

УДК 615.03

**ОБЕСКЛЕТОЧЕННЫЕ РАСТИТЕЛЬНЫЕ КАРКАСЫ КАК IN VITRO МОДЕЛЬ ДЛЯ
ТЕСТИРОВАНИЯ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ**

Предина А.Л. (федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО»)

Научный руководитель – д.х.н, доцент Виноградов В.В.

(федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО»)

В работе представлена новая *in vitro* биоинспирированная модель для тестирования нанофармацевтических препаратов на основе обесклеточенных листьев шпината. В ходе исследования на разработанной модели было протестировано поведение магнитоуправляемого тромболитика на основе магнетита в сложной, схожей с кровеносной системой, разветвленной системе.

Введение. Около 10 миллионов животных ежегодно используются в европейских лабораториях, еще 8 миллионов животных используются без включения в официальную статистику. Большая часть этих животных используется для проведения доклинических исследований фармацевтических препаратов и, в частности, нанофармацевтических соединений. Исследование на лабораторных животных связано не только с этическими проблемами, но и с невозможностью перенести результаты экспериментов на животных на аналогичные результаты у людей. Несмотря на свой потенциал, наномедицина по-прежнему практически не представлена в клинических и коммерческих проектах. Одна из основных причин - невозможность предсказать результаты на этапе доклинических исследований, которые большинство нанопрепаратов не проходят.

Сейчас в исследованиях нанофармацевтических соединений по-прежнему отсутствуют актуальные и простые модели тестирования, а существующие в основном полагаются на животных. Методы, альтернативные тестированию на животных, включающие компьютерное моделирование, тканевые и клеточные культуры, несовершенны и, к сожалению, не приводят к значительному снижению количества используемых животных. Тканевые и клеточные культуры не могут представить организм во всей его сложности. Компьютерное моделирование должно проводиться в сотрудничестве с лабораторными экспериментальными моделями. Одно из недавних изобретений в области тестирования нанофармацевтических препаратов без использования животных — это модель основанная на микрофлюидном устройстве, которая, в целом, может оказаться дешевой, однако не все лаборатории имеют оборудование, необходимое для изготовления данных устройств.

Основная часть. Учитывая ограничения существующих моделей, мы создали доступную модель на основе обесклеточенного шпината для тестирования нанофармацевтических соединений *in vitro*. Полученный каркас представляет собой сложную трехмерную структуру, состоящую преимущественно из клеточных стенок, то есть целлюлозы и гемицеллюлозы. Растительные каркасы используются в основном в тканевой инженерии. Согласно нашим сведениям, обесклеточенные растения не использовались для тестирования нанофармацевтических препаратов, то есть мониторинга: адресной доставки, измененного времени высвобождения, повышенной стабильности препарата. Все три характеристики можно отслеживать в разработанных каркасах из шпината.

Поскольку сердечно-сосудистые заболевания остаются одной из наиболее частых причин смерти, а их лечение остается проблемой, нанопрепараты для лечения тромбозов является

одним из важнейших направлений современной науки. Поэтому мы решили разработать модель для магнитоуправляемых тромболитических наночастиц.

Во время обесклеточивания, экстракции клеточных компонентов, полученная модель становится прозрачной, что, в свою очередь, обеспечивает возможность простого оптического мониторинга и скрининга. Подготовка модели связана с максимальной доступностью из-за низкой стоимости всех необходимых реагентов и оборудования.

Листья шпината были выбраны из-за визуального сходства с сосудистой сетью человеческого мозга, которое объясняется формированием в соответствии с законом Мюррея. Обесклеточенные листья и обесклеточенные ткани головного мозга имеют фибриллярную микроструктуру и схожие диаметры проводящих сосудов. Модель была изготовлена из листьев шпината по стандартному протоколу и подключена к шприцевому насосу, имитирующему ток крови в мелких артериолах.

Выводы. Описание практического использования результатов исследований, предложения по внедрению (испытание).

Тестирование целостности проводящей системы потоком контрастного водного раствора глицерина и эозина показало проникновение жидкости в мельчайшие жилки листа без значительного нарушения целостности структуры.

Дальнейшие тесты были нацелены на проверку и оценку возможности магнитоуправления гидрозоль магнетита в разветвленной проводящей системе листа. Направленное воздействие магнитного поля (неодимовый магнит) привело к скоплению гидрозоля магнетита в месте приложения поля и подтвердило возможность управления магнитными наночастицами.

Для проведения экспериментов с тромболитическими препаратами были синтезированы фибриновые сгустки с метиленовым синим в структуре, подходящие по размерам под жилки шпината 1-2 порядка в диапазоне от 30 до 300 мкм. При этом высвобождение красителя из структуры тромба происходило только при разрушении тромба под воздействием тромболитиков. После помещения данных тромбов в модель и воздействия на них 0.8 мг/мл пууролазой, наблюдалось частичное растворение тромба с образованием заметного синего пятна.

Тем не менее, для полного растворения тромба внутри системы потребовалось провести эксперимент с наночастицами магнетита, покрытых гепарином и урокиназой, продемонстрировавший полное растворение тромба за 40 минут воздействия.

Таким образом, разработанная модель обеспечивает простой оптический контроль поведения магнитных наночастиц в сложной разветвленной системе, аналогичной сосудистой сети человека. Центральным нововведением нашей работы является использование хорошо изученных обесклеточенных листьев шпината в качестве доступной модели для испытаний наночастиц, которая показала свою пригодность не только для адресной доставки, но и для мониторинга времени высвобождения модифицированного лекарственного средства и его повышенной стабильности.

Предеина А.Л. (автор)

Подпись

Виноградов В.В. (научный руководитель)

Подпись