

**В.В. Мещерикова, Е.В. Тазина, А.П. Полозкова, О.Л. Орлова,  
Н.А. Оборотова, А.А. Вайнсон, С.П. Ярмоненко, А.Ю. Барышников**

## **ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ ВКЛЮЧЕННОГО В ТЕРМОЛИПОСОМЫ ДОКСОРУБИЦИНА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРТЕРМИИ**

**V.V. Mescherikova, E.V. Tazina, A.P. Polozkova, O.L. Orlova,  
N.A. Oborotova, A.A. Wainson, S.P. Yarmonenko, A.Yu. Baryshnikov**

### **Anti-tumor Effect of Doxorubicin Loaded to Thermoliposomes under Hyperthermia**

#### РЕФЕРАТ

**Цель:** Изучение противоопухолевого действия лиофилизированных термолипосом (ТЛ) с доксорубицином (Д) *in vitro* и *in vivo*.

**Материалы и методы:** ТЛ получали методом обращения фаз с последующей загрузкой Д против градиента сульфата аммония. Для очистки ТЛ использовали метод гель-фильтрации. Эксперименты проводили *in vitro* на клетках меланомы В-16, а *in vivo* — на перевитых мышцах в мышцу голени меланоме В-16 и карциноме Эрлиха линии ELD.

**Результаты:** Включение Д в свежеприготовленные ТЛ достигает ~80 %. Прогревание суспензии клеток с Д, инкапсулированным в ТЛ, способствовало увеличению проницаемости бислойной мембраны и высвобождению препарата в среду. После сеанса гипертермии снижение выживаемости клеток *in vitro* было одинаковым при введении в среду чистого Д или аналогичного количества Д, включенного в ТЛ. В опытах *in vivo* замедление роста опухолей и увеличение продолжительности жизни животных после сеанса гипертермии на фоне введения нагруженных ТЛ было даже больше, чем при введении чистого Д. Учитывая, что Д высвобождается из ТЛ именно в прогреваемых опухолях и меньше действует на нормальные ткани, чем равномерно распределяющийся свободный препарат, использование Д в составе ТЛ может повысить безопасность его клинического применения при одинаковой противоопухолевой эффективности.

**Выводы:** Получены термочувствительные липосомы с высокой степенью включения Д, агрегационно устойчивые в течение нескольких суток. ТЛ в сочетании с локальным прогреванием в течение 30 мин при 43°C вызывают существенно большую регрессию перевитых опухолей по сравнению с действием свободного Д при тех же условиях гипертермии. Оптимальный интервал между введением ТЛ с доксорубицином и началом сеанса гипертермии в данных экспериментах составил 15–20 мин.

**Ключевые слова:** доксорубицин, термочувствительные липосомы, гипертермия, меланома В-16, карцинома Эрлиха

#### ABSTRACT

**Purpose:** To investigate the therapeutic efficacy of lyophilized thermosensitive liposomes with doxorubicin (Dx) on melanoma B-16 cells *in vitro* and on melanoma B-16 and solid Ehrlich transplanted tumors *in vivo*.

**Materials and methods:** Thermosensitive liposomes were prepared by reverse evaporation method, Dx was loaded by ammonium ion gradient. Liposomes were separated from untrapped Dx by gel filtration. Experiments were performed on melanoma B-16 cells *in vitro* and on B-16 and Ehrlich solid tumors *in vivo*. Tumors were transplanted into the shin muscle.

**Results:** The non-lyophilized thermosensitive liposomes encapsulated ~80 % of doxorubicin.

Heating of cell suspension with Dx-loaded thermoliposomes results in release of Dx into the media. Cell survival after treatment was similar irrespectively whether Dx was free or entrapped. In *in vitro* experiments, the tumor regression and animals' survival were even larger after heating (30 min at 43°C) performed after administration of thermoliposomes than after administration of free Dx. Provided that entrapped Dx is leached in locally heated tumors and therefore may be less toxic to distant normal tissues, the clinical use of Dx-loaded thermoliposomes may be safer than administration of free drug with equal effect on the tumor growth.

**Conclusion:** The thermosensitive liposomes with high degree of Dx encapsulation and stability during several days have been prepared. Inclusion of Dx into liposomes has resulted in the decrease of its toxicity as judged by animal survival. Administration of Dx-loaded thermoliposomes before local heating of tumors results to more pronounced suppression of tumor growth and higher animal survival if compared to administration of free Dx. Optimal interval between liposome administration and the start of heating was 20 min.

**Keywords:** doxorubicin, thermosensitive liposomes, hyperthermia, melanoma B-16, Ehrlich solid carcinoma