гаРу (recombinant atoxic pneumolysin) — рекомбинантный атоксичный пневмолизин; м. к. — микробные клетки; иммунизирующая доза по белку для моно-препаратов — 50 мкг/мышь, в смеси — по 25 мкг/мышь. Достоверность различий между опытом и контролем по критерию Стьюдента t, *p < 0,05; **p < 0,01.

Note. гаРу — recombinant atoxic pneumolysin; m. c. — microbial cells; immunizing dose by protein for monopreparations — 50 µg/mouse, in mixture — 25 µg/mouse. Reliability of differences between experiment and control by Student's t, *p < 0.05; **p < 0.01.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Chan W.Y., Entwisle C., Ercoli G. et al. Corrected and republished from: "A novel, multiple-antigen pneumococcal vaccine protects against lethal *Streptococcus pneumoniae* challenge". *Infect Immun* 2022;90:e00846–18a. DOI: 10.1128/IAI.00846-18a
- Morais V., Teixeira E., Suarez N. Next-generation whole-cell pneumococcal vaccine. *Vaccines (Basel)* 2019;7(4):151. DOI: 10.3390/vaccines7040151
- Keech C.A., Morrison R., Anderson P. et al. A phase 1 randomized, placebo-controlled, observer-blinded trial to evaluate the safety and immunogenicity of inactivated *Streptococcus pneumoniae* whole-cell vaccine in adults. *Pediatr Infect Dis J* 2020;39(4):345–51. DOI: 10.1097/INF.0000000000002567
- Masomian M., Ahmad Z., Gew L.T., Poh C.L. Development of next generation *Streptococcus pneumoniae* vaccines conferring broad protection. *Vaccines (Basel)* 2020;8(1):132. DOI: 10.3390/vaccines8010132
- Aceil J., Avci F.Y. Pneumococcal surface proteins as virulence factors, immunogens, and conserved vaccine targets. *Front Cell Infect Microbiol* 2022;12:832254. DOI: 10.3389/fcimb.2022.832254
- Афанасьева О.М., Грубер И.М., Бржозовская Е.А., Асташкина Е.А. Факторы патогенности близкородственных стрептококков группы *Mitis* разной вирулентности. В кн.: Молекулярная диагностика – 2023: сборник трудов XI Международной научно-практической конференции. М.: АО «САЙЕНС МЕДИА ПРОДЖЕКТС», 2023. С. 305–6. Afanasyeva O.M., Gruber I.M., Brzhozovskaja E.A., Astashkina E.A. Pathogenicity factors of closely related streptococci of the *Mitis* group with different virulence. V kn.: Molekuliarnaia diagnostika – 2023: sbornik trudov XI Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii. Moscow: AO "SAIENS MEDIA PRODZHEKTS", 2023. S. 305–6. (In Russ.).
- Афанасьева О.М., Грубер И.М., Воробьев Д.С. и др. Сравнительный анализ факторов патогенности близкородственных стрептококков группы *Mitis* и выделенных из них поверхностных белоксодержащих антигенов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2025;24(2):24–32. DOI: 10.31631/2073-3046-2025-24-2-24-32 Afanasyeva O.M., Gruber I.M., Vorobyev D.S. et al. Comparative analysis of pathogenicity factors of closely related *Mitis* group streptococci and surface protein-containing antigens isolated from them. *Epidemiologiya y vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2025;24(2):24–32. (In Russ.). DOI: 10.31631/2073-3046-2025-24-2-24-32
- Ахматова Н.К., Грубер И.М., Кукина О.М. и др. Влияние экспериментальных белоксодержащих пневмококковых препаратов на созревание дендритных клеток у мышей. *Инфекция и иммунитет* 2021;11(1):85–92. DOI: 10.15789/2220-7619-TEO-1218 Akhmatova N.K., Gruber I.M., Kukina O.M. et al. Effects of experimental protein-containing pneumococcal preparations on maturation of murine dendritic cells. *Infektsiya y immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity* 2021;11(1):85–92. (In Russ.). DOI: 10.15789/2220-7619-TEO-1218
- Воробьев Д.С., Сидоров А.В., Калошин А.А. и др. Получение рекомбинантной формы белка пневмолизина *Streptococcus pneumoniae*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2022;174(12):723–7. DOI: 10.47056/0365-9615-2022-174-12-723-727 Vorobyev D.S., Sidorov A.V., Kaloshin A.A. et al. Preparation a recombinant form of pneumolysin protein from *Streptococcus pneumoniae*. *Bulleten experimentalnoy biologii y meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2022;174(12):723–7. (In Russ.). DOI: 10.47056/0365-9615-2022-174-12-723-727
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193(1):265–75. PMID: 14907713
- Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970;227(5259):680–5. DOI: 10.1038/227680a0
- Ванеева Н.П., Ястребова Н.Е. Специфический иммунный ответ к отдельным капсульным полисахаридам *Streptococcus pneumoniae* у здоровых доноров крови и лиц, иммунизированных пневмококковыми вакцинами. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии* 2015;92(5):20–6. Vaneeva N.P., Yastrebova N.E. Specific immune response to certain capsule polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae* in healthy blood donors and individuals immunized with pneumococcal vaccines. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii y immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology* 2015;92(5):20–6. (In Russ.).
- Hoover J.L., Lewandowski T.F., Mininger C.L. et al. A robust pneumonia model in immunocompetent rodents to evaluate antibacterial efficacy against *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* or *A. baumannii*. *J Vis Exp* 2017;119:e55068. DOI: 10.3791/55068
- Кукина О.М., Грубер И.М., Ахматова Н.К. и др. Исследование иммунобиологических свойств поверхностных белоксодержащих антигенов *Streptococcus pneumoniae* серотипа 6B. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика* 2020;19(3):21–7. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-21-27 Kukina O.M., Gruber I.M., Akhmatova N.K. et al. Study of the immunobiological properties of surface protein-containing antigens of *Streptococcus pneumoniae* serotype 6B. *Epidemiologiya y vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention* 2020;19(3):21–7. (In Russ.). DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-21-27
- Воробьев Д.С., Петухова Е.С., Волох Ю.В., Семенова И.Б. Исследование иммунобиологических свойств рекомбинантного пневмолизина *Streptococcus pneumoniae*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2024;177(2):220–4. DOI: 10.47056/0365-9615-2024-177-2-220-224 Vorobyev D.S., Petukhova E.S., Volokh Yu.V., Semenova I.B. Study of immunobiologic properties of recombinant *Streptococcus pneumoniae* pneumolysin. *Bulleten experimentalnoy biologii y meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2024;177(2):220–4. (In Russ.). DOI: 10.47056/0365-9615-2024-177-2-220-224

Вклад авторов

О.М. Афанасьева: написание текста рукописи, проведение экспериментов *in vivo*, получение данных для анализа, интерпретация полученных данных;

И.М. Грубер: разработка дизайна исследования, редактирование текста рукописи;

Д.С. Воробьев, О.В. Жигунова: проведение экспериментов *in vivo*, получение данных для анализа, интерпретация полученных данных;

Л.Н. Нестеренко, Г.М. Алаторцева: проведение эксклюзионной хроматографии, предоставление материалов и инструментов для исследования, редактирование текста статьи;

Н.Е. Ястребова: проведение твердофазного иммуноферментного анализа, предоставление штамма *S. pneumoniae* серотипа 3.

Author's contributions

O.M. Afanasyeva: writing the manuscript, conducting *in vivo* experiments, obtaining data for analysis, interpretation of obtained data;

I.M. Gruber: study design, editing of the manuscript;

D.S. Vorobyev, O.V. Zhigunova: conducting *in vivo* experiments, obtaining data for analysis, interpretation of obtained data;

L.N. Nesterenko, G.M. Alatorseva: exclusion chromatography performing, providing materials and instruments for the study, editing of the article text;

N.E. Yastrebova: solid-phase enzyme immunoassay, provision of *S. pneumoniae* serotype 3 strain.

ORCID авторов / ORCID of authors

О.М. Афанасьева / O.M. Afanasyeva: <https://orcid.org/0000-0003-0875-4141>

И.М. Грубер / I.M. Gruber: <https://orcid.org/0000-0002-1922-4640>

Д.С. Воробьев / D.S. Vorobyev: <https://orcid.org/0000-0002-1926-8803>

Л.Н. Нестеренко / L.N. Nesterenko: <https://orcid.org/0000-0002-3825-3906>

Г.И. Алаторцева / G.M. Alatorseva: <https://orcid.org/0000-0001-9887-4061>

Н.Е. Ястребова / N.E. Yastrebova: <https://orcid.org/0000-0002-6911-1345>

О.В. Жигунова / O.V. Zhigunova: <https://orcid.org/0000-0002-3958-6219>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (протокол № 3 от 26.04.2024).

Compliance with principles of bioethics. The study was carried out in accordance with the ethical standards of animal treatment adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Research and Other Scientific Purposes. The study was approved by the Committee on Biomedical Ethics of I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (Protocol No. 3 dated 04/26/2024).

Статья поступила: 01.09.2025. Принята к публикации: 20.05.2026. Опубликовано онлайн: 15.07.2026.

Article submitted: 01.09.2025. Accepted for publication: 20.05.2026. Published online: 15.07.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-81-88>

Эффективность применения 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в монотерапии и в комбинации с доксорубицином на мышах при раке толстой кишки АКАТОЛ

Р.В. Журиков, Л.П. Коваленко, Е.А. Иванова, А.Г. Васильчук, Л.Г. Колик, Т.А. Гудашева

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, 8

Контакты: Руслан Владимирович Журиков zhurikovrv@gmail.com

Введение. Соединения, способные подавлять воспаление и модулировать противоопухолевый иммунный ответ, могут усиливать эффективность цитостатической терапии. В связи с этим особый интерес представляет стратегия комбинированного применения 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина с препаратами классической химиотерапии.

Цель исследования – оценка влияния 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в форме основания (СНК-411) и в форме соли (СНК-578) в виде монотерапии или в комбинации с доксорубицином на торможение роста опухоли и продолжительность жизни животных на модели аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ у мышей.

Материалы и методы. Аденокарциному толстой кишки человека АКАТОЛ имплантировали самцам мышей линии BALB/c подкожно в область подмышечной впадины по 1×10^6 клеток. Со 2-го по 15-й день эксперимента животным вводили СНК-411 *per os* (25 мг/кг), СНК-578 внутривенно (10 мг/кг), а также их комбинации с доксорубицином (5 мг/кг внутривенно на 2-й и 4-й дни). Группа монотерапии доксорубицином служила контролем сравнения. Критериями эффективности являлись торможение роста опухоли (ТРО) и увеличение продолжительности жизни.

Результаты. Монотерапия СНК-411 и СНК-578 показала высокую эффективность (ТРО ~74 % на 21-й день). Доксорубицин показал схожую эффективность (ТРО 82 %), однако в этой группе была зафиксирована гибель 2 из 12 животных. Комбинированная терапия превзошла монотерапию доксорубицином по показателю ТРО и не вызвала гибели животных. Увеличение продолжительности жизни в группах СНК-411 и СНК-578 составило 31 и 33 % соответственно.

Заключение. Основание СНК-411 и соль СНК-578 проявляют противоопухолевую активность самостоятельно и потенцируют действие доксорубицина, снижая его токсичность. Эти данные подтверждают ранее полученные результаты на моделях рака шейки матки РШМ-5 и эпидермоидной карциномы легкого Lewis.

Ключевые слова: аденокарцинома толстой кишки, производное 5-оксипиримидина, СНК-411, СНК-578, противоопухолевая активность

Для цитирования: Журиков Р.В., Коваленко Л.П., Иванова Е.А. и др. Эффективность применения 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в монотерапии и в комбинации с доксорубицином на мышах при раке толстой кишки АКАТОЛ. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(2):81–8.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-81-88>

Efficacy of 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-oxypyrimidine in monotherapy and in combination with doxorubicin on AKATOL colon cancer in mice

Ruslan V. Zhurikov, Larisa P. Kovalenko, Elena A. Ivanova, Anastasia G. Vasilchuk, Larisa G. Kolik, Tatiana A. Gudasheva

Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies; 8 Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russia

Contacts: Ruslan Vladimirovich Zhurikov zhurikovrv@gmail.com

Background. Compounds capable of suppressing inflammation and modulating the antitumor immune response may enhance the effectiveness of cytostatic therapy. In this regard, the strategy of combined use of 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-oxypyrimidine with classical chemotherapy drugs is of particular interest.

Aim. Evaluation of 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-oxypyrimidine (base SNK-411 and salt SNK-578) *per se* or with doxorubicin on tumor growth inhibition and survival in the murine AKATOL colon adenocarcinoma model.

Materials and methods. Antitumor activity of 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-oxypyrimidine was studied in tests on BALB/c mice using the AKATOL colon adenocarcinoma model. A standard graft of 1×10^6 AKATOL tumor cells was administered to each mouse. Starting on day 2, mice received treatment with SNK-578 (10 mg/kg, intraperitoneal) or SNK-411 *per os* (25 mg/kg) or their combinations with doxorubicin daily. A positive control group received doxorubicin (5 mg/kg, intraperitoneal) on days 2 and 4. The endpoints for assessing antitumor activity were the percentage of tumor growth inhibition (TGI) and increase in lifespan.

Results. Monotherapy with SNK-411 and SNK-578 showed high efficacy (TGI ~74 % on day 21). Doxorubicin showed similar efficacy (inhibition of tumor growth 82 %), however, in this group, the death of 2 out of 12 animals was recorded. The combination therapy surpassed the monotherapy with doxorubicin in terms of tumor growth suppression and did not cause the death of animals. The increase in lifespan in the SNK-411 and SNK-578 groups was 31 and 33 %, respectively.

Conclusion. Base SNK-411 and salt SNK-578 show antitumor activity and synergize with doxorubicin, reducing its toxicity. These results corroborate earlier data from cervical cancer RSHM-5 and Lewis lung carcinoma models.

Keywords: colon adenocarcinoma, 5-oxypyrimidine derivatives, SNK-411, SNK-578, antitumor activity

For citation: Zhurikov R.V., Kovalenko L.P., Ivanova E.A. et al. Efficacy of 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-oxypyrimidine in monotherapy and in combination with doxorubicin on AKATOL colon cancer in mice. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2026; 25(2):81–8. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-81-88>

Введение

Злокачественные новообразования продолжают оставаться одной из наиболее сложных медицинских проблем современности, что стимулирует активный поиск инновационных терапевтических стратегий. В этом контексте особый интерес представляют производные пиримидина — класс соединений с доказанной эффективностью против различных патологий, включая онкологические, неврологические и инфекционные заболевания [1].

Экспериментальные исследования продемонстрировали значительный противоопухолевый потенциал 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина. На моделях эпидермоидной карциномы легкого Lewis (LLC), рака шейки матки (РШМ-5) и аденокарциномы молочной железы Ca755 было установлено, что соль СНК-578 превосходит по активности аналог — основание СНК-411. При этом важным преимуществом является отсутствие токсичности при эффективных дозах по сравнению с доксорубицином [2–4].

Механизм действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина не ограничивается прямой цитотоксичностью. В серии экспериментов подтверждено их комплексное влияние на регуляцию иммунного ответа, проявляющееся в значительном снижении уровня ключевых провоспалительных и проаллергенных цитокинов (интерлейкинов (ИЛ) 4, 5, 6, 10, 11, 13, 17) в сыворотке крови экспериментальных животных [5–7].

На модели LLC, меланомы В-16, а также после удаления первичного опухолевого узла LLC 2-изо-

бутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин как в форме основания (СНК-411), так и в форме соли (СНК-578) оказывал выраженное антиметастатическое действие [2, 6, 8].

Согласно проведенным исследованиям, в механизме плеiotропного действия СНК 578 и СНК-411 гармонично сочетаются противоопухолевая, противовоспалительная и иммуностропная компоненты [2–8].

Низкая токсичность (lethal dose, 50 % — средняя летальная доза >500 мг/кг) в сочетании с широким спектром фармакологической активности делает это соединение перспективным кандидатом для комбинированной терапии с классическими цитостатиками [9, 10]. Комбинации цитостатиков с 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидином позволят одновременно воздействовать на несколько механизмов патогенеза онкологических заболеваний, а также снизить частоту побочных эффектов.

Цель исследования — оценка влияния 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в форме основания (СНК-411) и в форме соли (СНК-578) в виде монотерапии или в комбинации с доксорубицином на торможение роста опухоли и продолжительность жизни животных на модели аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ у мышей.

Материалы и методы

Для сравнительного анализа с ранее проведенными экспериментами на других моделях солидных опухолей данное исследование проведено

по стандартизированному нами протоколу, приведенному ниже.

Работа выполнена на 72 мышах-самцах линии BALB/c массой тела 20 г в возрасте 2 мес, полученных из филиала «Столбовая» Научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства. Животных содержали в виварии Федерального исследовательского центра оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий на стандартном сбалансированном брикетированном корме, со свободным доступом к пище и воде, при естественном освещении и температуре воздуха 20–21 °С.

Для исследования противоопухолевой активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина использована экспериментальная модель аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ, которая была выбрана с учетом спектра фармакологической активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина и особенностей патогенеза колоректального рака (КРР) [5–7, 11]. Штамм АКАТОЛ получен из биоресурсной коллекции клеточных линий и первичных опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Взвесь опухолевых клеток аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ имплантировали всем мышам подкожно в область подмышечной впадины в дозе 0,1 мл раствора Хэнкса на особь. Стандартная прививочная доза составляла не менее 1×10^6 клеток на мышь, что проверялось на счетчике клеток BIO-RAD TC-10 (Automated Cell Counter, США). День подкожной

прививки клеток опухолевого штамма считали 0-м днем развития опухоли.

В работе использовали фармацевтические субстанции СНК-411 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин) и СНК-578 (гидрохлорид 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина), синтезированные в отделе химии Федерального исследовательского центра оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий. В качестве препарата сравнения использовали доксорубицина гидрохлорид (EBEWE PHARMA, Ges.m.b.H.Nfg. KG, Австрия), который растворяли в воде для инъекций и вводили 2-кратно внутривентриально в дозе 5 мг/кг на 2-й день (через 48 ч после прививки опухоли) и 4-й день развития опухоли. Малорастворимое в воде основание СНК-411 вводили *per os* в 1 % растворе крахмала в дозе 25 мг/кг в течение 14 дней (со 2-го по 15-й дни развития опухоли). Хорошо растворимый в воде гидрохлорид СНК-578 растворяли в воде для инъекций и вводили внутривентриально в дозе 10 мг/кг в течение 14 дней (со 2-го по 15-й дни развития опухоли).

Дозы, пути и режимы введения исследуемого соединения и комбинации выбраны на основании данных, полученных ранее [2–8].

Согласно методическим рекомендациям по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств [12] у животных-опухоленосителей исследуемых групп оценивали следующие параметры: торможение роста опухоли по объему (ТРО) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ) по сравнению с контролем. ТРО регистрировали

Таблица 1. Дизайн эксперимента

Table 1. Design of experiment

Группа, <i>n</i> = 12 Group, <i>n</i> = 12	Доза, мг/кг Dose, mg/kg	Путь введения Route of administration	Режим введения (дни опыта) Administration regimen (day of experiment)
Контроль Control	—	—	—
Доксорубин Doxorubicin	5	Внутривентриально Intraperitoneal	На 2-й и 4-й дни On 2 nd and 4 th day
Монотерапия СНК-411 SNK-411 monotherapy	25	<i>Per os</i>	14 дней (со 2-го по 15-й) 14 days (from 2 nd to 15 th)
Монотерапия СНК-578 SNK-578 monotherapy	10	Внутривентриально Intraperitoneal	14 дней (со 2-го по 15-й) 14 days (from 2 nd to 15 th)
Комбинация СНК-411 + доксорубин Combination of SNK-411 and Doxorubicin	25 + 5	<i>Per os</i> + внутривентриально Per os + intraperitoneal	СНК-411: 14 дней (со 2-го по 15-й) SNK-411: 14 days (from 2 nd to 15 th) Доксорубин: 2-й и 4-й день Doxorubicin: on 2 nd and 4 th day
Комбинация СНК-578 + доксорубин Combination of SNK-578 and Doxorubicin	10 + 5	Внутривентриально (оба) Intraperitoneal (both)	СНК-578: 14 дней (со 2-го по 15-й) SNK-578: 14 days (from 2 nd to 15 th) Доксорубин: 2-й и 4-й день Doxorubicin: on 2 nd and 4 th day

на 9, 15, 21 и 28-е сутки развития опухоли (7-е и 14-е сутки после окончания 2-недельного введения исследуемых соединений). Так, ТРО (%) вычисляли по формуле

$$\text{ТРО} = (V_{\text{контроля}} - V_{\text{опыта}}) / V_{\text{контроля}} \times 100 \%, \quad (1)$$

где V — объем опухоли на 9, 15, 21, 28-й дни опыта.

Параметр УПЖ (%) рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{УПЖ} = [(СПЖ_{\text{опыта}} - СПЖ_{\text{контроля}}) / СПЖ_{\text{контроля}}] \times 100 \%, \quad (2)$$

где СПЖ — средняя продолжительность жизни, дни. Анализ выживаемости осуществляли также с использованием метода Каплана—Майера [13].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 13. Результат выражали в виде среднего арифметического значения и его стандартной ошибки, проверку данных на нормальность распределения выборок выполняли по критерию Шапиро—Уилка. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью критерия Манна—Уитни, анализ статистических различий между кривыми выживаемости — посредством F -теста Кокса. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В рамках эксперимента пероральное применение СНК-411 (25 мг/кг) на протяжении 14 дней продемонстрировало устойчивое подавление опухолевого роста. Ингибирование было статистически значимым во всех контрольных точках — на 9, 15, 21 и 28-е сутки, достигнув максимума на 21-е сутки (ТРО — 74 %) и сохранив высокий уровень (ТРО — 67 %) к концу наблюдения (табл. 2).

Аналогичный противоопухолевый эффект зафиксировали при внутрибрюшинном введении 10 мг/кг СНК-578. Препарат показал высокую активность на поздних этапах развития новообразования с пиком эффективности (ТРО 74 %) на 21-й день и снижением до 64 % ТРО к 28-м суткам, что соответствовало результатам, полученным при его пероральном введении.

Препарат сравнения доксорубин также проявил выраженную цитостатическую активность (ТРО 82 и 69 % на 21-е и 28-е сутки соответственно). Однако применение препарата было сопряжено с выраженной системной токсичностью: животные становились малоподвижными, отказывались от еды, что привело к летальному исходу у 2 из 12 животных в первые 10 дней эксперимента.

Важным результатом стало выявление усиления противоопухолевого эффекта при комбинировании 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в обеих формах с доксорубином. Комбинация СНК-411 с доксорубином позволила достичь ТРО 93 %

Таблица 2. Влияние СНК-411 и СНК-578, доксорубина, а также комбинаций СНК-411 и СНК-578 с доксорубином на рост аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ

Table 2. Effect of SNK-411, SNK-578, doxorubicin and their combinations with doxorubicin on growth of colon adenocarcinoma AKATOL

Группа, $n = 12$ Group, $n = 12$	Торможение роста опухоли, % tumor growth inhibition, %			
	9-й день day 9	15-й день day 15	21-й день day 21	28-й день day 28
Доксорубин внутривенно $\times 2 \times 5$ мг/кг Doxorubicin intraperitoneal $\times 2 \times 5$ mg/kg	98,8*	94,3*	81,7*	69,3*
СНК-411 <i>per os</i> $\times 14 \times 25$ мг/кг SNK-411 <i>per os</i> $\times 14 \times 25$ mg/kg	63,5*	75,8*	74,0*	67*
СНК-411 <i>per os</i> $\times 14 \times 25$ мг/кг + доксорубин внутрибрюшинно $\times 2 \times 5$ мг/кг SNK-411 <i>per os</i> $\times 14 \times 25$ mg/kg + Doxorubicin intraperitoneal $\times 2 \times 5$ mg/kg	99,9*	92,3*	92,7*	65*
СНК-578 внутривенно $\times 14 \times 10$ мг/кг SNK-578 intraperitoneal $\times 14 \times 10$ mg/kg	34,0	73,5*	73,5*	64*
СНК-578 внутривенно $\times 14 \times 10$ мг/кг + доксорубин внутрибрюшинно $\times 2 \times 5$ мг/кг SNK-578 intraperitoneal $\times 14 \times 10$ mg/kg + Doxorubicin intraperitoneal $\times 2 \times 5$ mg/kg	97,6*	94,7*	91,6*	83*

* $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой по U -критерию Манна—Уитни.

* $p < 0.05$ vs control group Mann—Whitney U -test.

Таблица 3. Влияние СНК-411, СНК-578 и их комбинаций с доксорубицином на выживаемость мышей с аденокарциномой толстой кишки AKATOL

Table 3. Effect of SNK-411, SNK-578 and their combinations with doxorubicin on survival time of mice with adenocarcinoma AKATOL

Группа, $n \geq 10$ Groups, $n \geq 10$	Средняя продолжительность жизни, дни Mean survival time, days	Увеличение продолжительности жизни, % Increase in survival time, %
Контроль Control	58,1	—
Доксорубин внутривентрально $\times 2 \times 5$ мг/кг Doxorubicin intraperitoneal $\times 2 \times 5$ mg/kg	57,5	0
СНК-411 <i>per os</i> $\times 14 \times 25$ мг/кг SNK-411 <i>per os</i> $\times 14 \times 25$ mg/kg	76,3*	31
СНК-411 <i>per os</i> $\times 14 \times 25$ мг/кг + доксорубин внутривентрально $\times 2 \times 5$ мг/кг SNK-411 <i>per os</i> $\times 14 \times 25$ mg/kg + doxorubicin intraperitoneal $\times 2 \times 5$ mg/kg	58	0
СНК-578 внутривентрально 14×10 мг/кг SNK-578 intraperitoneal $\times 14 \times 10$ mg/kg	77,5*	33
СНК-578 внутривентрально $\times 14 \times 10$ мг/кг + доксорубин внутривентрально $\times 2 \times 5$ мг/кг SNK-578 intraperitoneal $\times 14 \times 10$ mg/kg + doxorubicin intraperitoneal $\times 2 \times 5$ mg/kg	67,3*	15

* $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой по F-тесту Кокса.

* $p < 0.05$ vs control group Cox's F-test.

на 21-е сутки, а комбинация с СНК-578 — 92 %. На 28-е сутки комбинация СНК-578 продемонстрировала отдаленную эффективность (ТРО 83 %). При этом во всех группах комбинированной терапии отмечали полную сохранность поголовья животных на начальных этапах эксперимента.

Анализ выживаемости выявил, что монотерапия СНК-411 и СНК-578 увеличила продолжительность жизни животных на 31 и 33 % соответственно по сравнению с контрольной группой (табл. 3). Доксорубин в режиме монотерапии не оказал значимого влияния на общую выживаемость. При этом комбинация СНК-578 с доксорубином позволила достичь УПЖ (15 %), что не отвечает критерию эффективности [12].

Расчет медианы выживаемости по методу Каплана — Мейера (рис. 1) подтвердил эти данные: 60 дней в контроле против 66 и 72 дней для СНК-411 и СНК-578 соответственно. Важно отметить, что комбинированные схемы, несмотря на усиление противоопухолевого эффекта, оказали разнонаправленное влияние на медиану выживаемости: группа «СНК-411 + доксорубин» продемонстрировала снижение до 53 дней, тогда как группа «СНК-578 + доксорубин» сохранила этот показатель на высоком уровне (70 дней). Это указывает на то, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин в обеих формах, хотя и не нивелировали полностью токсичность доксорубина,

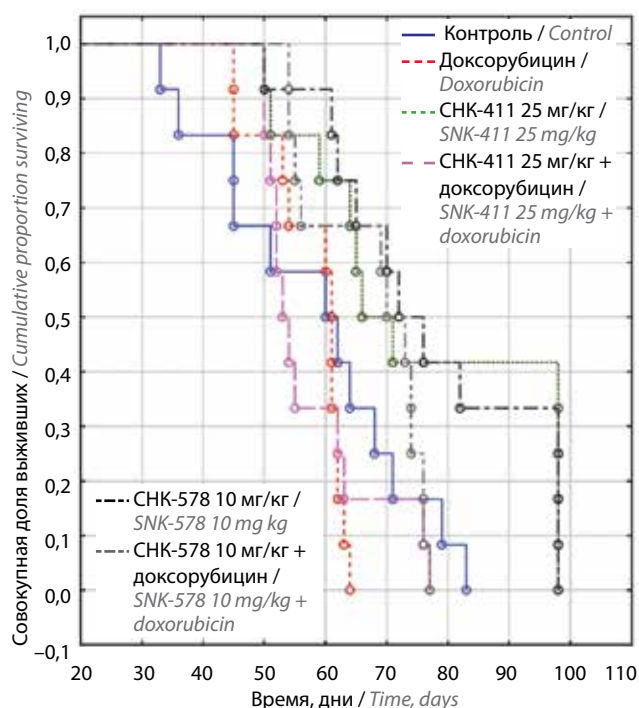


Рис. 1. Влияние СНК-411, СНК-578 и их комбинаций с доксорубином на выживаемость мышей линии BALB/c с аденокарциномой толстой кишки AKATOL

Fig. 1. Effect of SNK-411, SNK-578 and their combinations with doxorubicin on survival of BALB/c mice with colon adenocarcinoma AKATOL

но предотвратил связанную с ней раннюю гибель животных.

Среди онкологических заболеваний КРР занимает третью позицию по распространенности в мире. В то же время показано, что процессам онкогенеза и прогрессирования аденокарциномы толстого кишечника способствует Т2-воспаление, опосредованное такими провоспалительными Th2-цитокинами (Т-хелперами 2-го типа), как плеiotропный ИЛ-4 и ИЛ-13, которые участвуют в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника [11, 14].

Экспериментальные исследования на ряде опухолевых моделей, включая LLC, РШМ-5, Ca755, а также на модели системной анафилаксии к овальбумину, продемонстрировали, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин проявляет поливалентную биологическую активность. Данное соединение обладает выраженным противоопухолевым, антиметастатическим, противовоспалительным и противоаллергическим действиями [2–8]. Ключевым молекулярным механизмом, лежащим в основе столь широкого спектра эффектов, является способность 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина модулировать иммунный ответ. Это выражается в значительном подавлении сывороточной концентрации проонкогенных и проаллергенных Th2-цитокинов (ИЛ-4, -6, -13) и одновременной активации клеточного звена иммунитета, о чем свидетельствует увеличение популяций натуральных киллеров и цитотоксических Т-лимфоцитов [2–6, 15].

Важность роли Th2-цитокинов в онкогенезе подтверждается исследованиями, которые выявили ассоциацию между полиморфизмом в генах рецепторов интерлейкинов *ИЛ-4* и *ИЛ-13* и повышенным риском развития КРР [16, 17].

Полученные результаты соответствуют критериям отбора перспективных противоопухолевых средств, предусматривающим устойчивое торможение роста не менее 3 различных солидных опухолей на 70 % и более с сохранением эффекта в течение 7 сут после окончания введения таких средств [11].

Ранее в проведенных авторами исследованиях продемонстрированы значимые результаты по противоопухолевой активности СНК-578 на моделях опухолей РШМ-5 и LLC [2, 3, 5, 6].

Заключение

Проведенный эксперимент указывает на противоопухолевый эффект 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в форме основания (СНК-411) и соли (СНК-578), соответствующий установленным критериям эффективности: ТРО ≥ 70 % на 7-й день после окончания введения препарата (УПЖ ≥ 25 %) [11]. При монотерапии СНК-578 в дозе 10 мг/кг внутривентриально на 7-й день после окончания введения ТРО составило 73,5 % (УПЖ 33 %). При пероральном введении СНК-411 в дозе 25 мг/кг на 7-й день после окончания введения ТРО было 74 % (УПЖ – 31 %).

Настоящее исследование демонстрирует усиление противоопухолевого действия комбинации доксорубицина и 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в форме основания и соли в сравнении с монотерапией доксорубицином. Доксорубин вызывал ТРО 81,7 % на 21-е сутки эксперимента. При терапии комбинацией СНК-411 с доксорубицином ТРО составило 93 % на 21-е сутки, а при терапии комбинацией СНК-578 с доксорубицином – 92 %. Комбинации СНК-411 с доксорубицином не приводили к УПЖ, соответствующему критерию эффективности.

Аденокарцинома толстой кишки АКАТОЛ стала 3-й солидной опухолью, при которой через 7 сут после окончания введения СНК-578 ТРО было больше 70 %.

Полученные значимые результаты по противоопухолевой активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина, а также по усилению противоопухолевого эффекта при его применении в комбинации с доксорубицином подтверждают перспективность продолжения исследований и разработки соединений этого ряда в качестве средства противоопухолевой терапии.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Самотруева М.А., Цибизова А.А., Ясеневская А.Л. и др. Фармакологическая активность производных пиримидинов. Астраханский медицинский журнал 2015;1:12–29. Samotrueva M.A., Tsibizova A.A., Yasenevskaya A.L. et al. Pharmacological activity of pyrimidine derivatives. Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal = Astrakhan Medical Journal 2015;1:12–29. (In Russ.).
2. Коваленко Л.П., Никитин С.В., Сорокина А.В. и др. Влияние 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на рост и метастазирование карциномы легкого Lewis у мышей линии C57Bl/6. Экспериментальная и клиническая фармакология 2020;83(6):24–7. DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-1-24-27 Kovalenko L.P., Nikitin S.V., Sorokina A.V. et al. Effect of 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-oxypyrimidine on growth and metastasis of Lewis lung carcinoma in C57BL/6 mice. Eksperimentalnaya y klinicheskaya farmakologiya = Experimental and clinical pharmacology 2020;83(6):24–7. (In Russ.). DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-1-24-27
3. Коржова К.В., Коваленко Л.П., Иванова Е.А. и др. Влияние производных 5-оксипиримидина на рост опухоли и продолжительность жизни мышей линии C57Bl/6 с эпидермоидной карциномой легких. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2020;169(2):226–9. DOI: 10.1007/s10517-020-04864-z Korzhova K.V., Kovalenko L.P., Ivanova E.A. et al. Effect of 5-oxypyrimidine derivatives on tumour growth in and lifespan of C57Bl/6 mice with epidermoid lung carcinoma. Byulleten eksperimentalnoy biologii y meditsini = Bulletin of Experimental Biology and Medicine 2020;169(2):226–9. (In Russ.). DOI: 10.1007/s10517-020-04864-z
4. Журиков Р.В., Коваленко Л.П., Алексеева С.В. и др. Влияние производных 5-оксипиримидина на противоопухолевый эффект гемцитабина, гематологические показатели и продолжительность жизни у мышей с аденокарциномой Ca755. Вопросы онкологии 2023;69(2):238–45. DOI: 10.37469/0507-3758-2023-69-2-238-245 Zhurikov R.V., Kovalenko L.P., Alexeeva S.V. et al. The effect of 5-hydroxypyrimidine derivatives on the antitumor effect of gemcitabine, hematological parameters, and survival of mice with adenocarcinoma Ca755. Voprosy Onkologii = Problems in Oncology 2023;69(2):238–45. DOI: 10.37469/0507-3758-2023-69-2-238-245
5. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Зайнуллина Л.Ф. и др. Влияние производных 5-оксипиримидина на рост опухоли и содержание интерлейкинов в сыворотке крови самок мышей линии CBA с раком шейки матки (РШМ-5). Биомедицинская химия 2021;67(2):158–61. DOI: 10.18097/pbmc20216702158 Kovalenko L.P., Korzhova K.V., Zainullina L.F. et al. Effect of 5-hydroxypyrimidine derivatives on tumor growth and cytokine concentration in blood serum of female CBA mice with cervical cancer (RSHM-5). Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Khim. 2021;67(2):158–61. (In Russ.). DOI: 10.18097/pbmc20216702158
6. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Никитин С.В. и др. Коррекция уровня сывороточных проонкогенных цитокинов и метастазирования производными 5-оксипиримидина и доxorubicinom после удаления первичного опухолевого узла у мышей с метастазирующим раком легкого LLC. Биомедицинская химия 2023;69(1):39–45. DOI: 10.18097/PBMC20236901039 Kovalenko L.P., Korzhova K.V., Nikitin S.V. et al. Correction of serum prooncogenic cytokines and metastases by 5-hydroxypyrimidine derivatives and doxorubicin after removal of a primary tumor node in mice with the Lewis lung epidermoid carcinoma. Biomeditsinskaya khimiya = Biomed Khim. 2023;69(1):39–45. (In Russ.). DOI: 10.18097/PBMC20236901039
7. Коваленко Л.П., Журиков Р.В., Вальдман Е.А., Никитин С.В. Влияние производных 5-оксипиримидина и препарата сравнения Эриус на выраженность системной реакции анафилактики, уровень иммуноглобулина Е (IgE) и цитокинов у мышей линии BALB/c. Медицинская иммунология 2024;26(6):1197–204. DOI: 10.15789/1563-0625-ЕОН-2870 Kovalenko L.P., Zhurikov R.V., Valdman E.A., Nikitin S.V. Effect of 5-hydroxypyrimidine derivatives and reference drug Aerius on systemic anaphylaxis, concentration of immunoglobulin E and cytokines tested in Balb/c mice. Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology. 2024;26(6):1197–204. (In Russ.). DOI: 10.15789/1563-0625-ЕОН-2870
8. Журиков Р.В., Коваленко Л.П., Никитин С.В., Дурнев А.Д. Влияние производного 5-оксипиримидина на рост и метастазирование меланомы B16 у мышей линии C57BL/6. Российский биотерапевтический журнал 2021;20(3):66–72. DOI: 10.17650/1726-9784-2021-20-3-66-72 Zhurikov R.V., Kovalenko L.P., Nikitin S.V., Durnev A.D. Effects of 5-hydroxypyrimidine derivative on growth and metastasis of melanoma b16 in c57bl/6 mice. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2021;20(3):66–72. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2021-20-3-66-72
9. Коваленко Л.П., Никитин С.В., Дурнев А.Д., Гудашева Т.А. Средство с противоопухолевой, антиметастатической активностью, противовоспалительным и противоаллергенным действием. Патент РФ №2686672 C1, 30.04.2019. Бюл. №13. Kovalenko L.P., Nikitin S.V., Durnev A.D., Gudasheva T.A. Agent with antitumour and antimetastatic activity, anti-inflammatory and antiallergic action. RU 2686672 C1, 30.04.2019. Bull. No. 13. (In Russ.).
10. Серединин С.Б., Никитин С.В., Коваленко Л.П., Дурнев А.Д. Производное 5-оксипиримидина, обладающее противоопухолевой активностью. Патент РФ №2518889 C2, 10.06.2014. Бюл. №16. Seredenin S.B., Nikitin S.V., Kovalenko L.P., Durnev A.D. 5-oxypyrimidine derivative possessing antineoplastic activity. RU 2518889 C2 10.06.2014. Bull. No. 16 (In Russ.).
11. Song X., Traub B., Shi J., Kornmann M. Possible roles of interleukin-4 and -13 and their receptors in gastric and colon cancer. Int J Mol Sci 2021;22(2):727. DOI: 10.3390/ijms22020727
12. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. А.Н. Миронова и др. Ч. I. М.: Гриф и К., 2012. С. 642–57. Treshchalina E.M., Zhukova O.S., Gerasimova G.K. et al. Methodological recommendations for the preclinical study of the antitumor activity of drugs. In: Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part I. Ed. by A.N. Mironov et al. Moscow: Grif i K, 2012. P. 642–57. (In Russ.).
13. D'Arrigo G., Leonardi D., ElHafeez S.A. et al. Methods to analyse time-to-event data: The Kaplan–Meier survival curve. Oxid Med Cell Longev 2021;2021:2290120. DOI: 10.1155/2021/2290120
14. Birch R.J., Burr N., Subramanian V. et al. Inflammatory bowel disease-associated colorectal cancer epidemiology and outcomes: an English population-based study. Am J Gastroenterol 2022;117(11):1858–70. DOI: 10.14309/ajg.0000000000001941

15. Кузнецова О.С., Таллерова А.В., Никитин С.В., Коваленко Л.П. Иммунофармакологические свойства нового производного 5-оксипиримидина СНК-411. Экспериментальная и клиническая фармакология 2015;78(4):6–9. DOI:10.30906/0869-2092-2015-78-4-6-9
Kuznetsova O.S., Talerova A.V., Nikitin S.V., Kovalenko L.P. Immunopharmacological properties of new 5-pyrimidinol derivative SNK-411. Eksperimentalnaya y klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology 2015; 78(4):6–9. (In Russ.). DOI: 10.30906/0869-2092-2015-78-4-6-9
16. Hou N., Zhang X., Zhao L. et al. A novel chronic stress induced shift in the Th1 to Th2 response promotes colon cancer growth. Biochem Biophys Res Commun 2013;439(4):471–6. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.08.101
17. Shamoun L., Skarstedt M., Andersson R.E. et al. Association study on IL-4, IL-4Ralpha and IL-13 genetic polymorphisms in Swedish patients with colorectal cancer. Clin Chim Acta 2018;487:101–6. DOI: 10.1016/j.cca.2018.09.024

Вклад авторов

Р.В. Журиков: написание текста статьи, получение экспериментальных данных, анализ данных и их интерпретация;
Л.П. Коваленко: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, предоставление материалов исследования, редактирование статьи;
Е.А. Иванова, А.Г. Васильчук: получение данных для анализа, предоставление материалов исследования;
Л.Г. Колик: получение данных для анализа, предоставление материалов исследования, редактирование статьи;
Т.А. Гудашева: предоставление материалов исследования.

Author's contributions

R.V. Zhurikov: article preparation, data collection, data analysis and interpretation;
L.P. Kovalenko: concept and design, data collection, provision of study material, article editing;
E.A. Ivanova, A.G. Vasilchuk: provision of study material, data collection;
L.G. Kolik: data collection, provision of study materials, article editing;
T.A. Gudasheva: provision of study materials.

ORCID авторов / ORCID of authors

Р.В. Журиков / R.V. Zhurikov: <https://orcid.org/0000-0003-1084-690X>
Л.П. Коваленко / L.P. Kovalenko: <https://orcid.org/0000-0002-2083-0832>
Е.А. Иванова / E.A. Ivanova: <https://orcid.org/0000-0003-4961-2051>
А.Г. Васильчук / A.G. Vasilchuk: <https://orcid.org/0000-0002-9079-1322>
Л.Г. Колик / L.G. Kolik: <https://orcid.org/0000-0002-9847-8058>
Т.А. Гудашева / T.A. Gudasheva: <https://orcid.org/0000-0002-5185-4474>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена за счет средств государственного бюджета Российской Федерации в рамках государственного задания FGFG-2025-0003.

Funding. The study was carried out with the financial support of Russian Federation's state budget in the framework of the experimental scientific development FGFG-2025-0003.

Соблюдение правил биоэтики. Все эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях) и правилами работы с животными, утвержденными этической комиссией ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Compliance with principles of bioethics. All animal experiments were conducted in compliance with international rules (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the European Union Committee dated September 22, 2010, for the protection of animals used for scientific purposes) and rules for working with animals that were approved by the Federal Research Center For Innovator And Emerging Biomedical And Pharmaceutical Technologies Ethics Commission.

Статья поступила: 02.09.2025. Принята к публикации: 20.05.2026. Опубликовано онлайн: 15.07.2026.

Article submitted: 02.09.2025. Accepted for publication: 20.05.2026. Published online: 15.07.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-89-102>

Инструментальные методы анализа производных индолокарбазола, обладающих противоопухолевой активностью

Е.В. Игнатьева, И.В. Ярцева, Д.А. Козин, Д.В. Гусев, Л.В. Эктова, З.С. Шпрах

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Елена Владимировна Игнатьева chem_pharm@ronc.ru

Введение. Разработка инновационных отечественных противоопухолевых средств остается крайне важной задачей. Среди новых избирательно действующих на опухоли лекарственных веществ значительный интерес представляют N-гликозиды индоло[2,3-а]карбазола ЛХС-1208 и ЛХС-1269, синтезированные по оригинальной методике в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина. В работе представлены возможности использования инструментальных методов анализа для выявления отличий в физико-химических свойствах близких по структуре соединений ЛХС-1208 и ЛХС-1269 и установления экспериментально обоснованных норм качества для их стандартизации как фармацевтических субстанций.

Цель исследования – изучение физико-химических свойств и разработка методов качественного и количественного анализа ЛХС-1208 и ЛХС-1269.

Материалы и методы. В работе использованы современные инструментальные методы анализа: поляриметрия, спектрофотометрия (ультрафиолетовая спектрофотометрия), инфракрасная спектроскопия, спектроскопия протонного магнитного резонанса, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и ВЭЖХ с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС).

Результаты. С помощью современных инструментальных методов выявлены достоверные различия в физико-химических свойствах N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазола ЛХС-1208 и ЛХС-1269. Представлены результаты, подтверждающие структуру каждого соединения, и разработаны методики для их качественного и количественного анализа. Проведена валидация ВЭЖХ-методики количественного определения ЛХС-1269, которая показала соответствие полученных валидационных характеристик критериям Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания и Фармакопеи Евразийского экономического союза. Установлено строение примесей в ЛХС-1269 и предложена методика их количественного определения.

Заключение. Подтверждена структура производных индоло[2,3-а]карбазола ЛХС-1208 и ЛХС-1269 и показано, что можно достоверно отличить их друг от друга. Установлены структуры примесей, образующихся на последнем этапе синтеза ЛХС-1269. Разработаны ВЭЖХ-методики количественного определения ЛХС-1208 и ЛХС-1269.

Ключевые слова: N-гликозиды индоло[2,3-а]карбазола, инструментальные методы анализа, родственные примеси, качественный и количественный анализ, стандартизация

Для цитирования: Игнатьева Е.В., Ярцева И.В., Козин Д.А. и др. Инструментальные методы анализа производных индолокарбазола, обладающих противоопухолевой активностью. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(2):89–102.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-89-102>

Instrumental methods in analytical studies of indolocarbazole derivatives with antitumor activity

Elena V. Ignateva, Irina V. Yartseva, Dmitry A. Kozin, Dmitriy V. Gusev, Lydia V. Ektova, Zoya S. Shprakh

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

Contacts: Elena Vladimirovna Ignateva chem_pharm@ronc.ru

Background. The development of innovative national antitumor drugs remains an ultimately important task. Among the new drugs, which selectively affect tumors, indolo [2,3-a] carbazole – N-glycosides LCS-1208 and LCS-1269, synthesized using an original technique at the Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, are of essential interest. The paper presents possible options of instrumental analytical methods for identification of differences in the physical chemical features of structurally similar compounds LCS-1208 and LCS-1269. These methods may be used for establishing experimentally justified standards of quality for the standardization of the compounds as pharmaceutical substances.

Aim. To study the physical chemical features and to develop methods for the qualitative and quantitative analysis of LCS-1208 and LCS-1269.

Materials and methods. The study involved modern instrumental methods of analysis, such as polarimetry, ultraviolet spectroscopy, infrared spectroscopy, proton magnetic resonance spectroscopy, high performance liquid chromatography (HPLC), and HPLC with the tandem mass spectrometric detection (HPLC–MS/MS).

Results. Significant differences in the physical chemical features of the original N-glycosides LCS-1208 and LCS-1269 were determined using modern instrumental analytical methods.

The authors present the results verifying the structure of each of these compounds. The methods for qualitative and quantitative analysis of these compounds were developed in the study. The HPLC validation was performed for the LCS-1269 quantification method. The study showed the compliance of the obtained validation characteristics with the criteria approved by the Russian State Pharmacopoeia XV Ed and Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union. The authors determined the structure of impurities in LCS-1269 samples and proposed a method for their quantitative determination.

Conclusion. Structures of indolo [2,3-a] carbazole derivatives LCS-1208 and LCS-1269 were confirmed and shown to be reliably distinguishable. Impurity structures from the final LCS-1269 synthesis step were identified. HPLC methods for quantifying LCS-1208 and LCS-1269 were developed.

Keywords: indolo[2,3-a]carbazole N-glycosides, instrumental methods of analysis, related impurities, qualitative and quantitative analysis, standardization

For citation: Ignateva E.V., Yartseva I.V., Kozin D.A. et al. Instrumental methods in analytical studies of indolocarbazole derivatives with antitumor activity. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(2): 89–102. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-2-89-102>

Введение

Лечение онкологических заболеваний остается одной из актуальных проблем настоящего времени. Основными проблемами химиотерапевтического лечения являются развитие резистентности опухолевых клеток к применяемым противоопухолевым препаратам, ограниченный спектр действия и значительная токсичность [1]. В связи с этим разработка инновационных, эффективных и безопасных отечественных противоопухолевых средств остается крайне важной задачей.

Среди природных и синтетических гетероциклических соединений, способных подавлять рост опухолей, все большее внимание привлекают индоло [2,3-а] карбазолы – один из наиболее обширных и биологически значимых классов гетероциклических соединений. Экспериментальные исследования показывают, что соединения этого класса проявляют противоопухолевую активность при тестировании разными методами: при использовании клеточных культур линий опухолевых клеток человека и мышей в экспериментах *in vitro* и в опытах на животных *in vivo*. Соединения этого класса обладают свойствами мультитаргетных интеркаляторов ДНК и ремодуляторов хроматина, позволяющими одновременно иници-

ровать различные механизмы гибели опухолевых клеток [2–4]. Известна способность некоторых представителей этого семейства преодолевать множественную лекарственную устойчивость к химиотерапевтическим препаратам [2, 5].

В НИИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина получен ряд оригинальных производных индолокарбазола. Два представителя этого класса с лабораторными шифрами ЛХС-1208 и ЛХС-1269 продемонстрировали выраженные противоопухолевые свойства и привлекли повышенное внимание исследователей [6–8]. В ходе молекулярно-биологических испытаний показано, что оба соединения вызывают изменения в экспрессии генов, участвующих в процессах неопластической трансформации, а также воздействуют на гены-мишени сигнальных путей в раковых клетках. Несмотря на структурное сходство, каждое соединение обладает уникальной биологической активностью. Так, главной особенностью ЛХС-1208 является активное встраивание в ДНК и ингибирование топоизомераз I и IIα. Механизмы действия ЛХС-1269, наряду с интеркаляцией в ДНК, включают влияние на более высокие уровни, такие как ремоделирование хроматина и эпигенетические эффекты [9]. Выявленные биологические свойства делают

ЛХС-1208 и ЛХС-1269 перспективными для изучения в качестве противоопухолевых препаратов.

Обязательным этапом создания лекарственного средства (ЛС) для медицинского применения является изучение физико-химических свойств действующего вещества и разработка аналитических методик, на основе которых формируются экспериментально обоснованные требования к его качеству. Современные стандарты качества определяются Фармакопеей Евразийского экономического союза (ФЕАЭС)¹ и Государственной фармакопеей Российской Федерации (ГФ РФ)². В основе будущих исследований лежит определение целевого профиля качества (Quality Target Product Profile, QTPP), который задает основные характеристики будущего ЛС [10]. На базе установленного QTPP формируется спецификация, которая определяет критерии качества, перечень необходимых тестов и требования к их приемлемости и обычно включает такие разделы, как подтверждение подлинности, определение воды, органических и неорганических примесей, количественное определение и другие показатели. Для разработки аналитических методик, соответствующих спецификации, широко применяют современные инструментальные методы анализа: спектрофотометрию в ультрафиолетовой (УФ) и видимой областях, спектроскопию в ближней и средней инфракрасной областях (ИК), спектроскопию ядерного магнитного резонанса (ЯМР), масс-спектрометрию (МС), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), поляризацию, титриметрию и др. Эти методы уже давно стали неотъемлемой частью фармакопейного анализа, поскольку они удовлетворяют строгим требованиям, предъявляемым к определению специфичности и чувствительности, обеспечивают скорость проведения анализов, точность определения концентрации активных компонентов, при этом используется минимальное количество испытуемого вещества и химических реактивов [11]. К основным преимуществам инструментальных методов анализа относят снижение предела обнаружения определяемых веществ, возможность автоматизации анализа или некоторых его стадий, а также высокую информативность полученных данных. Применение таких методов позволяет получить ответы почти на все вопросы о структуре молекул и/или качественном и количественном составе исследуемого вещества.

Цель настоящего исследования — изучение физико-химических свойств и разработка методов качественного и количественного анализа ЛХС-1208 и ЛХС-1269.

Материалы и методы

Лабораторные образцы ЛХС-1208 и ЛХС-1269 получены в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Метод синтеза N-гликозидов индоло[2,3-a]пирроло [3,4-c]карбазол-5,7-диона подробно описан в работах [6, 8]. Для настоящего исследования образцы подвергали дополнительной очистке; содержание действующего вещества составило не менее 97 % (по данным ВЭЖХ). Физико-химические характеристики образцов (спектры протонного магнитного резонанса (ПМР), ультрафиолетовые (УФ), хроматографическая чистота) соответствуют описанным ранее [6, 8], что подтверждено сравнением образцов, полученных в разное время.

Реактивы: бромид калия IR grade (PIKE Technologies, США), диметилформамид (ДМФА) («Химмед», Россия), диметилсульфоксид (ДМСО) («Химмед», Россия), ДМСО-d₆ (Sigma-Aldrich, США), тетраметилсилан (Sigma-Aldrich, США), 95 % этиловый спирт («Константа-Фарм М», Россия), ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ (Merck, Германия), вода деионизованная, трифторуксусная кислота (Acros organics, Бельгия), муравьиная кислота 98 % (Acros organics, Бельгия), калибровочный раствор ESI Positive Calibration Solution for the SCIEX X500 System (AB Sciex Pte. Ltd, Сингапур), умбеллиферон (аналитический стандарт, Sigma-Aldrich, США).

Приборы и аппаратура: спектрофотометр Cary-100 (Varian, США); ИК-Фурье-спектрометр Nicolet-iS10 (детектор DTGS, светоделиватель KBr) (Thermo Scientific, США); поляриметр Unipol L (Unipol, США); ЯМР-спектрометр Bruker WH-500 (Bruker, Германия); жидкостной хроматограф Agilent 1260 Infinity II (Agilent, США), оснащенный диодно-матричным детектором, колонкой Poroshell 120 EC—C18 50 × 4,6 мм с сорбентом EC—C18 диаметром зерна 2,7 мкм; tandemный масс-спектрометр SCIEX X500R QTOF под управлением программного обеспечения SCIEX OS (Ver. 2.1.6.) (AB Sciex Pte. Ltd, Сингапур), весы аналитические Sartorius 2405 (Sartorius AG, Германия); автоматический титратор VD-20 (Mettler-Toledo, Швейцария); pH-метр HANNA pH 211 (HANNA Instruments, США).

В исследовании использованы методы: титриметрия, поляриметрия, УФ-спектрофотометрия, ИК- и ЯМР-спектроскопия, ВЭЖХ, tandemная масс-спектрометрия (МСМС).

Результаты и обсуждение

В НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина разработан синтез N-гликозидных производных индоло

¹Принята решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 11.08.2020 № 100 (ред. от 25.06.2024). URL: https://sudact.ru/law/reshenie-kollegii-evrazijskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-11082020_5/farmakopeia-evrazijskogo-ekonomicheskogo-soiuz/.

²URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>.

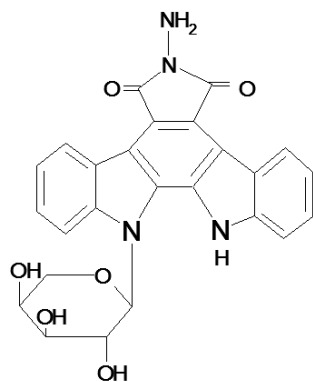
[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазол-5,7-диона ЛХС-1208 и ЛХС-1269 [7, 8]. Соединения содержат в качестве заместителя в пиррольном кольце амино- (ЛХС-1208) или -пиридин-2-карбосамидную группу (ЛХС-1269), а в качестве углеводного фрагмента в индольном цикле - α -L-арабинопиранозу или β -D-ксилопиранозу соответственно (рис. 1, 2). Главной структурной единицей этих соединений является крупный плоский гетероциклический каркас, который состоит из сопряженных индольного, карбазольного и пиррольного циклов, образующих единую ароматическую систему. Эта структура представляет собой отличный хромофор, поглощающий в УФ- и видимом спектрах, что придает соединениям яркую окраску в диапазоне от желтой до оранжевой.

ЛХС-1208 и ЛХС-1269 – это аморфные порошки, без запаха, ЛХС-1208 оранжевого, а ЛХС-1269 – желтого цвета. Они практически нерастворимы в воде, очень малорастворимы в этиловом спирте и умеренно растворимы в полярных апротонных растворителях, таких как ДМСО и ДМФА. Содержание воды, определенное титрованием по методу по К. Фишера, составляет до 1,0 % в ЛХС-1208 и до 3,0 % – в ЛХС-1269.

Важным инструментальным методом идентификации молекулярных структур является спектроскопия ЯМР³ [12]. Наиболее распространенный подвид ЯМР на ядрах ¹H – ПМР.

На рис. 3 представлены спектры ПМР лабораторных образцов ЛХС-1208 и ЛХС-1269, снятые в стандартных условиях. В спектре каждого соединения присутствуют характерные области сигналов:

- 10–12 м. д. – NH-протоны (имидная и гидразидная группы);



6-Амино-N-[12-(1- α -L-арабино-пиранозил)индо[2,3а]-пирроло-[3,4-с] карбазол-5,7-дион / 6-Amino-N-[12-(1- α -L-arabinopyranosyl)]indolo[2,3a]-pyrrolo-[3,4-c]carbazole-5,7-dione

Рис. 1. ЛХС-1208

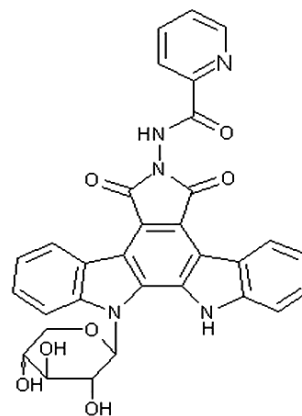
Fig. 1. LCS-1208

- 7–10 м. д. – ароматические протоны индолокарбазольного ядра;
- 3–6.5 м. д. – протоны углеводного остатка.

Картина спектра для каждого соединения стабильно воспроизводится на разных сериях образцов и позволяет надежно различать ЛХС-1208 и ЛХС-1269. Полученные спектры ПМР соответствуют данным, ранее опубликованным для этих соединений в работах [6, 8], где приведено детальное отнесение сигналов и доказательство аномерной конфигурации. В настоящей работе спектры ПМР используются как метод идентификации подлинности («отпечаток пальца») для целей фармацевтического контроля.

Широко применяемым методом идентификации веществ различной химической природы является ИК-спектроскопия. Применение ИК-спектров основано на использовании характеристических полос поглощения, связанных с колебаниями атомов в индивидуальных химических связях молекул. Наиболее часто в аналитических целях используют среднюю (4000–400 см⁻¹) ИК-область. Практика применения ИК-спектроскопии подтверждает, что не существует 2 соединений с различной структурой (за исключением оптических изомеров), но идентичными ИК-спектрами [13].

ИК-спектры ЛХС-1208 и ЛХС-1269 приведены на рис. 4. Они практически совпадают в области 3600–2500 см⁻¹ (валентные колебания атомов водорода в связях С–Н, О–Н, N–Н). Оба спектра содержат выраженные полосы поглощения в области 1780–1600 см⁻¹, соответствующие карбонильным группам



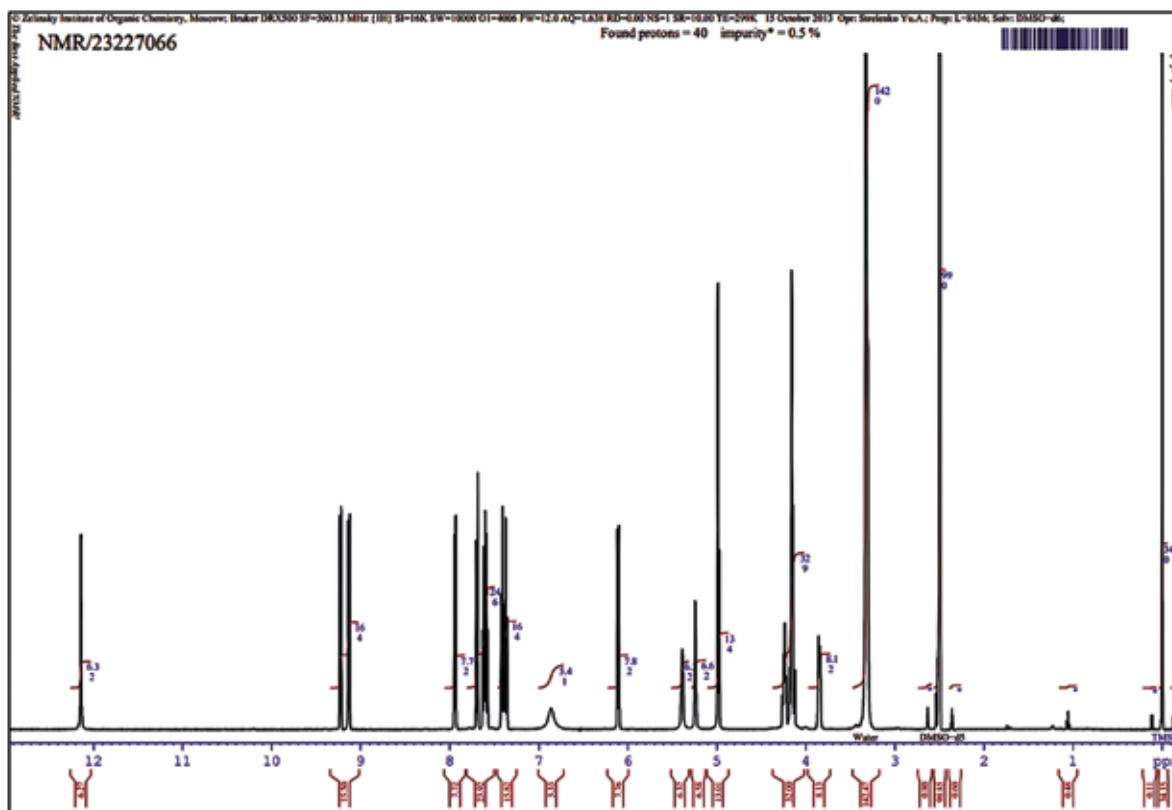
N-[12-(1- β -D-ксилопиранозил)индо[2,3а]-пирроло-[3,4-с] карбазол-5,7-дион-6-ил]-пиридин-2-карбосамид / N-[12-(1- β -D-xylopyranosyl)]indolo[2,3a]-pyrrolo-[3,4-c]carbazole-5,7-dione-6-yl-pyridine-2-carboxamide

Рис. 2. ЛХС-1269

Fig. 2. LCS-1269

³ФЕАЭС ОФС 2.2.33 «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса».

a



б

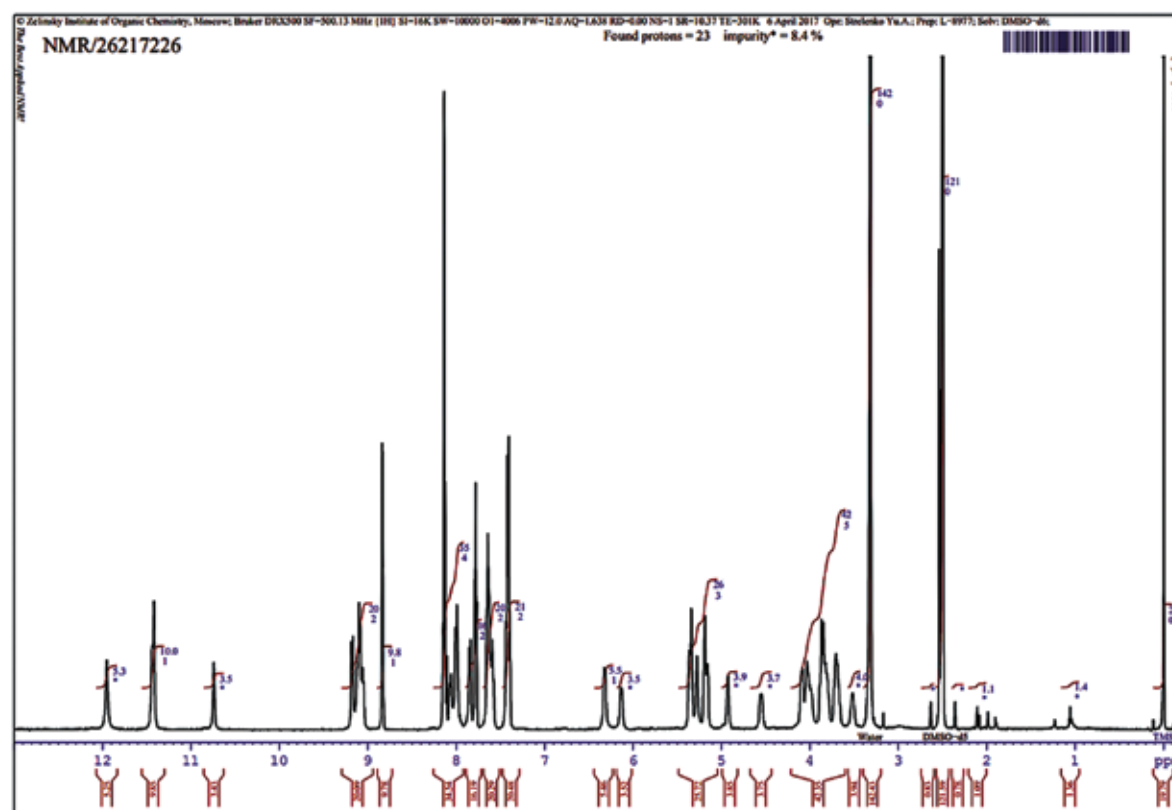


Рис. 3. Спектроскопия протонного магнитного резонанса в диметилсульфоксиде-d6: а – ЛХС-1208; б – ЛХС-1269

Fig. 3. Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy in dimethyl sulfoxide-d6: а – LCS-1208; б – LCS-1269

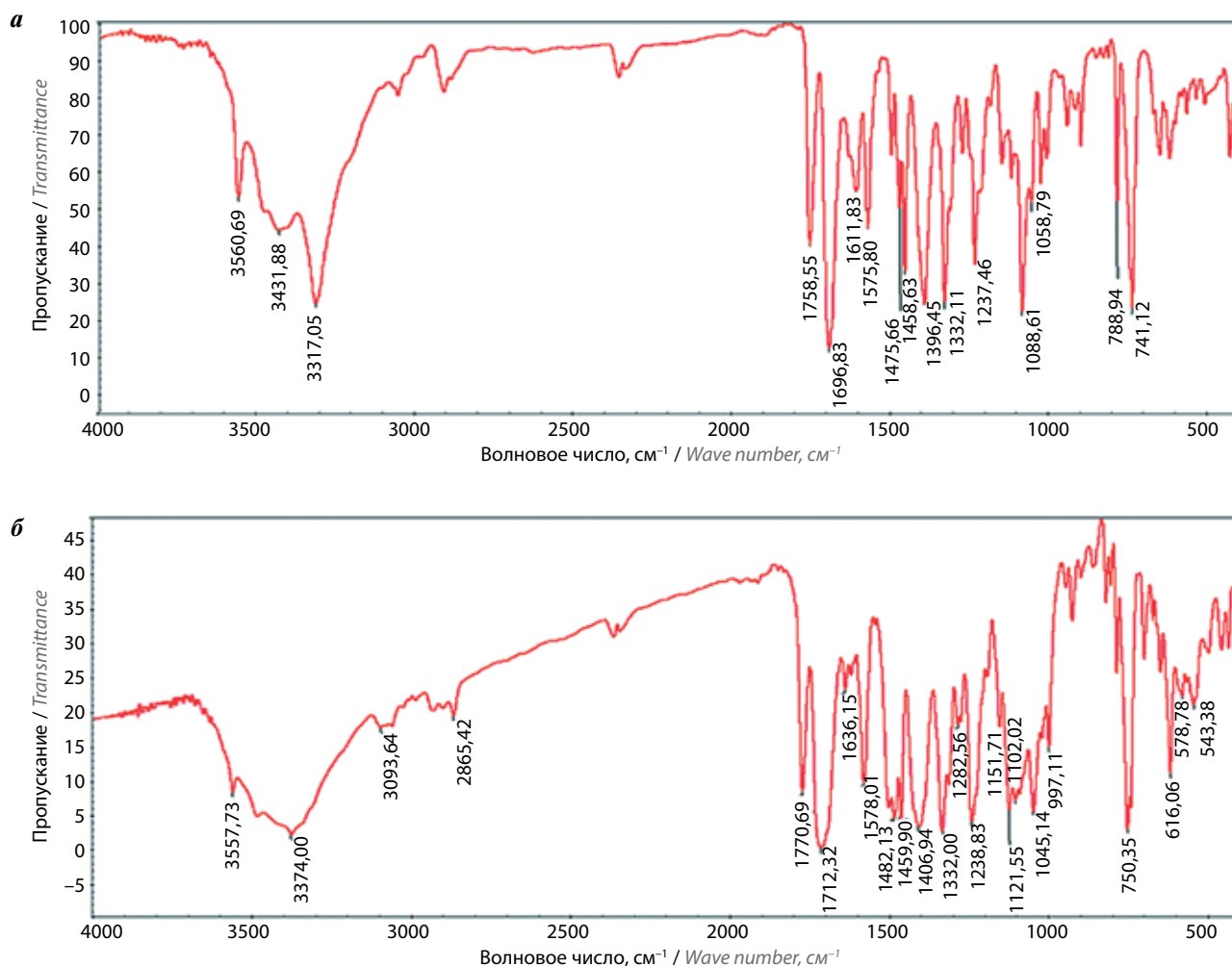


Рис. 4. Инфракрасные спектры в бромиде калия: а – ЛХС-1208; б – ЛХС-1269

Fig. 4. Infrared spectra in potassium bromide: а – LCS-1208; б – LCS-1269

($\text{C}=\text{O}$), которые отличаются по положению и интенсивности сигнала. Основные различия по положению, форме и интенсивности сигналов наблюдаются в низкочастотном интервале $1150\text{--}1000\text{ см}^{-1}$ и $950\text{--}900\text{ см}^{-1}$ (область отпечатков пальцев). ИК-спектры ЛХС-1208 и ЛХС-1269 индивидуальны, имеют ряд характеристических полос пропускания и могут быть использованы для подтверждения подлинности обоих соединений.

Присутствие в структуре производных индолакарбазола большого количества сопряженных π -связей позволяет применять метод УФ-спектрофотометрии для идентификации этих соединений, а также для количественного анализа ЛС на их основе [14–16].

Электронные спектры поглощения (ЭСП) свежеприготовленных $0,0004\%$ растворов ЛХС-1208 и ЛХС-1269 в ДМФА в области от 200 до 500 нм представлены на рис. 5. На ЭСП обоих соединений совпадают положения основных максимумов при длинах волн (λ) 286 ± 2 и 319 ± 2 нм и слабо интенсивного

максимума (λ 405–413 нм); очень близки положения перегибов и минимумов. Присутствие в пиррольном кольце агликона ЛХС-1269 еще одного заместителя с ароматическим кольцом (пиридин-2-карбосамидной группы) проявляется в увеличении отношения величины оптической плотности в максимумах поглощения A_{319}/A_{286} – $1,4 \pm 0,1$ (ЛХС-1208) и $1,9 \pm 0,1$ (ЛХС-1269). Различаются также значения удельного показателя поглощения $A_{1\%}^{1\text{см}}$: 1050 ± 20 и 1080 ± 20 для ЛХС-1208 и ЛХС-1269 соответственно. Таким образом, ЭСП могут служить идентификационной характеристикой этих соединений.

Исследование ЭСП растворов ЛХС-1208 и ЛХС-1269 в диапазоне концентраций от 0,003 до 0,010 мг/мл показало прямую зависимость интенсивности поглощения от концентрации вещества в растворе для максимумов при длинах волн 286 ± 2 и 319 ± 2 нм. Наиболее интенсивный из них при 319 ± 2 нм может быть выбран в качестве аналитического при количественном анализе ЛС методом спектрофотометрии [15].

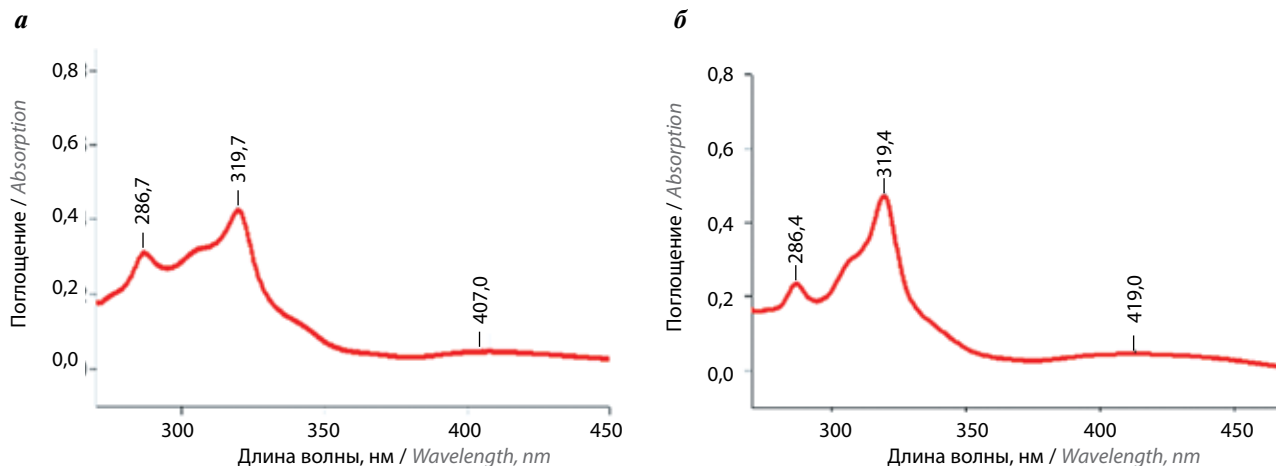


Рис. 5. Электронные спектры поглощения: а – ЛХС-1208; б – ЛХС-1269 (0,0004 % раствор в *N, N*-диметилформамиде)

Fig. 5. Electronic absorption spectra: а – LCS-1208; б – LCS-1269 (0.0004 % solution in *N, N*-dimethylformamide)

Одним из популярных инструментальных методов фармакопейного анализа является поляриметрия⁴ [10, 11]. Оптическая активность служит чувствительным индикатором изменений в строении вещества и позволяет получать ценную информацию о природе заместителей, их конформациях, внутреннем вращении и других аспектах структуры. Благодаря присутствию в исследуемых гликозидах углеводных фрагментов изучаемые соединения являются оптически активными веществами.

Измерения угла оптического вращения плоскости поляризации монохроматического света проводили для установления экспериментально обоснованных норм качества и стандартизации этих соединений как фармацевтических субстанций. Анализ выполняли для 1 % растворов в апротонном растворителе – *N, N*-диметилформамиде в соответствии с ОФС. 1.2.1.0018.15 «Поляриметрия» [11]. ДМФА выбран в качестве растворителя, поскольку исследуемые соединения практически нерастворимы в воде. Измерения проводили на серии образцов каждого *N*-гликозида, полученных в разное время, с содержанием основного вещества 97–99 %.

Несмотря на разную стереохимию углеводных остатков, оба вещества в выбранных условиях имеют положительный угол вращения. Величины удельного вращения $[\alpha]_{D_m}^{20}$ близки и лежат в узком интервале от 58 до 61° для ЛХС-1208 и от 59 до 62° – для ЛХС-1269. Разброс значений в пределах 1–3° обусловлен вариативностью разных серий синтеза (содержание основного вещества – 97–99 %) и находится в пределах погрешности метода. Интервалы перекрываются,

что не позволяет отличить ЛХС-1208 и ЛХС-1269 методом поляриметрии. Однако каждый интервал может служить характеристикой подлинности соответствующей субстанции (например, для подтверждения отсутствия случайных примесей, сильно влияющих на оптическое вращение).

Ни один из инструментальных методов не был внедрен в фармацевтический анализ так быстро и не получил такого распространения, как ВЭЖХ. Информация, полученная с его помощью, вместе с дополнительными данными, подтверждающими структуру исследуемого вещества, может служить доказательством его подлинности, позволяет обнаружить примеси в анализируемом образце и точно определить в нем количественное содержание компонентов. Основным критерием подлинности при этом служит время удерживания, фиксируемое детектором, от момента ввода пробы в колонку до момента выхода искомого вещества из колонки (retention time, RT) [17, 18].

Анализ образцов ЛХС-1208 и ЛХС-1269 проводили методом обращенно-фазовой хроматографии на аналитическом жидкостном хроматографе с диодно-матричным детектором при длине волны 315 ± 5 нм. Время анализа занимало примерно 6 мин; RT для ЛХС-1208 равнялось $2,8 \pm 0,1$ мин, для ЛХС-1269 – $3,6 \pm 0,1$ мин (условия хроматографирования приведены далее).

На рис. 6 представлены хроматограммы образцов ЛХС-1208 и ЛХС-1269. На хроматограмме образца ЛХС-1208 (рис. 6, а) присутствует 1 пик с RT $2,8 \pm 0,1$ мин. В отдельных образцах ЛХС-1208 обнаружены

⁴См.: https://sudact.ru/law/reshenie-kollegii-evraziiskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-11082020_5/farmakopeia-evraziiskogo-ekonomicheskogo-soiuz/; <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>.

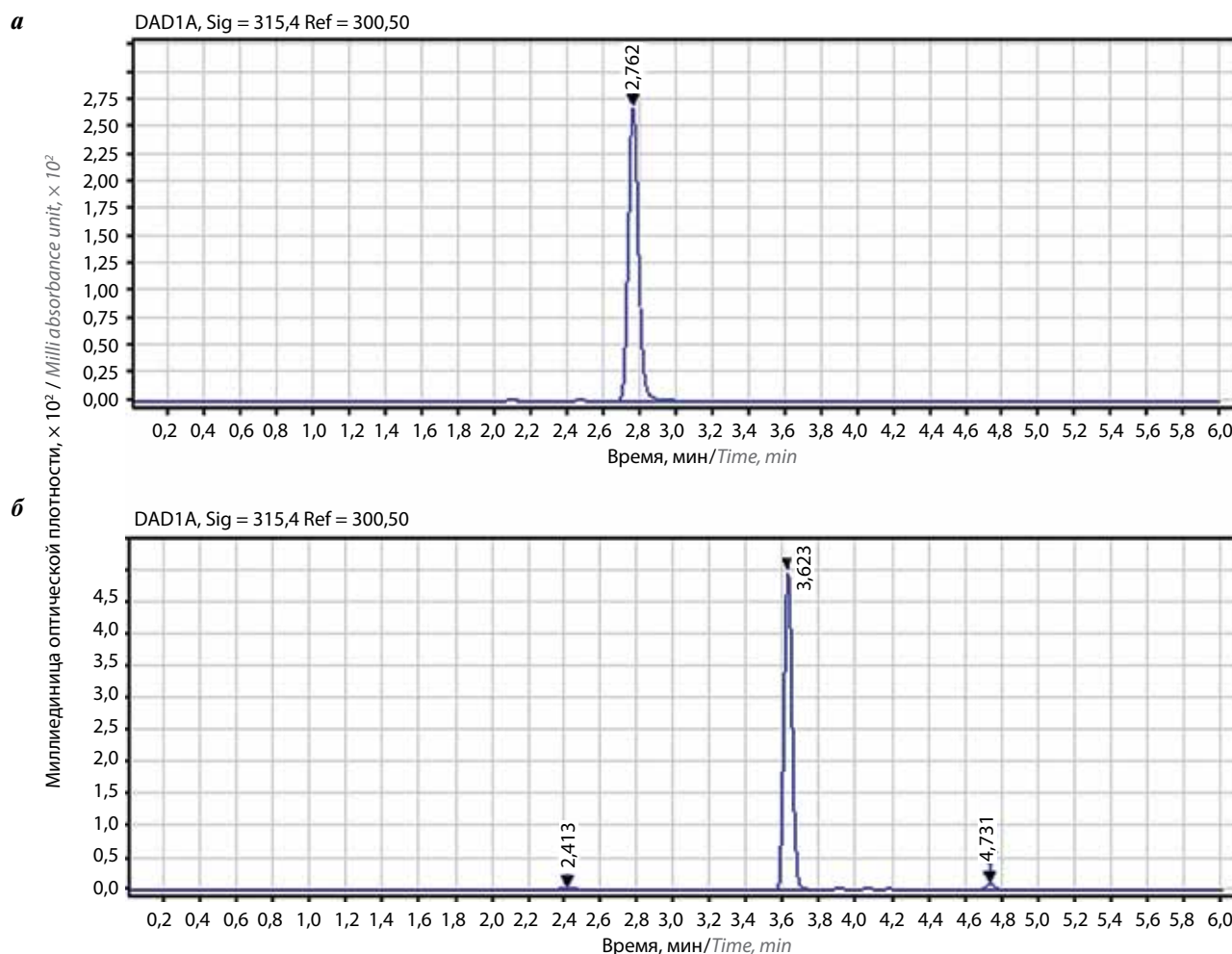


Рис. 6. Хроматограммы: а – ЛХС-1208; б – ЛХС-1269

Fig. 6. Chromatograms: а – LCS-1208; б – LCS-1269

неидентифицированные примеси, суммарное содержание которых не превышало 1,0 % (метод внутренней нормализации).

На хроматограмме ЛХС-1269 (рис. 6, б) помимо основного пика с RT 3,6 мин присутствуют две примеси, условно обозначенные как примесь X (RT 2,4 мин) и примесь Y (RT 4,7 мин). Содержание примесей в изученных образцах не превышало 0,5 и 1,1 % для примесей X и Y соответственно.

В ходе ВЭЖХ-анализа получены ЭСП примесей ЛХС-1269-X (рис. 7, а) и ЛХС-1269-Y (рис. 7, б). ЭСП ЛХС-1269-X по положению максимумов поглощения близок к спектру ЛХС-1208, а ЭСП ЛХС-1269-Y – к спектру ЛХС-1269, т. е. примеси в ЛХС-1269 являются производными индоло[2,3-а]пирроло-[3,4-с]-карбазол-5,7-диона.

Структуры примесей установили методом ВЭЖХ с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) [19]. Показано, что ЛХС-1269-X представляет собой 6-амино-12-(β-D-ксило-

пиранозил)индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с] карбазол-5,7-дион, образующийся в качестве побочного продукта на финальной стадии синтеза ЛХС-1269. А примесь ЛХС-1269-Y является три-О-ацетатом ЛХС-1269 по гидроксильным группам углеводного остатка – исходным соединением на последней стадии синтеза ЛХС-1269 (рис. 8).

Метод ВЭЖХ использовали также для количественного определения действующего вещества. Содержание ЛХС-1208 в образцах рассчитывали методом внутренней нормализации, а для ЛХС-1269 разработали методику с использованием умбеллиферона (7-гидроксикумарина) в качестве внутреннего стандарта. Он коммерчески доступен, в анализируемых образцах полностью отсутствуют вещества, подобные ему по структуре, и он обладает близким к индолокарбазолам максимумом поглощения в УФ-диапазоне.

Анализ образцов ЛХС-1269 проводили методом обращенно-фазовой хроматографии при длине

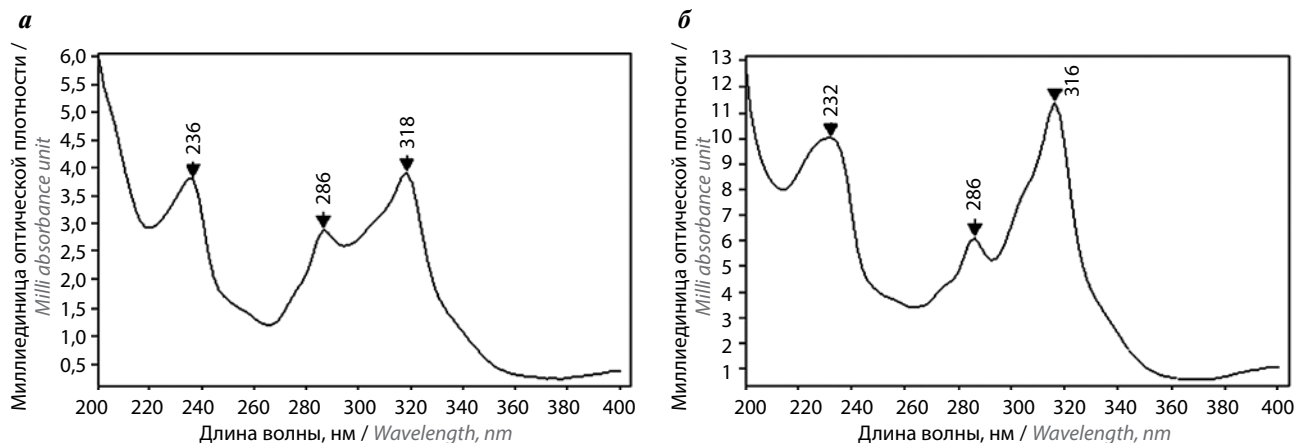


Рис. 7. Электронные спектры поглощения примесей: а – ЛХС-1269-Х; б – ЛХС-1269-У

Fig. 7. Electronic absorption spectra of impurities: a – LCS-1269-X; б – LCS-1269-Y

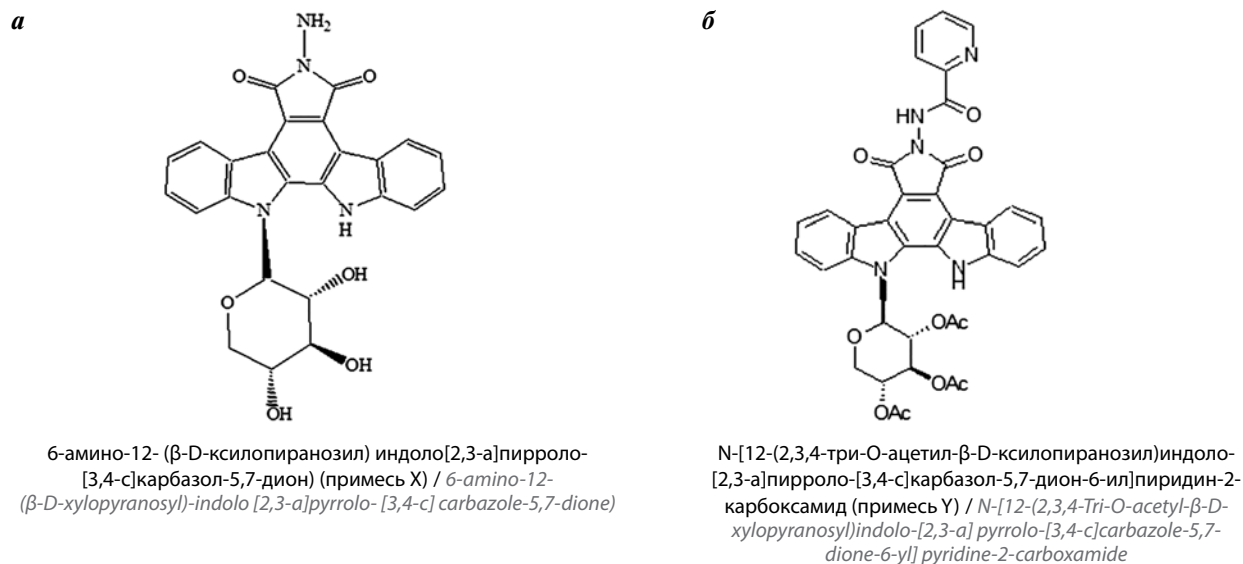


Рис. 8. Примеси: а – ЛХС-1269-Х; б – ЛХС-1269-У

Fig. 8. Impurities: a – LCS-1269-X; б – LCS-1269-Y

волны 315 ± 5 нм в градиентном режиме, используя в качестве подвижной фазы (ПФ) А 0,1 % раствор трифторуксусной кислоты в воде, ПФ Б – ацетонитрил. Температура колонки – 40 ± 2 °С; объем вводимой пробы – 5 мкл, скорость потока – 0,5 мл/мин; градиент: от 0,0 мин – 65 % ПФ А и 35 % ПФ Б; 3,0 мин 10 % ПФ А и 90 % ПФ Б; 6,0 мин – 5 % ПФ А и 95 % ПФ Б. Время анализа не превышало 6 мин. RT умбеллиферона составило $1,4 \pm 0,1$ мин, RT ЛХС-1269 – $3,6 \pm 0,1$ мин.

Хроматограмма испытуемого раствора ЛХС-1269 приведена на рис. 9.

По данным проведенного анализа, содержание ЛХС-1269 в изученных образцах составляло не менее 98,4 %, а сумма примесей не превышала 1,6 %.

В соответствии с требованиями ГФ РФ XV и ФЕАЭС методика количественного определения ЛХС-1269 с применением умбеллиферона в качестве внутреннего стандарта валидирована (табл. 1).

Критерии и параметры качества ЛХС-1208 и ЛХС-1269, определенные инструментальными методами, приведены в табл. 2.

Заключение

В настоящее время разработка новых ЛС невозможна без применения совокупности инструментальных методов исследования, позволяющих изучить структуру молекул, определить качественный и количественный составы вещества и различить даже очень близкие по структуре соединения.

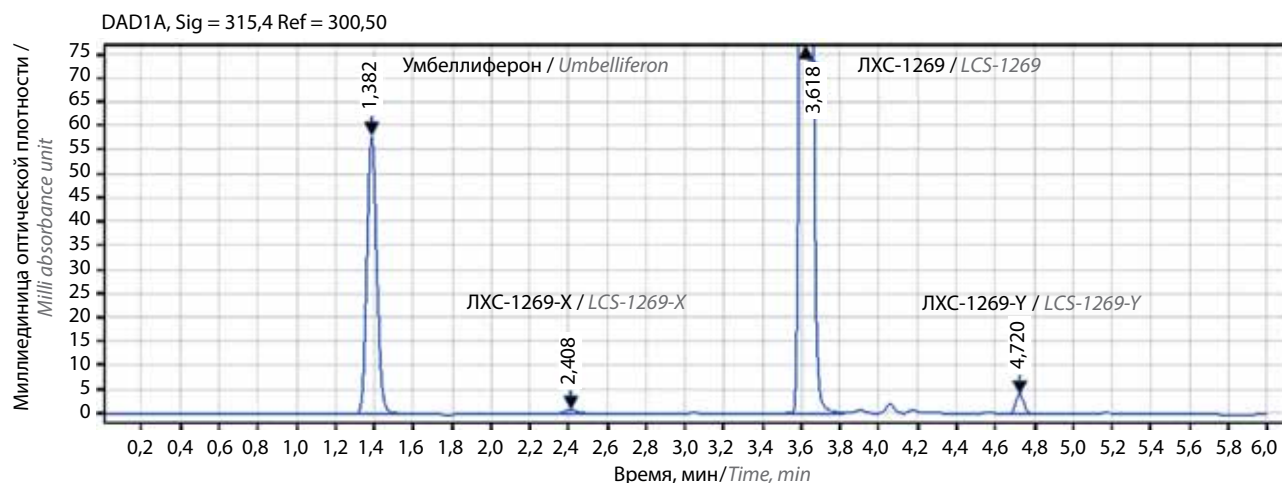


Рис. 9. Хроматограмма раствора ЛХС-1269 с внутренним стандартом умбеллифероном

Fig. 9. Chromatogram of the solution of LCS-1269 with umbelliferone as the internal standard

Таблица 1. Результаты валидации ВЭЖХ-методики определения ЛХС-1269 с применением умбеллиферона в качестве внутреннего стандарта

Table 1. Results of the validation of the HPLC techniques for the determination of LCS-1269 in a substance using umbelliferone as an internal standard

Валидационная характеристика Validation characteristics	Принятый критерий Accepted criteria	Результат Result
Специфичность Specificity	Растворитель и ПФ не влияют на результаты анализа. На хроматограмме присутствуют пики, по расположению и времени удерживания соответствующие пикам умбеллиферона, примеси X, ЛХС-1269 и примеси Y The solvent and MP do not affect the analytical results. Peaks corresponding to the retention times of umbelliferone, impurity X, LCS-1269, and impurity Y are present on the chromatogram	Результаты соответствуют требованиям The results meet the requirements
Линейность Linearity	Коэффициент корреляции (r) не менее 0,99 The correlation coefficient (r) is at least 0.99	Уравнение линейной зависимости Equation of linear dependence $y = 13,673x + 207,08$
	Предел обнаружения Detection limit	Коэффициент корреляции The correlation coefficient 0,9967
	Предел количественного определения Quantitative determination limit	0,95 мкг/мл 0.95 mcg/ml
Правильность Correctness	Относительная ошибка среднего результата не более 2,0 % в диапазоне концентраций от 80 до 120 % от рабочей концентрации анализируемого вещества. Значения, принимаемые за истинные, должны лежать внутри доверительного интервала The relative error of the average result is no more than 2.0 % in the concentration range from 80 to 120 % of the working concentration of the analyzed substance. Values taken as true should lie within the confidence interval	2,9 мкг/мл 2.9 mcg/ml
	Относительное стандартное отклонение среднего результата (коэффициент вариации) не более 2 % The relative standard deviation of the average result (coefficient of variation) does not exceed 2 %	Относительная ошибка среднего результата 0,5 Elative error of the average result 0.5
Прецизионность (сходимость) Precision (convergence)		Результаты лежат внутри доверительного интервала (100,4 ± 0,5) The results lie within the confidence interval (100.4 ± 0.5)
		0,03

Окончание табл. 1

The end of table 1

Валидационная характеристика Validation characteristics	Принятый критерий Accepted criteria	Результат Result
Прецизионность (внутрилабораторная прецизионность) Precision (intra-laboratory precision)	Относительное стандартное отклонение среднего результата (коэффициент вариации) не более 2 % The relative standard deviation of the average result (coefficient of variation) does not exceed 2 %	1 исследователь 0,03 2 исследователь 0,02 1 researcher 0.03 2 researchers 0.02 $t_{\text{рас}} = 0,81 < t_{\text{таб}} = 2,37$
Диапазон аналитического метода Range of the analytical method	80–120 % от номинального содержания 80–120 % of the nominal content	Методика линейна, обеспечена приемлемой правильностью и прецизионностью в пределах аналитической области The method is linear, ensuring acceptable accuracy and precision within the analytical range
Робастность (устойчивость) Robustness (stability)	Изменение RT пиков в диапазоне не более 15 %: при изменении скорости потока подвижной фазы на ± 10 %; при изменении температуры колонки на ± 3 °C The change in RT peaks in the range of no more than 15 %: when the flow velocity of the mobile phase changes by ± 10 %; when the column temperature changes by ± 3 °C	Методика устойчива: изменение RT-пиков не более 10 %; изменение RT-пиков не более 0,6 % The technique is stable. the change in RT peaks is not more than 10 %; the change in RT peaks is no more than 0.6 %

Примечание. Здесь и в табл. 2: ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография.

Note. Here and in Table 2: HPLC — high-performance liquid chromatography.

Таблица 2. Показатели качества ЛХС-1208 и ЛХС-1269, определенные инструментальными методами

Table 2. LCS-1208 and LCS-1269 quality indicators, determined by instrumental methods

Показатель Indicator	ЛХС-1208 LCS-1208	ЛХС-1269 LCS-1269
Идентификация: А. Инфракрасная спектроскопия Identification: A. Infrared spectroscopy	Индивидуальны для каждого соединения Individual for each substance	
Б. ВЭЖХ, время удерживания, мин HPLC, retention time, min	2,8 $\pm$ 0,1	3,6 $\pm$ 0,1
В. Спектрофотометрия Spectrophotometry	Электронные спектры поглощения 0,0004 % растворов ЛХС-1208 и ЛХС-1269 в N, N-диметилформамиде в области от 200 до 500 нм имеют максимумы поглощения при 286 $\pm$ 2 и 319 $\pm$ 2 нм, слабо интенсивный максимум при 407 $\pm$ 10 нм The electronic absorption spectra 0.0004 % solutions of LCS-1208 and LCS-1269 in N, N-dimethylformamide in the range from 200 to 500 nm have absorption maxima at 286 $\pm$ 2 and 319 $\pm$ 2 nm, with a weak intensity maximum at 407 $\pm$ 10 nm	
A_{319}/A_{286}	1,4 $\pm$ 0,1	1,9 $\pm$ 0,1
Удельный показатель поглощения Specific absorbance	1050 $\pm$ 20	1080 $\pm$ 20
Удельное вращение (1 % раствор в N, N-диметилформамиде), ° Specific rotation (1 % solution in N, N-dimethylformamide), °	58–61	59–62

Окончание табл. 2

The end of table 2

Показатель Indicator	ЛХС-1208 LCS-1208	ЛХС-1269 LCS-1269
Вода (метод К. Фишера), % Water (K. Fischer method), %	Не более 1,0 No more than 1,0	Не более 3,0 No more than 3,0
Родственные примеси, ВЭЖХ, % Related impurities, HPLC, %	Сумма примесей не более 1,0 The total impurities do not exceed 1.0	Примесь X не более 0,5 Примесь Y не более 1,1 Сумма примесей не более 1,6 Impurity X no more than 0.5 Impurity Y no more than 1.1 Total impurities no more than 1.6
Количественное содержание, ВЭЖХ, % (в пересчете на безводное вещество) Assay, HPLC, % (in terms of anhydrous substance)	Не менее 99,0 Not less than 99.0	Не менее 98,4 Not less than 98.4

Гликозидные производные индоло[2,3a]-пирроло[3,4-с] карбазол-5,7-диона ЛХС-1208 и ЛХС-1269 являются перспективными соединениями для разработки новых противоопухолевых лекарств. С помощью современных инструментальных методов, основанных на способности веществ вращать плоскость поляризации линейно поляризованного света, поглощать электромагнитное излучение в широком диапазоне длин волн, адсорбционных свойствах на поверхности твердого адсорбента и разделении заряженных частиц по соотношению массы к заряду (m/z), определены физико-химические характеристики производных индолокарбазола

ЛХС-1208 и ЛХС-1269. Структура каждого соединения подтверждена, и продемонстрирована достоверная возможность надежного различения этих веществ. Установлены структуры примесей, образующихся на последнем этапе синтеза ЛХС-1269.

Разработаны ВЭЖХ-методики количественного определения производных индолокарбазола ЛХС-1208 и ЛХС-1269. Валидация методики количественного определения ЛХС-1269 показала, что метрологические характеристики (линейность, правильность, сходимость, прецизионность, робастность) соответствуют валидационным критериям, утвержденным фармакопеями ЕАЭС и ГФ РФ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Трякин А.А., Бесова Н.С., Волков Н.М. и др. Общие принципы проведения противоопухолевой лекарственной терапии. Практические рекомендации RUSSCO, часть 1. Злокачественные опухоли 2023;13:28–41.
DOI: 10.18027/2224-5057-2023-13-3s2-1-28-41
Tryakin A.A., Besova N.S., Volkov N.M. et al. General principles of antitumor drug therapy. Practical recommendations RUSSCO, part 1. Malignant tumors 2023;13:28–41. (In Russ.).
DOI: 10.18027/2224-5057-2023-13-3s2-1-28-41
- Зенков Р.Г., Эктова Л.В., Власова О.А. и др. Индоло[2,3-а] карбазолы: разнообразие, биологические свойства. Химия гетероциклических соединений 2020;56(6):644–58.
Zenkov R.G., Ektova L.V., Vlasova O.A. et al. Chem. Indolo[2,3-a]carbazoles: diversity and biological properties. Chem Heterocycl Compd 2020;56(6):644–58. (In Russ.).
- Janosik T., Rannug A., Rannug U. et al. Chemistry and properties of indolocarbrazoles. Chem Rev 2018;118(18):9058–128.
DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00186.
- Wang J., Jin W., Zhou X. et al. Identification, structure-activity relationships of marine-derived indolocarbrazoles, and a dual PKC θ / δ inhibitor with potent antipancratic cancer efficacy. J Med Chem 2020;63(21):12978–91.
DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c01271
- Киселева М.П., Покровский В.С., Татарский В.В. и др. Производные индолокарбазолов – перспективный класс противоопухолевых препаратов. Российский биотерапевтический журнал 2018;17(4):20–6.
DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-20-26
Kiseleva M.P., Pokrovsky V.S., Tatarskiy V.V. et al. Indolocarbrazole derivatives – a promising class of anticancer drugs. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2018;17(4):20–6. (In Russ.).
DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-20-26
- Эктова Л.В., Еремина В.А., Тихонова Н.И. и др. Синтез и цитотоксическая активность N-гликозидов индоло[2,3-а] пирроло[3,4-с]карбазол-5,7-дионов, замещенных

- по малеимидному атому азота. Химико-фармацевтический журнал 2020;54(5):26–9. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-5-26-29
- Ektova L.V., Eremina V.A., Tikhonova N.I. et al. Synthesis and cytotoxicity of N-glycosides of indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-diones substituted at the maleimide nitrogen atom. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Chemical and Pharmaceutical Journal* 2020;54(5):26–9. (In Russ.). DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-5-26-29
7. Борисова Л.М., Голубева И.С., Горюнова О.В. и др. N-гликозиды индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с] кабазолов, обладающие противоопухолевой активностью. Патент РФ №2548045 C1, 10.04.2015. Бюл. №10.
Borisova L.M., Golubeva I.S., Goryunova O.V. et al. N-glycosides of indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazoles with antitumor activity. RU2548045 C1, 10.04.2015. Byll. No. 10. (In Russ.).
 8. Голубева И.С., Еремина В.А., Моисеева Н.И. и др. Производное класса N-гликозидов индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с] карбазол-5,7-дионов – N-{2-(β-d-ксило-пиранозил)-5,7-диоксоиндоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазол-6-ил}пирдин-2-карбоксамид, обладающее цитотоксической и противоопухолевой активностью. Патент РФ №2667906 C1, 25.09.2018. Бюл. №27.
Golubeva I.S., Eremina V.A., Moiseeva N.I. et al. A derivative of N-glycosides of indolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7-diones – N-{2-(β-d-xylo-pyranosyl)-5,7-dioxoindolo[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-6-yl}pyridine-2-carboxamide, exhibiting cytotoxic and antitumor activity. RU2667906 C1, 25.09.2018. Byll. No. 27. (In Russ.).
 9. Zenkov R.G., Vlasova O.A., Maksimova V.P. et al. Molecular mechanisms of anticancer activity of N-glycosides of indolocarbazoles LCS-1208 and LCS-1269. *Molecules* 2021;26(23):7329. DOI: 10.3390/molecules26237329
 10. Shprakh Z. Formulation of somatostatin analog tablets using quality by design approach. *J Appl Pharm Sci* 2021;11(04):96–105. DOI: 10.7324/JAPS.2021.110412
 11. Козин Д.А., Шпрах З.С., Решетняк В.Ю. и др. Производные индоло[2,3-а]карбазола, обладающие противоопухолевой активностью, и инструментальные методы их исследования (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств 2020;9(4):128–35. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-4-128-135
Kozin D.A., Shprakh Z.S., Reshetnyak V.Yu. et al. Indolo[2,3-a]carbazole derivatives with antitumor activity and instrumental methods for their investigation (review). *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug Development & Registration* 2020;9(4):128–35. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-4-128-135
 12. Моисеев С.В., Кузьмина Н.Е., Лутцева А.И. Метод ЯМР в отечественной и зарубежных фармакопеях для оценки качества лекарственных средств. Вестник научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств 2022;12(1):8–23. DOI: 10.30895/1991-2919-2022-12-1-8-23
Moiseev S.V., Kuz'mina N.E., Luttseva A.I. NMR as used in the Russian and foreign pharmacopoeias for quality control of medicinal products. *Vedomosti nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniia. Regulaturnye issledovaniia i ekspertiza lekarstvennykh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation* 2022;12(1):8–23. (In Russ.). DOI: 10.30895/1991-2919-2022-12-1-8-23
 13. Cui T, Lin S, Wang Z. et al. Cytotoxic Indolocarbazoles from a marine derived *Streptomyces* sp. OUCMDZ-5380. *Front Microbiol* 2022;13:957473. DOI: 10.3389/fmicb.2022.957473
 14. Игнатъева Е.В., Ярцева И.В., Шпрах З.С. и др. Стандартизация фармацевтической субстанции препарата ЛХС-1208. Разработка и регистрация лекарственных средств 2021;10(3):88–94. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-3-88-94
Ignatieva E.V., Yartseva I.V., Shprakh Z.S. et al. Standardization of the pharmaceutical substance of the drug LCS-1208. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Development and Registration of Medicines* 2021;10(3):88–9. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-3-88-94
 15. Игнатъева Е.В., Ярцева И.В., Шпрах З.С. и др. Количественное определение N-гликозидного производного замещенного индоло[2,3a]карбазола в инновационных лекарственных формах. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(3):61–71. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-3-61-71
Ignatieva E.V., Yartseva I.V., Shprakh Z.S. et al. Quantitative determination of the N-glycoside derivative of substituted indolo[2,3a]carbazole in innovative dosage forms. *Rossiiskij bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2022;21(3):61–71. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-3-61-71
 16. Ланцова А.В., Санарова Е.В., Оборотова Н.А. и др. Разработка технологии получения инъекционной лекарственной формы на основе отечественной субстанции производной индолокарбазола ЛХС-1208. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(3):25–32. DOI: 10.17650/1726-9784-2014-13-3-25-32
Lantsova A.V., Sanarova E.V., Oborotova N.A. et al. Development of technology for obtaining an injectable dosage form based on the original substance indolocarbazole derivative LCS-1208. *Rossiiskij bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2014;13(3):25–32. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2014-13-3-25-32
 17. Шпрах З.С., Игнатъева Е.В., Козин Д.А. Сравнительный анализ методов количественного определения производного индолокарбазола ЛХС-1269 в лекарственной форме. Химико-фармацевтический журнал 2024;58(12):45–9. DOI: 10.30906/0023-1134-2024-58-12-45-49
Shprakh Z.S., Ignatieva E.V., Kozin D.A. Comparative analysis of methods for the quantitative determination of indolocapbazole derivative LHS-1269 in dosage form. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Chemical and Pharmaceutical Journal* 2024;58(12):45–9. (In Russ.). DOI: 10.30906/0023-1134-2024-58-12-45-49
 18. Снайдер Л.Р. Введение в современную жидкостную хроматографию. В кн.: Снайдер Л.Р., Кирклэнд Дж.Дж., Долан Д.У. М.: Техносфера, 2020. 960 с.
Snyder L.R. Introduction to modern liquid chromatography. Snyder L.R., Kirkland J.J., Dolan D.W. Moscow: Tekhnosfera, 2020. 960 p. (In Russ.).
 19. Козин Д.А., Шпрах З.С., Будько А.П. и др. Идентификация примесей в фармацевтической субстанции методом ВЭЖХ-МСМС. Медико-фармацевтический журнал «Пульс» 2023;25(1):78–82. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2023-25-1-78-82
Kozin D.A., Shprakh Z.S., Budko A.P. et al. Identification of impurities in pharmaceutical substances by HPLC-MSMS. *Medical Pharmaceutical Journal "Pulse"* 2023;25(1):78–82. (In Russ.). DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2023-25-1-78-82

Вклад авторов

Е.В. Игнатьева: выполнение экспериментов, анализ полученных данных, написание текста статьи;
И.В. Ярцева: анализ полученных данных, написание текста статьи, оформление статьи;
Д.А. Козин: выполнение экспериментов, анализ полученных данных, оформление статьи;
Д.В. Гусев: синтез образцов ЛХС-1269, написание текста статьи;
Л.В. Эктова: синтез образцов ЛХС-1208, ЛХС-1269 и примесей;
З.С. Шпрах: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста статьи, редактирование статьи.

Author's contributions

E.V. Ignateva: performing of experiments, analysis of the obtained data, writing the text of the article;
I.V. Yartseva: analysis of the obtained data, writing the text of the article, article design;
D.A. Kozin: performing of experiments, analysis of the obtained data, article design;
D.V. Gusev: synthesis of LCS-1269 and its impurities, writing the text of the article;
L.V. Ektova: synthesis of LCS-1208, LCS-1269 and its impurities samples;
Z.S. Shprakh: development of research design, analysis of the obtained data, writing the text of the article, article editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.В. Игнатьева / E.V. Ignateva: <https://orcid.org/0000-0002-9200-4492>
И.В. Ярцева / I.V. Yartseva: <https://orcid.org/0000-0002-8818-7812>
Д.А. Козин / D.A. Kozin: <https://orcid.org/0000-0003-1125-1932>
Д.В. Гусев / D.V. Gusev: <https://orcid.org/0000-0003-0218-8265>
Л.В. Эктова / L.V. Ektova: <https://orcid.org/0000-0002-3987-6072>
З.С. Шпрах / Z.S. Shprakh: <https://orcid.org/0000-0003-3034-750X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено в рамках государственного задания по теме «Доклиническая и фармацевтическая разработка отечественного противоопухолевого лекарственного средства ингибитора топоизомеразы I с целью проведения клинических исследований (приоритетные исследования)», № 123021500024-4, 2023–2025 гг.

Funding. The study was conducted within the framework of the state assignment on the topic “Preclinical and pharmaceutical development of an original domestic antitumor drug topoisomerase I inhibitor for the purpose of conducting clinical trials (priority studies)”, No. 123021500024-4, 2023–2025.

Статья поступила: 15.10.2025. Принята к публикации: 20.05.2026. Опубликована онлайн: 15.07.2026.

Article submitted: 15.10.2025. Accepted for publication: 20.05.2026. Published online: 15.07.2026.