

**Сведения о ходе выполнения проекта
по Соглашению с Минобрнауки России о предоставлении субсидии
от «27» июня 2014 г. № 14.604.21.0072
На этапе № 3**

Руководитель проекта, к. х.н., Е.А. Воронцов

Завершены работы по этапу № 3 по Соглашению с Минобрнауки России о предоставлении субсидии № 14.604.21.0072 от «27» июня 2014 г. «Разработка технологии получения полимерных форм препаратов для лечения онкологических заболеваний», (уникальный идентификатор — RFMEFI60414X0072) в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы». На этапе № 3 в период с 01.07.2015 по 31.12.2015 года были выполнены следующие работы:

1. Работы, выполненные в отчетный период:

1.1. Работы, выполненные за счет средств субсидии:

1) Проведен подбор оптимального состава и технологических параметров для получения полимерной формы никлозамида.

2) Выполнена разработка методов анализа качества полимерной формы никлозамида.

3) Проведен скрининг по противоопухолевой активности образцов полимерной формы никлозамида *in vitro* для выбора перспективного образца полимерной формы никлозамида.

4) Проведена разработка лабораторного регламента получения полимерной формы никлозамида.

1.2. Работы (мероприятия), выполненные за счет внебюджетных средств:

1) Выполнена валидация метода количественного определения

никлозамида.

- 2) Проведено исследование токсического воздействия образцов полимерной формы никлозамида на нормальные клетки *in vitro*.

2. Основные результаты, полученные в отчётный период:

- Проведена разработка метода получения полимерной формы никлозамида в лабораторных условиях - подобран оптимальный состав полимерной композиции и технологические параметры ее получения. На основании экспериментальных данных показано: оптимальными полимерами для получения композиции с никлозамидом являются полимеры PLGA 50/50 и EUDRAGIT® RS PO; подобрано оптимальное массовое соотношение полимеры/никлозамид; выбран оптимальный ПАВ - 1.0 % водный раствор поливинилового спирта. В качестве наиболее перспективного опытного образца полимерной формы никлозамида по совокупности физико-химических характеристик: содержанию никлозамида, степени включения лекарственного вещества в полимерные частицы, размеру полимерных частиц, способности к ресуспендированию был выбран образец № NC-11 на основе полимеров PLGA 50/50 и EUDRAGIT® RS PO.
- Разработаны методики анализа образцов полимерной формы никлозамида с применением различных физико-химических методов по показателям качества: описание; растворимость; подлинность; суспендируемость; размер частиц; pH; вода; количественное определение; посторонние примеси; остаточные органические растворители.
- Проведен скрининг по противоопухолевой активности образцов полимерной формы никлозамида *in vitro* (на линии аденокарциномы молочной железы человека MCF-7, линии миелолейкоза человека и линии колоректального рака человека COLO 320 HSR), в ходе выполнения которого обнаружена высокая противоопухолевая активность исследованных образцов полимерной формы никлозамида (NC-1, NC-7, NC-9, NC-10, NC-11), которая либо не отличалась от активности свободного никлозамида, либо превышала ее.

По данным скрининга образцов полимерной формы никлозамида *in vitro* наиболее высокой противоопухолевой активностью обладали образцы, полимерную основу которых составлял сополимер молочной и гликолевой кислот PLGA-50/50 и эудрагит (образцы NC9 и NC11). Полимерные композиции без никлозамида в используемом диапазоне концентраций, соответствующих всему диапазону концентраций полимерной формы препаратов никлозамида, ЦТА не обладали.

В качестве наиболее перспективного препарата по совокупности полученных данных: по результатам исследования цитотоксической активности, по содержанию никлозамида, степени включения никлозамида в полимерные частицы, среднему размеру полимерных частиц и способности к ресуспендированию, был выбран образец полимерной формы никлозамида NC11. Методика его получения была положена в основу при разработке лабораторного регламента.

- Разработан лабораторный регламент получения полимерной формы никлозамида (Никлозамид-ПФ) в соответствии с ОСТ 64-02-003-2002. В соответствии с регламентом продукт является лекарственным средством и представляет собой лиофилизат для приготовления суспензии. Состав компонентов полимерной формы никлозамида (Никлозамид-ПФ) следующие: действующее вещество никлозамид – от 4.0 до 6.0 % масс., вспомогательные вещества - полимер PLGA 50/50, Eudragit RS PO, поливиниловый спирт, D-маннитол.

- За счёт внебюджетных средств проводилось исследование токсического воздействия полимерной формы никлозамида на нормальные клетки *in vitro* в отношении нормальных клеток человека линии LECN-4 и HEK 293. В результате исследования токсического воздействия образцов полимерной формы никлозамида №NC-1 и NC-11 на нормальные клетки *in vitro* показано, что полимерные формы обладают практически одинаковой цитотоксической активностью с субстанцией никлозамида во всем диапазоне исследуемых концентраций (различия в пределах стандартного отклонения). При

исследовании токсического воздействия полимерных частиц без действующего вещества на нормальные клетки *in vitro* было показано, что все исследуемые образцы не обладают токсическим действием в исследуемых диапазонах концентрации в отношении клеток эмбриональных легочных фибробластов линии LECN-4 и эмбриональных клеток почки линии НЕК 293 .

- За счёт внебюджетных средств индустриальным партнером проведена валидация метода количественного определения никлозамида в полимерной форме при помощи обращённо-фазной хроматографии с использованием валидационных тестов: селективность, линейность, точность, прецизионность, предел количественного определения, перенос пробы. Показано, что результаты всех валидационных тестов соответствуют заложенным критериям приемлемости. Методика определения концентрации никлозамида в полимерной форме (Никлозамид-ПФ) является в пределах определяемых величин селективной, линейной, точной, прецизионной. Разработанный метод может использоваться для определения концентрации никлозамида в полимерной форме.

- Создана следующая научно-техническая продукция: «Методики анализа качества полимерной формы никлозамида», «Лабораторный регламент получения полимерной формы никлозамида».

Проведённая на третьем этапе ПНИ разработка лабораторного регламента получения полимерной формы никлозамида и разработка методики анализа образцов полимерной формы никлозамида позволят проводить наработку и анализ качества образцов полимерной формы никлозамида для продолжения исследований на следующем этапе ПНИ.

- Демонстрации и популяризации промежуточных результатов проекта осуществлена путем участия в двух конференциях. По результатам исследований подготовлено две публикации.

- На этапе №3 получены охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД). По результатам выполнения работы подана заявка на патент, в которой описывается состав и свойства полимерной формы этопозида.

На этапе №3 роль индустриального партнёра заключалась в софинансировании проекта в необходимом объёме – проведение работы № 3.5 плана-графика исполнения обязательств «Валидация метода количественного определения никлозамида».

Комиссия Минобрнауки России признала обязательства по Соглашению на отчетном этапе исполненными надлежащим образом.