

## ПОЛУЧЕНИЕ ЛИПОСОМНОГО САНГВИНАРИНА И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© 2020 г. Н. Б. Фельдман<sup>1,\*</sup>, С. Н. Орехов<sup>1</sup>, И. И. Чакалева<sup>1</sup>,  
Е. А. Мучкина<sup>1</sup>, Н. Е. Седякина<sup>1</sup>, С. В. Луценко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России,  
Москва, Россия

\*E-mail: n\_feldman@mail.ru

Поступила в редакцию 14.05.2020 г.

После доработки 14.05.2020 г.

Принята к публикации 04.06.2020 г.

Бензофенантрединовый алкалоид сангвинарин из *Macleaya macrocarpa* проявляет противоопухолевую, антиангиогенную и ряд других активностей. Описаны некоторые побочные эффекты сангвинарина, существенно ограничивающие возможности его терапевтического применения. Для увеличения эффективности терапевтического действия сангвинарин был введен в состав рН-чувствительных липосом методом дистанционной загрузки с использованием дигидрофосфата аммония. рН-чувствительные липосомы, оказываясь в кислом окружении опухоли или эндосомном компартменте, высвобождают сангвинарин, который вызывает гибель опухолевых клеток. Средний диаметр липосомных частиц составлял  $112.6 \pm 1.8$  нм; дзета-потенциал  $-13.9 \pm 1.7$  мВ по данным метода динамического рассеяния света. Степень включения сангвинарина в липосомы составляла  $89.54 \pm 2.13\%$ . Исследована динамика высвобождения сангвинарина из состава липосомного препарата, продемонстрирован пролонгированный характер высвобождения. Исследована *in vitro* цитотоксическая активность (ЦТА) липосомного сангвинарина в отношении опухолевых клеток карцином предстательной железы линий LNCaP, DU145 и PC-3. Липосомный сангвинарин проявлял дозозависимую ЦТА в отношении клеток всех исследуемых линий в микромолярном диапазоне концентраций. Наиболее высокая ЦТА липосомного сангвинарина проявлялась в отношении гормончувствительных клеток линии LNCaP ( $IC_{50}$  2.86 мкМ). В отношении гормоннезависимых клеток линий DU145 и PC-3 цитотоксическая активность липосомного сангвинарина была несколько ниже и составляла 3.37 и 3.63 мкМ соответственно. Также продемонстрирована дозозависимая индукция апоптоза клеток линий LNCaP, DU145 и PC-3. Липосомный сангвинарин с высокой эффективностью индуцировал апоптоз как гормончувствительных, так и гормоннезависимых клеток. При концентрации в культуральной среде 8 мкМ липосомный сангвинарин индуцировал апоптоз у 93.14% клеток линии LNCaP, 90.65% клеток линии DU145 и 98.12% клеток линии PC-3. Таким образом, липосомный сангвинарин может рассматриваться в качестве перспективного противоопухолевого агента для терапии гормончувствительных и гормоннезависимых опухолей.

DOI: 10.1134/S1992722320020077

### ВВЕДЕНИЕ

Целый ряд растительных алкалоидов обладает высоким терапевтическим потенциалом и широкими перспективами применения в медицине. К таким соединениям относится бензофенантрединовый алкалоид сангвинарин, который наряду с другими бензофенантрединовыми алкалоидами (хелеритрином, сангвилютином, хелилютином, сангвирубином, хелирубином) и двумя протопиновыми алкалоидами (протопин и аллокриптопин) содержится в растениях семейства *Papaveraceae* (маковых) – *Sanguinaria canadensis*, *Macleaya cordata*, *Macleaya macrocarpa*

и *Chelidonium majus* [1]. Сангвинарин относится к хорошо изученным алкалоидам и отличается довольно высоким содержанием (30.4%) в сангвинарии канадской (*Sanguinaria canadensis*) по сравнению с другими алкалоидами – хелеритрином (18.8%), сангвилютином (12%), хелилютином (11.3%), хелирубином (9.5%), а также протопином (9.5%), аллокриптопином (8.4%) и сангвирубином (до 1.2%) [2]. У растений *Macleaya macrocarpa* 12-летнего возраста содержание бензофенантрединовых алкалоидов до 14 раз выше по сравнению с молодыми растениями возраста 2 года [3].

Несмотря на высокий терапевтический потенциал, сангвинарин отличается довольно низкой растворимостью в биологических жидкостях и способностью вызывать некоторые побочные эффекты в результате интеркаляции между парами оснований ДНК [4] с последующим ее разрушением [5]. Повысить эффективность терапевтического действия сангвинарина и снизить побочные эффекты можно путем его включения в состав липосомных наночастиц. Липосомы представляют собой липидные везикулы с бислойной мембраной, состоящей из фосфолипидов [6, 7]. Впервые потенциал липосом в качестве транспортного средства для доставки ферментов, противоопухолевых и антимикробных агентов был продемонстрирован в [8–10]. В последующие годы технологии получения и применения наноносителей для транспорта терапевтических агентов активно развивались [11].

Одним из наиболее перспективных путей повышения эффективности терапевтического действия противоопухолевых лекарственных препаратов является применение рН-чувствительных липосом. Известно, что рН опухолевой стромы отличается от нормальных тканей более кислым значением [12]. В связи с этим рН-чувствительные липосомы конструируют из рН-чувствительных компонентов таким образом, что когда липосомы оказываются в кислом окружении опухолевых клеток или эндосомном компартменте, их содержимое высвобождается и оказывает терапевтический эффект. К преимуществам применения липосомного препарата также относится его избирательное проникновение через опухолевые сосуды и капилляры, имеющие обширные разрывы базальной мембраны и участки, лишенные эндотелиальной выстилки [13].

В настоящее время в научной литературе представлены довольно обширные сведения, касающиеся антимикробной и противоопухолевой активности свободного сангвинарина [14–17], в то время как биологическая активность липосомного сангвинарина изучена недостаточно. В связи с этим в данной работе получены рН-чувствительные липосомы с сангвинарином и исследованы их антипролиферативная активность и апоптотическое действие на опухолевые клетки предстательной железы. Клетки рака предстательной железы образуются в результате трансформации нормальных андрогензависимых клеток предстательной железы, однако в процессе злокачественного перерождения часть из этих клеток выходит из-под контроля гормональной системы организма. К моменту диагностики у пациента с раком предстательной железы опухоль чаще всего является метастазирующей и гетерогенной по клеточной популяции [18]. Она включает в себя андрогензависимые клетки, требующие для развития андрогенной стимуляции и погибающие в ее от-

сутствие, андрогенчувствительные клетки, не погибающие при отсутствии андрогенов, а также андрогеннезависимые клетки, не требующие для роста присутствия андрогенов [19]. При удалении андрогенов из среды или проведении антиандрогенной терапии андрогенчувствительные клетки погибают в результате индукции апоптоза, тогда как андрогеннезависимые клетки обходят механизмы апоптоза и не реагируют на отсутствие андрогенов, продолжая активно пролиферировать, обеспечивая прогрессию опухоли. Поиск путей элиминирования этой клеточной популяции является одной из важнейших задач противоопухолевой терапии. Опухолевые клетки нечувствительной к действию гормонов популяции являются наиболее опасными, именно их пролиферативная и инвазивная активность чаще всего приводит к смерти пациентов, страдающих раком предстательной железы [20]. Ранее было показано, что свободный сангвинарин вызывает арест клеточного цикла и апоптоз клеток карциномы предстательной железы человека путем воздействия на циклинзависимые протеинкиназы [19]. Применение сангвинарина в липосомной форме позволит расширить спектр терапевтических средств, действующих как на гормончувствительные, так и на гормонрезистентные опухоли.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали сангвинарин, холестерин, НЕРЕС, дигидроортофосфат аммония  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ , фосфатно-солевой буфер, сефарозу CL-4В (Merck), лецитин (AppliChem). Остальные реагенты имели квалификацию ч.д.а.

Липосомы получали модифицированным методом дистанционной загрузки с использованием дигидрофосфата аммония [21]. Пустые липосомы получали методом гидратации тонкослойной пленки буфером с последующей обработкой дисперсии ультразвуком. Для получения тонкослойной липидной пленки смесь лецитина и холестерина (массовое соотношение 5:1) в этаноле упаривали на ротационном испарителе при 30°C. Липосомную дисперсию получали путем добавления к липидной пленке 0.4 М раствора  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  (гидратирующий, или внутренний буфер, рН 4.4) и обработки ультразвуком в течение 5 мин с помощью ультразвукового дезинтегратора “Misonix sonicator S-4000” при амплитуде 60%. После фильтрации на фильтре с размером пор 0.45 мкм липосомный препарат подвергали 15-кратной экструзии через поликарбонатную мембрану с размером пор 100 нм с помощью экструдера Avanti Mini-Extruder (Avanti Polar Lipids, Inc., США).

Для установления трансмембранного градиента рН липосомную дисперсию пропускали через

колонку с сефарозой CL-4В, уравновешенную буферным раствором (наружный буфер), содержащим 20 мМ HEPES (рН 7.4) и 150 мМ NaCl. К препарату пустых липосом добавляли необходимое количество 10 мМ раствора сангвинарина в диметилсульфоксиде. Загрузку липосом сангвинарином продолжали в течение 1 ч при 40°C.

Очистку липосомной дисперсии от невключившегося сангвинарина проводили на колонке с сефарозой CL-4В, уравновешенной буферным раствором, содержащим 20 мМ HEPES (рН 7.4) и 150 мМ NaCl. Элюирование препарата липосом проводили при скорости потока 1 мл/мин под контролем УФ-детектора при  $\lambda = 275$  нм. Фракции, содержащие липосомный препарат, объединяли и использовали в дальнейших экспериментах.

Для определения эффективности включения сангвинарина в липосомы к 100 мкл препарата липосом после диализа добавляли 200 мкл метанола, перемешивали и подвергали обработке ультразвуком в течение 5 мин. Затем образец центрифугировали и отбирали 100 мкл супернатанта для анализа с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), проводимого с использованием хроматографа Agilent Technologies 1260 Infinity (США) на обращеннофазовой колонке С18. В работе использовали линейный градиент подвижной фазы, создаваемый элюентом А (0.1% раствор трифторуксусной кислоты (ТФУ) в воде) и элюентом В (0.1% раствор ТФУ в ацетонитриле). Детектирование сангвинарина осуществляли при длине волны 275 нм. Хроматографию образцов проводили в линейном градиенте концентрации элюента В от 0 до 100% при скорости потока 1.0 мл/мин; время анализа составляло 20 мин для каждой пробы. С помощью стандартного образца сангвинарина строили калибровочный график, по которому определяли концентрацию сангвинарина в пробах. Эффективность включения сангвинарина в липосомы ( $E$ ) рассчитывали по формуле

$$E = \frac{\text{Количество сангвинарина в липосомах, мг}}{\text{Общее количество сангвинарина, мг}} \times 100\%.$$

Форму и размеры липосомных частиц оценивали с помощью сканирующего электронного микроскопа JEOL JSM-6490LV (Япония). Исследуемые пробы покрывали 20 нм (40 с при 40 мА) слоем платины в автоматическом коутере JEOL JFC-1600.

Размеры и дзета-потенциал частиц определяли методом динамического рассеяния света, или фотонной корреляционной спектроскопии на анализаторе Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Великобритания).

Изучение динамики высвобождения сангвинарина из липосом проводили с помощью модифицированного метода [22]. Препарат липосом (40 мл) в диализном мешке помещали в термостатируемый шейкер и диализировали при 37°C в течение 24 ч при постоянном перемешивании (50 об./мин) против буферного раствора, содержащего 20 мМ HEPES (высвобождение оценивали параллельно при трех значениях рН – 7.4, 6.5 и 5.5), 150 мМ NaCl, 2% метанол. Образцы отбирали для анализа через определенные промежутки времени, добавляя к исходному диализному раствору тот же объем свежего буфера. Содержание сангвинарина в диализате определяли с помощью обращеннофазовой ВЭЖХ. Все данные приведены как средние значения трех экспериментов.

Цитотоксическую активность (ЦТА) липосомного сангвинарина *in vitro* исследовали в отношении опухолевых клеток трех линий карцином предстательной железы человека – LNCaP (ATCC® CRL-1740™), DU 145 (ATCC® HTB-81™) и PC-3 (ATCC® CRL-1435™). Клетки исследуемых линий выращивали в пластиковых флаконах (Costar) в среде RPMI-1640 (Sigma) с добавлением 10%-ной фетальной бычьей сыворотки и 100 мкг/мл стрептомицина (Sigma) в атмосфере 5%-ного CO<sub>2</sub> при 37°C. За 1 сут до эксперимента клетки рассевали в 96-луночные планшеты для микротитрования в среде для культивирования в плотности 5000–7000 клеток в лунке. Инкубировали клетки с растворами исследуемых препаратов в различных концентрациях в стандартных условиях 72 ч, после чего определяли выживаемость клеток с помощью МТТ-теста [23]. Цитотоксическую активность препарата выражали в единицах IC<sub>50</sub> (молярная концентрация препарата, вызывающая гибель 50% клеток).

Для количественной оценки уровня апоптоза опухолевых клеток клетки наращивали в 100 мм чашках Петри до плотности  $1 \cdot 10^6$  на чашку и инкубировали с липосомным сангвинарином в различных концентрациях в течение 24 ч. Затем клетки обрабатывали трипсином, отмывали фосфатно-солевым буфером и обрабатывали флуоресцентно меченным нуклеотидом dUTP и пропидиум иодидом с использованием набора “Apo-direct apoptosis kit” (Thermo Fisher Scientific) согласно протоколу производителя. Флуоресцентно меченные клетки анализировали с помощью проточной цитометрии (цитометр EPICS-XL, Beckman Coulter).

Статистическую обработку результатов осуществляли в программе Microcal Origin 8.0 (OriginLab Corporation). Все данные в таблицах и рисунках представлены как средние арифметические значения ( $M$ ) и стандартные отклонения ( $\pm SD$ ). Для выявления статистической значимости различий применяли однофакторный дис-

**Таблица 1.** Эффективность инкапсулирования (*E*) сангвинарина при различных внутрилипосомных концентрациях дигидроортофосфата аммония (*n* = 3)

Концентрация $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ , мМ	Эффективность инкапсулирования ( <i>E</i> ) сангвинарина, % ( $\pm$ SD)	Размер липосом, нм ( $\pm$ SD)
0	$1.78 \pm 0.46$	$105.3 \pm 1.5$
100	$43.07 \pm 4.32$	$111.4 \pm 1.7$
200	$65.13 \pm 5.14$	$126.8 \pm 2.3$
300	$82.94 \pm 2.45$	$121.7 \pm 2.9$
400	$89.54 \pm 2.18$	$112.6 \pm 1.8$
500	$86.32 \pm 1.27$	$119.1 \pm 2.2$

персионный анализ (ANOVA); различия считали достоверными при значениях  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

*Влияние внутрилипосомной концентрации дигидроортофосфата аммония на эффективность загрузки сангвинарином.* Одним из важных факторов, влияющих на эффективность включения сангвинарина в рН-чувствительные липосомы, является внутрилипосомная концентрация  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ . Для дистанционной загрузки использовали пустые липосомы с внутренними концентрациями  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  от 0.1 до 0.5 М с шагом 0.1 М. В качестве контроля использовали липосомы с внутренним буфером 20 мМ HEPES, рН 7.4.

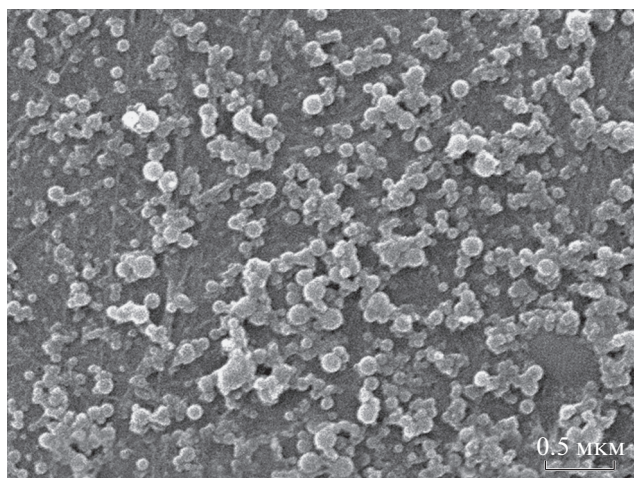
Как видно из табл. 1, эффективность инкапсулирования сангвинарина и размер липосом прогрессивно возрастали при увеличении внутрилипосомной концентрации  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  от 100 до 200 мМ. При дальнейшем увеличении внутрилипосомной концентрации дигидроортофосфата

аммония эффективность загрузки липосом повышалась и достигала максимального значения ( $89.54 \pm 2.18\%$ ) при концентрации  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  400 мМ. Размер липосом при их максимальной загрузке сангвинарином оставался относительно небольшим и составлял  $112.6 \pm 1.8$  нм по данным метода динамического рассеяния света; дзета-потенциал был равен  $-13.9 \pm 1.7$  мВ. Данный препарат использовали в дальнейших экспериментах. Микрофотография липосомных частиц с сангвинарином, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ), приведена на рис. 1.

Поскольку опухолевые кровеносные сосуды имеют аномальное строение и часто бывают лишены целых участков эндотелиальной выстилки и фрагментов базальной мембраны, они имеют крупные размеры пор (от 100 до 780 нм) [13]. В связи с этим липосомы размером 100–200 нм считаются оптимальными транспортными системами, способными эффективно доставлять терапевтические агенты и накапливаться в околоопухолевом пространстве путем так называемого “пассивного нацеливания”. Противоопухолевую активность полученных липосом с сангвинарином исследовали *in vitro* с целью определить их противоопухолевый потенциал.

*Динамика высвобождения сангвинарина из липосом.* Высвобождение сангвинарина из липосом изучали при значениях рН – 7.4, 6.5 и 5.5, моделирующих условия, в которых липосомы могут оказаться при их терапевтическом применении. Так, рН ~7.4 характерен для плазмы крови, лимфы и межклеточной жидкости; рН ~6.5 – для опухолевых тканей; рН ~5.5 – для внутренней среды эндосомного компартмента, где липосомы могут оказаться после их поглощения клеткой [24, 25].

Высвобождение сангвинарина из липосомного препарата носило выраженный рН-зависимый характер (рис. 2). При этом с наиболее высокой скоростью во все среды сангвинарин высвобождался в первые 10 мин; в последующий период



**Рис. 1.** СЭМ-изображение липосомных частиц с сангвинарином.

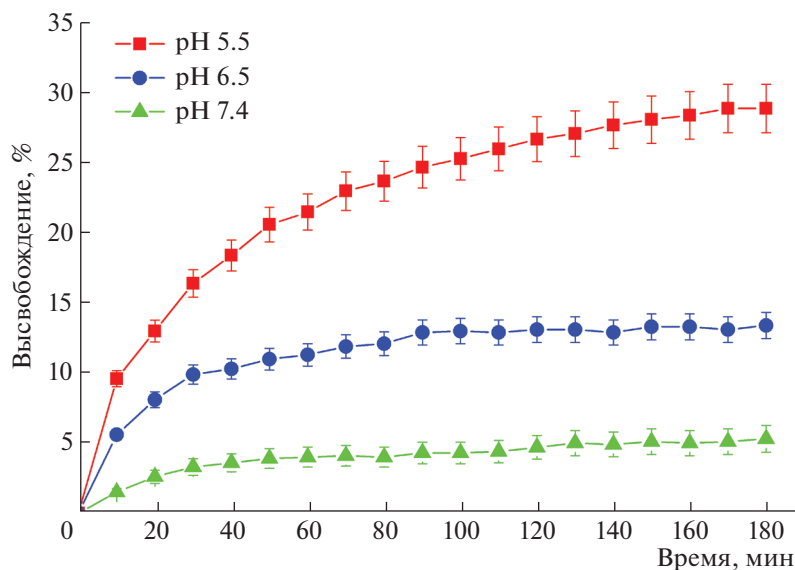


Рис. 2. Высвобождение сангвинарина из липосом при различных значениях pH наружного буфера (20 мМ HEPES (pH 7.4, 6.5, 5.5), 150 мМ NaCl).

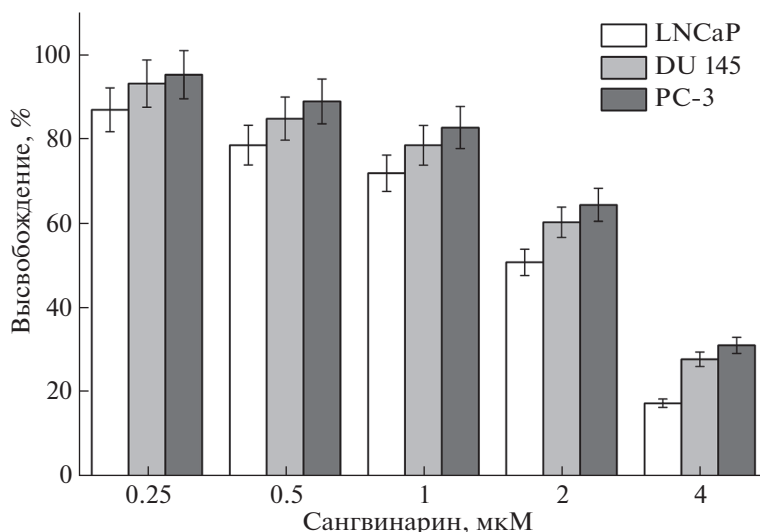
процесс высвобождения постепенно замедлялся. После 3 ч эксперимента в наиболее кислую среду (pH 5.5) высвобождалось больше всего сангвинарина (~28%); в среду с pH 6.5 высвобождалось ~12% и наиболее низкий уровень высвобождения наблюдался в среде со слабощелочной реакцией (pH 7.4). В целом высвобождение сангвинарина из липосом в кислую среду носит пролонгированный характер. В условиях слабощелочной среды сангвинарин оказывается практически полностью “запертым” в липосомах — через 3 ч инкубации из липосомной дисперсии высвобождается лишь 2.5% сангвинарина. Такой характер высвобождения может оказаться полезным при внутривенном введении липосомного сангвинарина в качестве противоопухолевого препарата. В крови при транспортировке к опухоли-мишени значение pH слабощелочное (pH 7.4) и практически весь сангвинарин будет оставаться в составе липосом. При достижении опухоли в кислой среде, характерной для опухолевой ткани, высвобождение сангвинарина будет увеличиваться и, наконец, в кислом содержимом эндосомного компартмента (pH 5.5) захваченные опухолевыми клетками путем эндоцитоза липосомы будут наиболее активно высвобождать действующее вещество. Таким образом, разница в кислотности биологических жидкостей и внутриклеточных компартментов может служить основой для разработки эффективных стратегий применения pH-чувствительных липосом.

*Цитотоксический и апоптотический потенциал липосомного сангвинарина.* Исследование цитотоксического и апоптотического действия липосомного сангвинарина проводили на опухолевых

клетках предстательной железы, чувствительных к андрогенам и обладающих умеренным метастатическим потенциалом (аденокарцинома предстательной железы человека линии LNCaP), в сравнении с гормоннезависимыми клетками с умеренным (карцинома предстательной железы человека линии DU145) и высоким (карцинома предстательной железы человека линии PC-3).

Результаты исследования ЦТА липосомного сангвинарина в отношении опухолевых клеток линий LNCaP, DU145 и PC-3 представлены на рис. 3. Липосомный сангвинарин проявлял дозозависимую ЦТА в отношении опухолевых клеток всех исследуемых линий в микромолярном диапазоне концентраций. Наиболее высокая ЦТА липосомного сангвинарина проявлялась в отношении гормончувствительных клеток линии LNCaP ( $IC_{50}$  2.86 мкМ). В отношении гормоннезависимых клеток линий DU145 и PC-3 цитотоксическая активность липосомного сангвинарина была несколько ниже и составляла 3.37 и 3.63 мкМ соответственно.

Ранее было показано, что свободный сангвинарин вызывает апоптоз у опухолевых клеток [26, 27]. В настоящей работе для исследования апоптотического действия на опухолевые клетки использовали липосомную форму сангвинарина как альтернативу свободному веществу. Клетки инкубировали 24 ч в присутствии различных концентраций сангвинарина и метили нуклеотидом 2'-дезоксириндин-5'-трифосфатом (dUTP) с помощью терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы (ТДТ) (осуществляет последовательное присоединение дезоксирибонуклеозидмонофосфатов из пула дезоксирибонук-



**Рис. 3.** Цитотоксическая активность липосомного сангвинарина в отношении опухолевых клеток человека линий LNCaP, DU145 и PC-3.

леозидтрифосфатов к 3'-ОН-группам молекул ДНК) и пропидиум иодида. Клетки, уровень dUTP-флуоресценции которых превышал уровень флуоресценции контрольных клеток, рассматривали как апоптотические, в табл. 2 представлено процентное содержание таких клеток от контроля.

Как видно из табл. 2, инкубация клеток с различными концентрациями липосомного сангвинарина приводит к дозозависимому увеличению опосредуемого TDT уровня включения метки dUTP в 3'-концевые разрывы цепи ДНК, что свидетельствует о дозозависимом приросте числа апоптотических клеток. При этом липосомный сангвинарин с высокой эффективностью индуцировал апоптоз как гормончувствительных, так и гормоннезависимых клеток. При концентрации в культуральной среде 8 мкМ липосомный

сангвинарин индуцировал апоптоз у 93.14% клеток линии LNCaP, 90.65% клеток линии DU145 и 98.12% клеток линии PC-3.

Таким образом, липосомный сангвинарин индуцирует гибель подавляющего числа опухолевых клеток всех исследуемых линий путем индукции апоптоза. Очевидно, что липосомный сангвинарин может рассматриваться в качестве перспективного противоопухолевого агента для терапии гормонзависимых опухолей, находящихся на разных стадиях прогрессии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные с помощью метода дистанционной загрузки pH-чувствительные липосомы с сангвинарином проявляют цитотоксическую активность в отношении как чувствительных к ан-

**Таблица 2.** Влияние липосомного сангвинарина на апоптоз опухолевых клеток линий LNCaP, DU145 и PC-3

Липосомный сангвинарин, мкМ	Апоптоз, %		
	LNCaP	DU145	PC-3
Контроль (без липосом)	1.68 ± 0.12	2.50 ± 0.3	2.82 ± 0.23
0.25	4.71 ± 0.34	7.61 ± 0.08	13.83 ± 0.97
0.5	9.75 ± 0.72	13.91 ± 0.73	22.19 ± 1.68
1.0	15.55 ± 1.01	19.72 ± 3.18	27.17 ± 2.01
2.0	36.29 ± 2.48	40.02 ± 3.85	47.90 ± 3.59
4.0	68.42 ± 5.11	73.81 ± 4.36	80.44 ± 6.73
8.0	93.14 ± 6.54	90.65 ± 5.07	98.12 ± 7.84

дрогенам, так и гормоннезависимых опухолевых клеток предстательной железы. Представляет интерес исследование активности полученного препарата в отношении опухолевых клеток других типов, а также опухолей, резистентных к действию антибиотиков. Для более полного раскрытия терапевтического потенциала и рассмотрения возможности создания на основе липосомного сангвинарина противоопухолевого препарата необходимы дополнительные исследования.

Работа выполнена при поддержке проекта повышения конкурентоспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bambagiotti-Alberti M., Pinzauti S., Moneti G. et al.* // J. Pharm. Biomed. Anal. 1991. V. 9. № 10–12. P. 1083.
2. *Salmore A.K., Hunter M.D.* // J. Chem. Ecol. 2001. V. 27. № 9. P. 1729.
3. *Pěňčíková K., Urbanová J., Musil P. et al.* // Molecules. 2011. V. 16. № 4. P. 3391.
4. *Stiborova M., Simanek V., Frei E. et al.* // Chem. Biol. Interact. 2002. V. 140. P. 231.
5. *Ansari K.M., Dhawan A., Khanna S.K., Das M.* // Food Chem. Toxicol. 2005. V. 43. № 1. P. 147.
6. *Torchilin V.P.* // Nat. Rev. Drug Discov. 2005. V. 4. P. 145.
7. *Wacker M.* // Int. J. Pharm. 2013. V. 457. P. 50.
8. *Gregoriadis G.* // N Engl. J. Med. 1976. V. 295. P. 704.
9. *Gregoriadis G.* // N Engl. J. Med. 1976. V. 295. P. 765.
10. *Gregoriadis G.* // Trends Biotechnol. 1995. V. 13. P. 527.
11. *Kreuter J.* // Int. J. Pharm. 2007. V. 331. P. 1.
12. *Ganta S., Devalapally H., Shahiwala A., Amiji M.* // J. Control. Rel. 2008. V. 126. P. 187.
13. *Hobbs S.K., Monsky W.L., Yuan F. et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 4607.
14. *Zuo G.Y., Meng F.Y., Hao X.Y. et al.* // J. Pharm. Pharm. Sci. 2008. V. 11. № 4. P. 90.
15. *Meng F., Zuo G., Hao X. et al.* // J. Ethnopharmacol. 2009. V. 125. P. 494.
16. *Ahsan H., Reagan-Shaw S., Breur J., Ahmad N.* // Cancer Lett. 2007. V. 249. P. 198.
17. *Jang B.C., Park J.G., Song D.K. et al.* // Toxicol. In Vitro. 2009. V. 23. № 2. P. 281.
18. *Tang D.G., Porter A.T.* // Prostate. 1997. V. 32. P. 284.
19. *Gleave M., Bruchofsky N., Goldenberg S.L., Rennie P.* // Eur. Urol. 1998. V. 34. P. 37.
20. *Denmeade S.R., Lin X.S., Isaacs J.T.* // Prostate. 1996. V. 28. P. 251.
21. *Fritze A., Hens F., Kimpfler A., Schubert R.* // Biochim. Biophys. Acta. 2006. V. 1758. P. 1633.
22. *Zhang X., Lu S., Han J. et al.* // Pharmazie. 2011. V. 66. P. 404.
23. *Adan A., Kiraz Y., Baran Y.* // Curr. Pharm. Biotechnol. 2016. V. 17. № 14. P. 1213.
24. *Stubbs M., McSheehy P.M., Griffiths J.R., Bashford C.L.* // Mol. Med. Today. 2000. V. 6. № 1. P. 15.
25. *Hu Y.B., Dammer E.B., Ren R.J., Wang G.* // Transl. Neurodegener. 2015. V. 4. Art. 18.
26. *Debiton E., Madelmont J.C., Legault J., Barthelemy C.* // Cancer Chemother. Pharmacol. 2003. V. 51. P. 474.
27. *Ding Z., Tang S.C., Weerasinghe P. et al.* // Biochem. Pharmacol. 2002. V. 63. P. 1415.