

УДК 544:678.029:547.917:674.032.14:615.31

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЕХАНОКОМПОЗИТОВ АРАБИНОГАЛАКТАНА С ЦИКЛОФОСФАМИДОМ

© *Н.А. Неверова*^{1*}, *Е.Н. Медведева*¹, *В.А. Бабкин*¹, *Л.И. Ларина*¹, *А.Н. Сапожников*², *А.А. Левчук*¹,
*С.Г. Кузьмин*³

¹ *Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, ул. Фаворского, 1, Иркутск, 664033 (Россия), e-mail: nadya_neverova@irioch.irk.ru*

² *Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, ул. Фаворского, 1а, Иркутск, 664033 (Россия)*

³ *Государственный научный центр «НИОПИК», ул. Б. Садовая, 1, корп. 4, Москва, 123001 (Россия)*

Для повышения эффективности и избирательности действия известных лекарственных веществ (ЛВ) в последнее время разрабатываются методы создания систем для их направленного транспорта в организме с помощью различных носителей. Особенно актуальна проблема снижения токсичности и повышения селективности противоопухолевых ЛВ. В последние годы ведутся исследования по созданию конъюгатов ЛВ с природными полимерами, в частности, с некрахмальными полисахаридами, многие из которых проявляют противоопухолевые и иммуномодулирующие свойства. Благодаря уникальному сочетанию физико-химических и биологических свойств одним из наиболее перспективных для разработки комплексных препаратов с повышенной биодоступностью и пониженной токсичностью является лиственничный арабиногалактан (АГ).

Цель настоящей работы – получение механокомпозигов циклофосфида (ЦФА) с исходным (молекулярная масса 16645 Да) и фрагментированным (молекулярная масса 8380 Да) арабиногалактаном и исследование их физико-химических свойств.

По данным ИК и ЯМР ¹³C, ¹⁵N и ³¹P спектроскопии, длительная механохимическая обработка не приводит к изменению химического состава молекул ЦФА, наблюдается только образование водородных связей NH...OH. По данным рентгенографического анализа, ИК и мультядерной ЯМР спектроскопии в процессе механообработки смесей ЦФА – АГ при массовом соотношении 1 : 5 и 1 : 10 в течение 4–12 ч происходит разупорядочение кристаллической структуры ЦФА и его молекулярное диспергирование в матрице полисахарида без химического взаимодействия компонентов.

Ключевые слова: циклофосфамид, арабиногалактан, механохимическая обработка, механокомпозигов, мультядерная ЯМР спектроскопия, рентгенографический анализ.

Неверова Надежда Анатольевна – кандидат химических наук, научный сотрудник,
e-mail: nadya_neverova@irioch.irk.ru

Медведева Елена Николаевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник,
e-mail: woodemed@irioch.irk.ru

Бабкин Василий Анатольевич – доктор химических наук, заведующий лабораторией химии древесины, профессор, e-mail: babkin@irioch.irk.ru

Ларина Людмила Ивановна – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: larina@irioch.irk.ru

Сапожников Анатолий Николаевич – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, e-mail: sapozh@igc.irk.ru

Левчук Алексей Александрович – кандидат технических наук, научный сотрудник, e-mail: levchuk@irioch.irk.ru

Кузьмин Сергей Георгиевич – руководитель по научной части, e-mail: skuzmin@niopik.ru

Введение

Для повышения эффективности и избирательности действия известных лекарственных веществ (ЛВ) в последнее время разрабатываются методы создания систем для их направленного транспорта в организме с помощью различных носителей (drug delivery systems).

Перспективным для адресной доставки ЛВ является создание их конъюгатов с синтетическими и природными полимерами. Достаточно интенсивно ведутся исследования по синтезу конъюгатов различных ЛВ с олиго- и полисахаридами: β-циклодекстрином, декстранами, крахмалом, целлюлозой, галактаном, галактоманнаном, арабиногалак-

* Автор, с которым следует вести переписку.

таном (АГ), хитозаном и др. [1–6]. Отмечается повышение эффективности и снижение токсичности ЛВ в полученных конъюгатах.

Особенно актуальна проблема снижения токсичности и повышения селективности противоопухолевых ЛВ. Применение большинства традиционных химиотерапевтических препаратов часто ограничено из-за недостаточной селективности или тяжелых токсических эффектов на здоровые ткани и органы. Одним из наиболее часто используемых в онкологии препаратов для лечения различных видов рака является циклофосфамид (ЦФА) – 2-оксо-2-ди(β-хлорэтил)аминотетрагидро-2,1,3-фосфоксазин. Этот алкилирующий цитостатик, производное бис-(β-хлорэтил)-амина, обладает широким спектром противоопухолевой активности и высоким химиотерапевтическим индексом, а также оказывает иммунодепрессивное действие, поэтому используется не только в качестве противоопухолевого средства, но и при различных аутоиммунных и ревматических заболеваниях, а также в трансплантологии [7, 8]. Однако применение циклофосфамида как эффективного химиотерапевтического агента часто ограничивается из-за широкого спектра его побочных эффектов [9–11]. Он отличается относительно невысокой острой токсичностью, однако обладает очень высокой кумуляцией токсического действия [7].

В фармакологии формируется самостоятельное направление, связанное с поиском корректоров цитотоксической терапии. Особого внимания заслуживают некрахмальные полисахариды (НПС), многие из которых проявляют противоопухолевые и иммуномодулирующие свойства [12–16]. Исследования [17] показали, что НПС способны ослабить цитотоксические эффекты циклофосфамида, связанные с подавлением им лейкопоэза. Отмечается зависимость эффективности ЦФА от молекулярной массы (ММ) полисахарида [18, 19]. Однако перспектива разработки лекарственных веществ на основе большинства некрахмальных полисахаридов ограничена, прежде всего, потому, что, как правило, они являются высокомолекулярными и неоднородными.

Этих недостатков лишен арабиногалактан, выделенный из древесины различных видов лиственницы, характеризующийся невысокой молекулярной массой (12–20 кДа) и узким молекулярно-массовым распределением (степень полидисперсности 1,1–1,2). Показано, что АГ из лиственницы может служить целенаправленным носителем для доставки диагностических и терапевтических агентов, а также ферментов, нуклеиновых кислот, витаминов или гормонов, к определенным клеткам, в частности, к гепатоцитам [20]. Эффективность АГ обусловлена его способностью к рецептор-опосредованному эндоцитозу [21]. Многочисленные исследования показали, что АГ из лиственницы западной, американской, сибирской и даурской (Гмелина) проявляет иммуномодулирующие свойства [12, 22, 23].

Благодаря уникальному сочетанию этих свойств лиственничный арабиногалактан является одним из наиболее перспективных полисахаридов для адресной доставки ЛВ. Высокое содержание АГ в древесине сибирских видов лиственницы и разработка способов промышленного выделения обеспечивают доступность его для создания лекарственных препаратов нового поколения.

Для получения конъюгатов различных лекарственных средств с АГ его подвергают химической функционализации [5, 24]. Существенным недостатком этих способов является многостадийность и трудоемкость, что затрудняет их практическое воплощение.

Более перспективным способом модификации ЛВ является совместная механохимическая обработка их с арабиногалактаном, позволяющая получать целевые продукты без участия растворителей, в одну технологическую стадию. При этом химического взаимодействия лекарственного вещества с арабиногалактаном не происходит; наблюдается разрушение кристаллической структуры ЛВ и диспергирование их в матрице АГ. Установлено значительное снижение токсичности и повышение биодоступности известных лекарственных средств при совместной механохимической обработке их с АГ, что позволило на порядок уменьшить лечебную дозу этих препаратов [25–29]. Предпочтительность механохимической модификации ЛВ по сравнению с химическими методами очевидна благодаря простоте осуществления. Кроме того, показано, что механохимическая обработка АГ не снижает его биологическую активность [30].

Известно, что макромолекулы АГ различных видов лиственницы состоят из субъединиц, связанных водородными связями [31–34]. При обработке слабым раствором щелочи или при повышенной температуре, а также при интенсивной механохимической обработке [34] происходит двукратное снижение средней молекулярной массы макромолекул АГ, т.е. их распад на две субъединицы с одинаковой молекулярной массой (фрагментация). Фрагментированный АГ может быть более эффективным для адресной доставки ЛВ, чем исходный полисахарид [31, 32].

Накопленные литературные данные и полученные ранее собственные результаты авторов обосновывают перспективность создания комплексного противоопухолевого препарата пониженной токсичности и пролонгированного действия на основе циклофосфида и лиственничного арабиногалактана с различной молекулярной массой. Цель настоящей работы – получение механокомпозигов ЦФА с исходным и фрагментированным арабиногалактаном и исследование их физико-химических свойств.

Экспериментальная часть

Для исследований использовали опытно-промышленный образец лиственничного АГ (Арабиногалактан, ТУ 9363-041-64843061-12), предоставленный ООО ИНПФ «Химия древесины» (г. Иркутск), дополнительно очищенный переосаждением из воды в этанол (ММ 16645 Да). После фрагментации очищенного АГ по методу [33] получен продукт с ММ 8380 Да. Субстанция циклофосфида (т. пл. 43–45 °С) была предоставлена ФГУП ГНЦ «НИОПИК» (г. Москва).

Механообработку проводили в валковой мельнице МЛ-1м с барабаном объемом 150 мл, имеющим фторопластовую футеровку. В качестве мелющих тел использовали шары из нержавеющей стали диаметром 9 мм, загрузка 236 г. Ускорение мелющих тел – 1 g (свободное падение). Общая загрузка компонентов обрабатываемой смеси составляла 5,5–6 г при соотношении ЦФА : АГ 1 : 5 и 1 : 10, продолжительность механической обработки 4–12 ч. Растворимость полученных композигов в воде определяли согласно Государственной фармакопее РФ (XII издание, вып. 1).

Спектры ЯМР ^{13}C , ^{15}N и ^{31}P образцов регистрировали на спектрометрах Bruker DPX 400 и AV 400 с рабочими частотами 100,61, 40,56 и 161,98 МГц соответственно, при 298 К (растворитель – D_2O). Соотношение звеньев галактозы и арабинозы (Gal/Ага) в составе макромолекул АГ рассчитывали по соотношению интегральных интенсивностей сигналов аномерных атомов углерода арабинозы и галактозы в спектрах ЯМР ^{13}C [35]. ИК спектры регистрировали в таблетках с КВг на спектрофотометре Specord 75 IR в интервале 500–4000 cm^{-1} .

Средние молекулярные массы АГ в механокомпозигах определяли методом гельпроникающей хроматографии с помощью хроматографической системы Agilent 1260 в 0,1 М растворах LiNO_3 при концентрации образцов 1 мг/мл; калибровка по декстранам с молекулярной массой 25, 12, 5 кДа и D-галактозе. Рентгенографический анализ осуществляли на автодифрактометре D8 Advance, Cu-излучение, 40 kV, 40 mA, зеркало Гёбеля. Расчет дифрактограмм выполняли с помощью комплекса программ EVA.

Обсуждение результатов

Все полученные механокомпозигы циклофосфида с АГ легко растворимы в воде (250 г/л). ИК и ЯМР ^{31}P и ^{13}C спектры исходного и механообработанного в течение 12 ч ЦФА идентичны. Следовательно, при длительной механообработке химических превращений циклофосфида не происходит.

В двумерном спектре ЯМР ^{15}N исходного ЦФА сигнал экзоциклического атома азота регистрируется при -324 м.д., а циклического – при -332,3 м.д. В спектре механоактивированного ЦФА эти сигналы наблюдаются при -330,7 м.д. и -338,7 м.д. соответственно. Смещение сигналов атома азота в сильное поле на ~6 м.д., вероятно, обусловлено образованием в процессе механообработки водородных связей $\text{NH}\cdots\text{OH}$. В спектрах ЯМР ^{15}N механокомпозигов сигнал атома азота не обнаруживается из-за низкой концентрации в них циклофосфида. В спектрах ЯМР ^{31}P исходного и механоактивированного ЦФА, а также механокомпозигов ЦФА-АГ присутствует один сигнал в области 16 м.д. (P=O). В спектре механокомпозигов ЦФА с фрагментированным АГ появляется еще один сигнал в области 8,7 м.д., вероятно, относящийся к связи P-OH.

В случае механокомпозигов с фрагментированным АГ (табл., образец 8), вероятно, происходит частичное взаимодействие группы P=O циклофосфида с OH-группами макромолекулы АГ. На это указывают и дополнительные сигналы в спектрах ЯМР ^{13}C этих механокомпозигов в области 38-48 м.д., предположительно обусловленные образованием водородных связей.

Установлено, что соотношение Gal/Ага в исходном и фрагментированном образцах АГ примерно одинаково (табл., образцы 1 и 6). Совместная механообработка исходного АГ с ЦФА приводит к незначительному снижению доли арабинозных фрагментов в макромолекулах полисахарида, не зависящему от продолжительности механического воздействия (образцы 2–5). Доля арабинозных фрагментов в макромо-

лекулах фрагментированного АГ после механообработки (образцы 7, 8) снижается в большей степени (в 1,4–2,2 раза в зависимости от продолжительности механообработки).

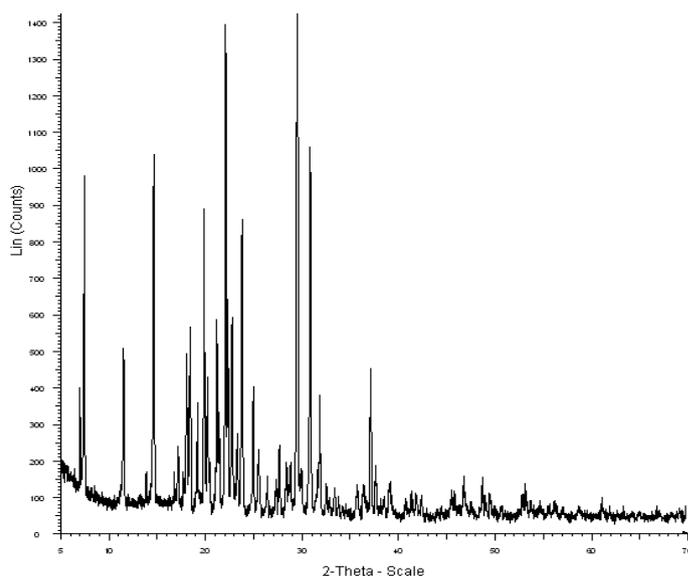
На хроматограммах исходного и фрагментированного образцов АГ наблюдаются два пика, характеризующие основной продукт и примесь олигомера. После механообработки с циклофосфамидом средняя молекулярная масса макромолекул АГ и степень полидисперсности (M_w / M_n) изменяются незначительно (табл.).

По данным рентгенофазового анализа ЦФА имеет кристаллическую структуру (рис. 1а), а исходный арабиногалактан аморфен (рис. 1б). На дифрактограммах механообработанных смесей циклофосфамида с нефрагментированным АГ (ММ 16645 Да) обнаруживается постепенное уширение и исчезновение рефлексов при увеличении продолжительности обработки, что свидетельствует об аморфизации циклофосфамида (рис. 2а). После механообработки ЦФА с фрагментированным АГ (ММ 8380 Да) в течение 12 ч циклофосфамид полностью аморфен (рис. 2б).

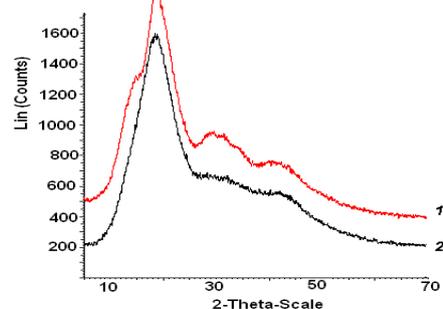
Следовательно, как было показано ранее с другими ЛВ [26–29], при механохимической обработке смеси циклофосфамида с АГ химического взаимодействия не наблюдается, а происходит разупорядочение кристаллической структуры лекарственного вещества и его молекулярное диспергирование в матрице полисахарида.

Молекулярно-массовые характеристики АГ в механокомпозитах

Образец	Соотношение ЦФА / АГ	Продолжительность обработки, ч	ММ	Площадь пиков с различной ММ, %	M_w / M_n	Gal / Ara
1	Исходный АГ (ММ 16645 Да)	–	16645	95,4	1,28	6,0
2		4	845	4,6	1,36	8,3
3		4	16670	100	1,45	8,8
4		8	16710	100	1,48	7,5
5		12	16950	100	1,55	8,0
6	Фрагментированный АГ (ММ 8380 Да)	–	8380	95,9	1,35	6,7
7		8	1670	4,1	1,28	9,5
8		12	8230	94,8	1,35	9,5
			1760	5,2	1,39	
			8390	94,4	1,35	14,8
			1440	5,6	1,44	



а



1 - АГ исходный, 2 - АГ фрагментированный

б

Рис. 1. Дифрактограммы исходных веществ: циклофосфамида (а) и арабиногалактана (б)

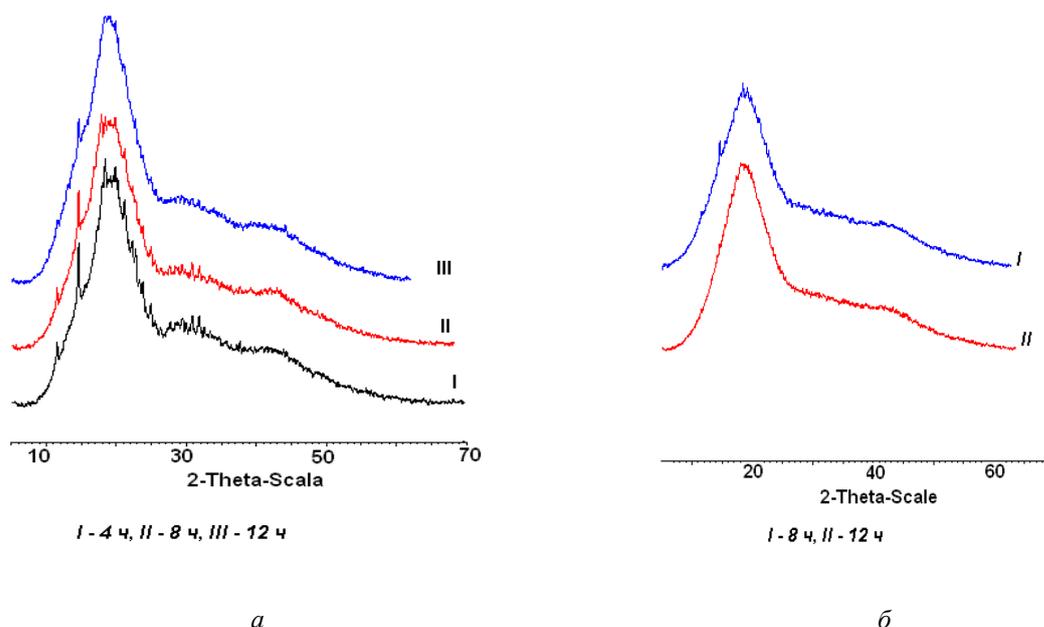


Рис. 2. Дифрактограммы механокомпозигов ЦФА-АГ в зависимости от продолжительности механообработки; *а* – с АГ (16645 Да); *б* – с АГ (ММ 8380 Да)

Выводы

1. Показано, что при длительной механообработке изменения химического состава циклофосфида не происходит; наблюдается только образование водородных связей $\text{NH}\cdots\text{OH}$.

2. Получены механокомпозигов циклофосфида с листовничным арабиногалактаном и продуктом его фрагментации. Установлено, что в процессе механообработки химического взаимодействия компонентов не происходит; наблюдается разупорядочение кристаллической структуры ЦФА и его молекулярное диспергирование в матрице полисахарида.

Основные результаты исследования получены с использованием материально-технической базы Байкальского аналитического центра коллективного пользования СО РАН.

Список литературы

1. Duncan R. Polymer conjugates as anticancer nanomedicines // *Nature Reviews Cancer*. 2006. Vol. 6. Pp. 688–701.
2. Ивонин А.Г., Пименов Е.В., Оборин В.А. и др. Направленный транспорт лекарственных препаратов: современное состояние вопроса и перспективы // *Известия Коми научного центра УрО РАН*. 2012. Вып. 1(9). С. 46–55.
3. Gaikwad D., Dhawale Sh., Khandare J., Patil M., Khade T., Gavitre B., Bobe K., Kulkarni V., Gaikwad U. Polymer-Drug Conjugates: Recent Achievements // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2011. Vol. 2. N2. Pp. 200–208.
4. Elvira C., Gallardo A., San Roman J., Cifuentes A. Covalent Polymer-Drug Conjugates // *Molecules*. 2005. Vol. 10. Pp. 114–125.
5. Patent 2007/034495 (WO). Conjugates of therapeutically active compounds / A. Domb, I. Polachek, M. Soskolni, J. Golenser / 2007.
6. Ильина А.В., Зубарева А.А., Курек Д.В. Наночастицы на основе сукцинированного хитозана с доксорубицином: формирование и свойства // *Российские нанотехнологии*. 2012. Т. 7. №1–2. С. 84–89.
7. Проценко Л.Д., Булкина З.П. Химия и фармакология синтетических противоопухолевых препаратов: справочник. Киев, 1985. 269 с.
8. Pegini P., Calabrese M., Rinaldi L., Gallo P. The safety profile of cyclophosphamide in multiple sclerosis therapy // *Expert Opinion on Drug Safety*. 2007. Vol. 6. Pp. 183–190.
9. Джумабаева Б.Т., Бирюкова Л.С. Нефротоксичность противоопухолевых препаратов, коррекция их дозы при лечении больных лимфопролиферативными и онкологическими заболеваниями, ассоциированными с почечной недостаточностью // *Гематология и трансфузиология*. 2015. Т. 60. №4. С. 30–35.
10. Morandi P., Ruffini P.A., Benvenuto G.M., Raimondi, Fosser V. Cardiac toxicity of high-dose chemotherapy // *Bone Marrow Transplant*. 2005. Vol. 35. Pp. 323–334.

11. Xu X., Zhang X. Effects of cyclophosphamide on immune system and gut microbiota in mice // *Microbiological Research*. 2015. Vol. 171. Pp. 97–106.
12. Kelly G.S. Larch Arabinogalactan: Clinical Relevance of a Novel Immune-Enhancing Polysaccharide // *Alternative Medicine Review*. 1999. Vol. 4. N2. Pp. 96–103.
13. Хотимченко Ю.С. Противоопухолевые свойства некрахмальных полисахаридов: фукоиданы, хитозаны // *Биология моря*. 2010. Т. 36. №5. С. 319–328.
14. Хотимченко Ю.С. Противоопухолевые свойства некрахмальных полисахаридов: каррагинаны, альгинаты, пектины // *Биология моря*. 2010. Т. 36. №6. С. 399–409.
15. Хотимченко М.Ю. Фармакологические свойства пектинов // *Эфферентная терапия*. 2001. Т. 7. №4. С. 22–36.
16. Makker N.P., Hogan V., Honjo Y. et al. Inhibition of human cancer cell growth and metastasis in nude mice by oral intake of modified citrus pectin // *Journal of the National Cancer Institute*. 2002. Vol. 94. Pp. 1854–1862.
17. Хотимченко Р.Ю. Разработка фармакологических средств на основе низкомолекулярных пектинов и альгинатов для антиоксидантной терапии: дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2015. 145 с.
18. Рыбалкина О.Ю., Разина Т.Г., Лопатина К.А. и др. Влияние некрахмальных полисахаридов с разной молекулярной массой на развитие карциномы легких Льюис у мышей и эффективность цитостатической терапии // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012. Т. 154. №10. С. 488–493.
19. Рыбалкина О.Ю., Ермакова Н.Н., Разина Т.Г. и др. Коррекция токсического влияния циклофосфана на гемопоз животных с карциномой легких Льюис с помощью низкомолекулярных альгинатов натрия // *Биология моря*. 2015. №5. С. 366–373.
20. Медведева Е.Н., Бабкин В.А., Остроухова Л.А. Арабиногалактан лиственницы – свойства и перспективы использования // *Химия растительного сырья*. 2003. №1. С. 27–37.
21. Patent 5544386 (US). Delivery of therapeutic agents to receptors using polysaccharides / E.V. Groman, E.T. Menz, P.M. Enriquez, C. Jung / 1996.
22. Kim L.S., Waters R.F., Burkholder P.M. Immunological Activity of Larch Arabinogalactan and Echinacea: A Preliminary, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial // *Alternative Medicine Review*. 2002. Vol. 7. N2. Pp. 138–149.
23. Медведева Е.Н., Бабкин В.А., Макаренко О.А., Николаев С.М., Хобракова В.Б., Шулунова А.М., Федорова Т.Е., Еськова Л.А. Получение высокоочищенного арабиногалактана лиственницы и исследование его иммуномодулирующих свойств // *Химия растительного сырья*. 2004. №4. С. 17–23.
24. Patent 6011008 (US). Drug conjugates with oxidized arabinogalactan or dextran / A.J. Domb, S. Benita, I. Polachek, G. Linden / 2000.
25. Душкин А.В., Метелева Е.С., Толстикова Т.Г., Толстиков Г.А., Поляков Н.Э., Неверова Н.А., Медведева Е.Н., Бабкин В.А. Механохимическое получение и фармакологическая активность водорастворимых межмолекулярных комплексов арабиногалактана и лекарственных веществ // *Известия РАН. Сер. Хим.* 2008. №6. С. 1274–1282.
26. Babkin V.A., Medvedeva E.N., Neverova N.A., Levchuk A.A., Sapozhnikov A.N. Mechanical composites of rimantadine and larch arabinogalactan // *Chemistry of Natural Compounds*. 2014. Vol. 50. N2. Pp. 225–229.
27. Бабкин В.А., Медведева Е.Н., Неверова Н.А., Чипанина Н.Н., Аксаментова Т.Н., Метелева Е.С., Душкин А.В. Исследование механокомпозиатов на основе арабиногалактана и лекарственных веществ // *Материалы IV Всероссийской научной конференции «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья»*. Барнаул, 2009. Т. 1. С. 176–178.
28. Толстикова Т.Г., Хвостов М.В., Брызгалов А.О., Душкин А.В., Толстиков Г.А. Арабиногалактан – растительный полисахарид как новое средство для клатрирования фармаконов // *Доклады академии наук*. 2010. Т. 433. №5. С. 713–714.
29. Dushkin A.V., Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Tolstikov G.A. Complexes of polysaccharides and glycyrrhizic acid with drug molecules. Mechanochemical synthesis and pharmacological activity // in book *The Complex World of Polysaccharides*, ed. by Dr. D.N. Karunaratn. Publisher: InTech, 2012. Pp. 573–602.
30. Медведева Е.Н., Неверова Н.А., Федорова Т.Е., Бабкин В.А., Метелева Е.С., Душкин А.В., Толстикова Т.Г., Хвостов М.В., Долгих М.П. Структурные превращения арабиногалактана из лиственницы сибирской при механохимической обработке и биологические свойства продуктов // *Химия растительного сырья*. 2009. №3. С. 49–56.
31. Prescott J., Enriquez P.M., Chu Jung, Menz E.T., Groman E.V. Larch arabinogalactan for hepatic drug delivery: isolation and characterization of a 9 kDa arabinogalactan fragment // *Carbohydrate Research*. 1995. Vol. 278. Pp. 113–128.
32. Ponder G.R., Richards G.N. Arabinogalactan from Western Larch, Part II; A Reversible Order-Disorder Transition // *Journal of Carbohydrate Chemistry*. 1997. Vol. 16. N2. Pp. 195–211.
33. Ponder G.R., Richards G.N. Arabinogalactan from Western larch. Part III. Alkaline degradation revisited, with novel conclusions on molecular structure // *Carbohydrate Polymers*. 1997. Vol. 34. N4. Pp. 251–261.
34. Душкин А.В., Метелева Е.С., Толстикова Т.Г., Павлова А.В., Хвостов М.В. Гель-хроматографическое и токсикологическое исследование механохимических превращений водорастворимых полисахаридов // *Химико-фармацевтический журнал*. 2012. №7. С. 70–73.
35. Медведева Е.Н., Федорова Т.Е., Ванина А.С., Рохин А.В., Еськова Л.А., Бабкин В.А. Влияние способа выделения и очистки арабиногалактана из древесины лиственницы сибирской на его строение и свойства // *Химия растительного сырья*. 2006. №1. С. 25–32.

Поступило в редакцию 13 сентября 2017 г.

После переработки 2 октября 2017 г.

Neverova N.A.^{1*}, Medvedeva E.N.¹, Babkin V.A.¹, Larina L.I.¹, Sapozhnikov A.N.², Levchuk A.A.¹, Kuzmin S.G.³ SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF THE MECHANOCOMPOSITES OF ARABINOGALACTAN WITH CYCLOPHOSPHAMIDE

¹ Irkutsk Institute of Chemistry. A.E. Favorsky, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, ul. Favorskogo, 1, Irkutsk, 664033 (Russia), e-mail: nadya_neverova@irioch.irk.ru

² Institute of Geochemistry. A.P. Vinogradov, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, ul. Favorskogo, 1a, Irkutsk, 664033 (Russia)

³ State Scientific Center "NIOPIK", ul. B. Sadovaya, 1, building 4, Moscow, 123001 (Russia)

Methods of the creating systems for directional transport in the organism with the help of various carriers have recently been developed to improve the effectiveness and selectivity of the action of known drug substances (DS). Especially, the relevant problem is the toxicity reducing and selectivity increasing of antitumor DS. In recent years, studies are conducted on the creation of DS conjugates with natural polymers, in particular, with non-starch polysaccharides, many of which exhibit antitumor and immunomodulatory properties. Due to the unique combination of physico-chemical and biological properties, larch arabinogalactan (AG) is one of the most promising for the development of complex drugs with increased bioavailability and reduced toxicity.

The aim of this work is to obtain mechanocomposites of cyclophosphamide (CPA) with the initial (molecular weight 16645 Da) and fragmented (molecular weight 8380 Da) arabinogalactan and to study their physico-chemical properties.

According to IR and NMR ¹³C, ¹⁵N and ³¹P spectroscopy data, the long-term mechanochemical treatment does not lead to the change of the chemical composition of CPA molecules, only the formation of hydrogen bonds NH...OH is observed. According to the data of X-ray diffraction analysis, IR and multi-nuclear NMR spectroscopy, the disordering of the crystal CPA structure and its molecular dispersion in the polysaccharide matrix without chemical interaction of the components are occurred during the mechanochemical treatment of CPA-AG mixtures at mass ratios of 1 : 5 and 1 : 10 for 4–12 hours.

Keywords: cyclophosphamide, larch arabinogalactan, mechanochemical treatment, mechanical composites, multi-nuclear NMR spectroscopy, X-ray diffraction analysis.

References

1. Duncan R. *Nature Reviews Cancer*, 2006, vol. 6, pp. 688–701.
2. Ivonin A.G., Pimenov E.V., Oborin V.A. i dr. *Izvestiia Komi nauchnogo tsentra UrO RAN*, 2012, no. 1(9), pp. 46–55. (in Russ.).
3. Gaikwad D., Dhawale Sh., Khandare J., Patil M., Khade T., Gavitre B., Bobe K., Kulkarni V., Gaikwad U. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2011, vol. 2, no. 2, pp. 200–208.
4. Elvira C., Gallardo A., San Roman J., Cifuentes A. *Molecules*, 2005, vol. 10, pp. 114–125.
5. Patent 2007/034495 (WO). 2007.
6. Il'ina A.V., Zubareva A.A., Kurek D.V. *Rossiiskie nanotekhnologii*, 2012, vol. 7, no. 1-2, pp. 84–89. (in Russ.).
7. Protsenko L.D., Bulkina Z.P. *Khimiia i farmakologiiia sinteticheskikh protivopukholevykh preparatov: spravochnik*. [Chemistry and Pharmacology of Synthetic Antitumor Preparations: A Handbook]. Kiev, 1985, 269 p. (in Russ.).
8. Perini P., Calabrese M., Rinaldi L., Gallo P. *Expert Opinion on Drug Safety*, 2007, vol. 6, pp. 183–190.
9. Dzhumabaeva B.T., Biriukova L.S. *Gematologiiia i transfuziologiiia*, 2015, vol. 60, no. 4, pp. 30–35. (in Russ.).
10. Morandi P., Ruffini P.A., Benvenuto G.M., Raimondi, Fossier V. *Bone Marrow Transplant*, 2005, vol. 35, pp. 323–334.
11. Xu X., Zhang X. *Microbiological Research*, 2015, vol. 171, pp. 97–106.
12. Kelly G.S. *Alternative Medicine Review*, 1999, vol. 4, no. 2, pp. 96–103.
13. Khotimchenko Iu.S. *Biologiiia moria*, 2010, vol. 36, no. 5, pp. 319–328. (in Russ.).
14. Khotimchenko Iu.S. *Biologiiia moria*, 2010, vol. 36, no. 6, pp. 399–409. (in Russ.).
15. Khotimchenko M.Iu. *Efferentnaia terapiia*, 2001, vol. 7, no. 4, pp. 22–36. (in Russ.).
16. Makker N.P., Hogan V., Honjo Y. et al. *Journal of the National Cancer Institute*, 2002, vol. 94, pp. 1854–1862.
17. Khotimchenko R.Iu. *Razrabotka farmakologicheskikh sredstv na osnove nizkomolekuliarnykh pektinov i al'ginatov dlia antitoksicheskoi terapii: dis. ... kand. biol. nauk*. [Development of pharmacological agents based on low molecular weight pectins and alginates for antitoxic therapy: dis. ... cand. Biol. Sciences.]. Vladivostok, 2015, 145 p. (in Russ.).
18. Rybalkina O.Iu., Razina T.G., Lopatina K.A. i dr. *Biulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*, 2012, vol. 154, no. 10, pp. 488–493. (in Russ.).
19. Rybalkina O.Iu., Ermakova N.N., Razina T.G. i dr. *Biologiiia moria*, 2015, no. 5, pp. 366–373. (in Russ.).
20. Medvedeva E.N., Babkin V.A., Ostroukhova L.A. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2003, no. 1, pp. 27–37. (in Russ.).
21. Patent 5544386 (US). 1996.
22. Kim L.S., Waters R.F., Burkholder P.M. *Alternative Medicine Review*, 2002, vol. 7, no. 2, pp. 138–149.
23. Medvedeva E.N., Babkin V.A., Makarenko O.A., Nikolaev S.M., Khobrakova V.B., Shulunova A.M., Fedorova T.E., Es'kova L.A. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2004, no. 4, pp. 17–23. (in Russ.).
24. Patent 6011008 (US). 2000.
25. Dushkin A.V., Meteleva E.S., Tolstikova T.G., Tolstikov G.A., Poliakov N.E. Neverova N.A., Medvedeva E.N., Babkin V.A. *Izvestiia RAN. Ser. Khim.*, 2008, no. 6, pp. 1274–1282. (in Russ.).
26. Babkin V.A., Medvedeva E.N., Neverova N.A., Levchuk A.A., Sapozhnikov A.N. *Chemistry of Natural Compounds*, 2014, vol. 50, no. 2, pp. 225–229.

* Corresponding author.

27. Babkin V.A., Medvedeva E.N., Neverova N.A., Chipanina N.N., Aksamentova T.N., Meteleva E.S., Dushkin A.V. *Materialy IV Vserossiiskoi nauchnoi konferentsii «Novye dostizheniia v khimii i khimicheskoi tekhnologii rastitel'nogo syr'ia»*. [Materials of the IV All-Russian Scientific Conference "New achievements in chemistry and chemical technology of plant raw materials"]. Barnaul, 2009, vol. 1, pp. 176–178. (in Russ.).
28. Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Bryzgalov A.O., Dushkin A.V., Tolstikov G.A. *Doklady akademii nauk*, 2010, vol. 433, no. 5, pp. 713–714. (in Russ.).
29. Dushkin A.V., Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Tolstikov G.A. *The Complex World of Polysaccharids*, ed. D.N. Karunaratn. Publisher: InTech, 2012, pp. 573–602.
30. Medvedeva E.N., Neverova N.A., Fedorova T.E., Babkin V.A., Meteleva E.S., Dushkin A.V., Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Dolgikh M.P. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2009, no. 3, pp. 49–56. (in Russ.).
31. Prescott J., Enriquez P.M., Chu Jung, Menz E.T., Groman E.V. *Carbohydrate Research*, 1995, vol. 278, pp. 113–128.
32. Ponder G.R., Richards G.N. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 1997, vol. 16, no. 2, pp. 195–211.
33. Ponder G.R., Richards G.N. *Carbohydrate Polymers*, 1997, vol. 34, no. 4, pp. 251–261.
34. Dushkin A.V., Meteleva E.S., Tolstikova T.G., Pavlova A.V., Khvostov M.V. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2012, no. 7, pp. 70–73. (in Russ.).
35. Medvedeva E.N., Fedorova T.E., Vanina A.S., Rokhin A.V., Es'kova L.A., Babkin V.A. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2006, no. 1, pp. 25–32. (in Russ.).

Received September 13, 2017

Revised October 2, 2017