

УДК 577.151:577.152: 678.56:544.773.3:577.325:579.84:579.86:637.636

## ТЕХНОЛОГИЯ «NANOZYME» В МОСКОВСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ. ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Е.А. Зайцева<sup>1\*</sup>, Ю.И. Головин<sup>1,2</sup>, О.А. Кост<sup>1</sup>, И.И. Никольская<sup>1</sup>,  
К.Ю. Власова<sup>1</sup>, Л.Ю. Филатова<sup>1</sup>, А.Б. Белова<sup>1</sup>, Е.Н. Ефременко<sup>1</sup>,  
И.В. Лягин<sup>1</sup>, А.Д. Алексашкин<sup>1</sup>, Н.В. Нуколова<sup>3</sup>, А.Г. Мажуга<sup>1,4</sup>,  
А.В. Кабанов<sup>1,5</sup>, Н.Л. Клячко<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>кафедра химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина; <sup>3</sup>Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского; <sup>4</sup>Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»; <sup>5</sup>Университет Северной Каролины, школа фармацевтики им. Эшельмана; \*e-mail: ezaitseva2008@gmail.com)

Представлены новые функциональные бионаносистемы для диагностики и терапии на основе белков, ферментов, полимерных покрытий, магнитных наночастиц (МНЧ), разработанные в лаборатории «Химический дизайн бионаноматериалов» (кафедра химической энзимологии химического факультета МГУ) в сотрудничестве с учеными Школы фармацевтики им. Эшельмана Университета Северной Каролины (США). Обсуждаются свойства ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, органофосфатгидролазы, лизинов бактериофагов и других лекарственных молекул в составе полимерных нанокомплексов, физико-химические характеристики полученных наноформуляций, особенности функционирования в условиях *in vitro* и *in vivo*, способы адресной доставки, в том числе с использованием клеточно-опосредованных систем и магнитных наночастиц. Показана высокая потенциальная терапевтическая эффективность разработанных нанокомпозиций для лечения болезней центральной нервной системы и головного мозга, воспалений, в том числе воспалений глаз, онкологических и инфекционные заболеваний, нейротоксических поражений и др. Анализируются возможности дистанционного управления биохимическими реакциями с помощью низкочастотного переменного магнитного поля (ПМП) для контролируемого высвобождения лекарств. Представлены и обсуждаются экспериментальные результаты по воздействию ПМП на бионаносистемы, содержащие магнитные наночастицы (изменение каталитической активности ферментов, прикрепленных к МНЧ, разрыхление билипидных мембран и др.).

**Ключевые слова:** наномедицина, ферменты, блоксополимеры, нанозимы, адресная доставка лекарственных средств, тераностика, функционализированные магнитные наночастицы, низкочастотное переменное магнитное поле, контролируемое высвобождение лекарств.

Адресная доставка лекарственных средств – одно из самых перспективных направлений развития наномедицины. Об этом свидетельствуют множество статей, публикуемых ежегодно в специализированных высокорейтинговых научных журналах (J. Controlled Release, Advanced Drug Delivery Reviews, Nanomedicine и др.). Для осуществления поставленных целей в этой области современная наука предлагает целый комплекс методов и технических средств, включающий транспортную систему (наноразмерные носители различной природы и структуры, как правило, функционализированные для иммобилизации лекарственных молекул), биохимические методы распознавания

заданных молекулярных структур и селективного взаимодействия с ними, средства ранней диагностики, а также тераностики, средства дистанционного управления выпуском лекарств для регуляции их активности, магнитную гипертермию злокачественных образований, *in situ* контроль результатов терапии и др. Однако остаются проблемы, не позволяющие использовать лекарственные средства направленного действия в клинической практике в полной мере. Это может быть связано с безопасностью медицинских технологий, низкой селективностью и стабильностью лекарственных средств, трудностями дозирования, возникновением нежелательных побочных эф-

фектов, недостаточной локализацией и др. Перечисленные проблемы диктуют необходимость совершенствования подходов и методов получения лекарственных средств направленного действия, а также создания принципиально новых стратегий и технологий адресной доставки с возможностью управления активностью лекарственных молекул. Такие цели ставит перед собой коллектив созданной в 2010 г. в МГУ имени М.В. Ломоносова лаборатории «Химический дизайн бионаноматериалов», деятельность которой направлена на создание нового поколения бионаносистем на основе белков, ферментов, полимерных покрытий и магнитных наночастиц. Разрабатываемые в лаборатории методы получения наноформуляций и изучение их свойств имеют как фундаментальное, так и прикладное значение, открывая новые возможности для лечения и диагностики широкого круга социально-значимых заболеваний (болезни головного мозга, в том числе ишемический инсульт, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и другие нейродегенеративные заболевания; опасные глазные болезни, ведущие к слепоте; онкологические заболевания, бактериальные инфекции, травмы спинного мозга, нейротоксические поражения и др.).

Общий подход, объединяющий проводимые исследования, основан на принципах технологии «NanoZYME™» [1], разработанной А.В. Кабановым с соавторами, согласно которой терапевтически важные белки и ферменты включаются в полиионные комплексы блоксополимеров, содержащие заряженные и незаряженные звенья, с возможной последующей сшивкой белков с полимерной матрицей. Полученные таким образом наночастицы (нанозимы) сохраняют каталитическую активность, обладают повышенной стабильностью за счет образования полимерной «шубы», возможностью функционализации поверхности, возможностью длительное время циркулировать в кровотоке и осуществлять адресную доставку лекарственных молекул.

Согласно этим принципам, в лаборатории развиваются следующие основные направления научных исследований:

антиоксидантные ферменты в составе блоксополимерных комплексов и конъюгатов для создания противовоспалительных и нейропротекторных терапевтических агентов, в том числе для лечения воспалений глаз и травмы спинного мозга;

гидролитические нанозимы на основе органофосфатгидролазазы для защиты от нейротоксических поражений;

ферменты бактериофагов и бактериолитические нанозимы для борьбы с инфекционными за-

болеваниями, вызванными как грамположительными, так и грамотрицательными патогенными микроорганизмами;

магнитные наночастицы для терапии и диагностики; разработка стратегии дистанционного управления с помощью низкочастотных магнитных полей функциями биополимеров и других макромолекул, иммобилизованных на магнитных наночастицах.

Настоящая работа посвящена исследованиям, которые проводятся в последние годы в лаборатории «Химический дизайн бионаноматериалов» в тесном сотрудничестве с Университетом Северной Каролины (школа фармацевтики им. Эшельмана), Институтом глазных болезней им. Гельмгольца, Российским национальным исследовательским медицинским университетом им. Н.И. Пирогова, Научно-образовательным центром «Нанотехнологии и наноматериалы» Тамбовского государственного университета им. Г.Р. Державина, Национальным исследовательским технологическим университетом «МИСиС».

#### ***Антиоксидантные ферменты в составе блоксополимерных комплексов и конъюгатов для создания противовоспалительных и нейропротекторных терапевтических агентов***

Важным направлением проводимых нами научных исследований с использованием антиоксидантных ферментов является разработка подходов для лечения ряда заболеваний, при которых окислительный стресс эндотелия сосудов и нервной ткани играет одну из ключевых ролей. К числу таких заболеваний и патологических состояний относятся гипоксия, атеросклероз, артериальная гипертензия, сосудистая деменция, сахарный диабет, болезнь Альцгеймера, паркинсонизм, ишемический инсульт, постинсультные синдромы и другие нейродегенеративные заболевания. На этой стадии становится чрезвычайно важной доставка в мозг в целях нейропротекции окислительно-восстановительных ферментов, во много раз превосходящих неферментативные антиоксидантные системы по скорости утилизации деструктивных свободных радикалов.

В целях улучшения доставки в центральную нервную систему в ряде исследований, проведенных Н.Л. Клячко [2], Д.С. Маникам [3], С.В. Углановой [4] с соавторами, были разработаны простые методы синтеза нанокомплексов, содержащих антиоксидантные ферменты: каталазу, супероксиддисмутазу (СОД1 или Cu/Zn СОД) и блоксополимеры (полиэтиленмин-полиэтиленгликоль (ПЭИ-ПЭГ), поли(L-

лизин)-полиэтиленгликоль (ПЛ-ПЭГ), метокси-поли(этиленгликоль)-поли(L-лизин) (ПЛ-МПЭГ)) с разной длиной заряженной цепи, разветвленностью полимера и зарядом полиэлектролита. Получены биферментные наноформуляции, содержащие в одной частице оба фермента [2]. Для стабилизации систем использовали сшивающие агенты: глутаровый альдегид, бис-(сульфосукцинимид) суберат динатриевую соль или 1-этил-3-[3-диметиламинопропил]карбодиимид гидрохлорид и N-гидроксисульфосукцинимид. Образование наноконструкций, содержащих ферменты, было подтверждено методами гель-электрофореза и вестерн-блоттинга. Изучены условия (рН, соотношение зарядов поликатион/белок), при которых происходит иммобилизация молекул активного фермента в полимерную матрицу.

Были определены следующие физико-химические параметры: средние размеры наночастиц в системе,  $\zeta$ -потенциал в зависимости от состава, эффективность включения и связывания ферментов, стабильность. Показано, что включение фермента составляет 70–100% по оценкам ферментативной активности. Средние размеры частиц, определенные методом динамического светорассеяния и атомно-силовой микроскопии, не превышают 50 нм; остаточная активность ферментов (каталазы, СОД1,) в составе комплексов с полиэлектролитами составляет не ниже 95–100% по сравнению с исходной; остаточная активность ферментов в составе стабилизированных сшивающими агентами наночастиц составляет не ниже 70%.

Полученные комплексы, названные сшитыми нанозимами, сохраняют каталитическую активность, имеют узкое распределение по размерам, обладают улучшенными свойствами по сравнению с нанозимами без ковалентной сшивки. Показано уменьшение цитотоксичности за счет подавления процесса высвобождения блоксополимера из наночастиц, увеличение времени действия и способности фермента в составе нанозима поглощать экспериментально индуцированные активные формы кислорода (АФК) в культивируемых эндотелиальных клетках микрососудов мозга и в клетках нейронов.

В результате проведенных сравнительных исследований *in vivo* установлено, что наличие ковалентных сшивок играет решающую роль в повышении стабильности ферментов и способности осуществлять их доставку в мозг. Продемонстрировано увеличение накопления в кровотоке и мозге мышей  $^{125}\text{I}$ -меченой СОД1 в составе ковалентно сшитых нанозимов по сравнению с нанозимами

без использования сшивающих агентов. Для ковалентно связанных образцов СОД1 показано 1,7- и 10-кратное увеличение (по сравнению со значениями в сыворотке крови) содержания фермента СОД1 соответственно в паренхиме и капиллярах головного мозга [2]. После однократной внутривенной инъекции сшитых нанозимов состава СОД1 или каталаза (ПЛ<sub>50</sub>-МПЭГ) наблюдали уменьшение повреждения тканей мозга при ишемическом инсульте и терапевтической реперфузии крыс, а также улучшение сенсомоторных функций при окклюзии средней мозговой артерии [3]. Полученные результаты свидетельствуют о хороших перспективах использования данных ковалентно-связанных формуляций в качестве лекарственных препаратов для подавления окислительного стресса при повреждениях головного мозга.

В качестве систем доставки антиоксидантных ферментов непосредственно в мозг для лечения болезни Паркинсона многообещающим оказалось использование макрофагов. Такие работы по созданию клеточно-опосредованных систем доставки лекарств проводятся учеными из Медицинского центра университета Небраски и Школы фармацевтики им. Эшельмана университета Северной Каролины (США) (Batrakova E.V., Zhao Y., Brynskikh A.M., Haney M.J., Kabanov A.V. и др.) [5–7]. В качестве клеток-переносчиков использовали костномозговые макрофаги (ВММ), в которые были включены сшитые полимерные наноконструкции, содержащие каталазу [5]. В условиях *in vitro* и *in vivo* исследована возможность их функционирования, изучены процессы включения и высвобождения ферментсодержащих полимерных наноконструкций. На модели активированной микроглии в мозге при болезни Паркинсона показана способность блок-иономерных наноконструкций разного состава, содержащих каталазу, элиминировать активные формы кислорода (АФК), продуцируемые активными макрофагами ВММ. Максимальную активность наблюдали для блок-иономерных наноконструкций с положительно заряженными блок-сополимерами: ПЛ<sub>n</sub>-ПЭГ и ПЭИ<sub>10</sub>-ПЭГ. Изучена способность полиионных комплексов разного состава сохранять ферментативную активность каталазы, заключенной в клетку-носитель. Все наночастицы с ПЭГ-«коронаой» по сравнению с положительно заряженными блок-сополимерами демонстрируют более эффективную защиту каталазы в макрофагах.

Макрофаги, загруженные полиэлектролитными наноконструкциями, содержащими каталазу, способны частично проникать в ткани и постепенно высвобождать наночастицы, обеспечивая устой-

чивый уровень содержания каталазы в плазме крови свыше 7 дней. [6]. Установлено, что такие формуляции подавляют нейровоспаления, защищают нейроны nigro-стриатального пути от интоксикации. Кроме того, за счет более легкого переноса нанозима от клетки к клетке может быть значительно усилена нейропротекция от окислительного стресса, который, как правило, сопровождает нейродегенеративные процессы во время болезни [7].

Дизайн наноформуляции играет решающую роль в эффективности лекарственного средства и процессе его доставки в клетки-мишени. Разработанная Н.Л. Клячко совместно с учеными Университета Северной Каролины оптимальная композиция для доставки нанозимов, содержащих каталазу, в мозг с использованием макрофагов, существенно отличается от других формуляций и демонстрирует отличные терапевтические свойства при лечении паркинсонизма [8]. Нанозимы на основе сшитых блок-иономерных комплексов ПЭИ-ПЭГ-каталаза, загружаемые в макрофаги, имеют относительно большой размер (200 нм), за счет чего увеличиваются емкость по ферменту и высвобождение нанозимов из макрофагов. Ковалентная сшивка с использованием бис(сульфосукцинимидил) суберата (BS3) и 3,3'-дителиобис(сульфосукцинимидил пропионата) (DTSSP) обеспечивает низкую цитотоксичность наноформуляции и высокую степень защиты фермента. Важно, что при создании наноформуляции использовали макрофаги с активированным противовоспалительным фенотипом M2. Это препятствует дальнейшим воспалительным процессам в головном мозге и приводит к малозаметному, но статистически значимому положительному эффекту на регенерацию нейронов и восстановлению функций мозга *in vivo*. При введении разработанной композиции экспериментальным животным (модель болезни Паркинсона у мышей) снижается нейрогенный ответ и увеличивается выживаемость нейронов.

Разрабатываемые препараты с использованием клеточно-опосредованных систем могут служить основой новой технологии доставки лекарственных веществ, которые препятствуют прогрессированию болезни Паркинсона и ослабляют ее течение.

Следует отметить, что в настоящее время экзосомы, внеклеточные везикулы диаметром 30–100 нм, выделяемые в межклеточное пространство клетками различных тканей и органов, находятся в центре внимания как перспективные носители лекарственных средств [9–20]. Экзосомы, состоящие из липидного бислоя (в том числе из множества адгезивных белков, обладающих

способностью взаимодействовать с клеточными мембранами), осуществляют межклеточные коммуникации и могут обеспечивать эффективную доставку различных терапевтических агентов к клеткам-мишеням. Кроме того, экзосомы могут быть целенаправленно изменены через родительские клетки путем экспрессии функциональных групп на их поверхности или путем добавления желаемой биологической активности. Важно, что экзосомы, секретлируемые моноцитами и макрофагами, имеют возможность (как часть иммунной системы хозяина) избежать захвата мононуклеарными фагоцитами. В целом, экзосомы объединяют преимущества синтетических наноносителей и клеточно-опосредованных систем доставки, избегая при этом их ограничений.

Сотрудниками Университета Северной Каролины совместно с сотрудниками лаборатории «Химический дизайн бионаноматериалов» Е.Д. Плотниковой и Н.Л. Клячко была разработана новая система доставки антиоксидантного фермента каталазы для лечения болезни Паркинсона с использованием экзосом в качестве носителей [21]. Каталаза была загружена в экзосомы *ex vivo* с помощью различных методов (инкубация при комнатной температуре, изменение проницаемости мембран клеток с помощью сапонина, применение циклов замораживания-оттаивания, обработка ультразвуком, экструзия). Это позволило достичь высокой степени включения фермента, медленного высвобождения и устойчивости к протеазам. Размер полученных формуляций (exoCAT) составил 100–200 нм. Показано, что в условиях *in vitro* экзосомы легко захватываются клетками нейронов. Значительное количество экзосом было обнаружено в мозге экспериментальных животных (модель болезни Паркинсона у мышей) после интраназального введения наноформуляций. На моделях болезни Паркинсона *in vitro* и *in vivo* установлено, что ExoCAT обеспечивает значительное нейропротекторное действие. Сделан вывод, что экзосомальные системы на основе каталазы обладают хорошим потенциалом для разработки универсальной стратегии лечения воспалительных и нейродегенеративных расстройств.

#### **Антиоксидантные ферменты для лечения воспалительных заболеваний глаз**

В лаборатории «Химический дизайн бионаноматериалов» группой исследователей под руководством О.А. Кост совместно со специалистами Института глазных болезней им. Гельмгольца успешно выполняются работы, целью которых является

создание лекарственных препаратов для лечения воспалительных заболеваний глаз.

Особое место по тяжести исходов и трудности лечения занимают увеиты – воспалительные процессы в сосудистой оболочке глаза, анатомически представленной внутренними структурами глаза. Заболеваемость увеитами в структуре общей глазной патологии составляет 5–12%, а в структуре слепоты удельный вес увеитов составляет от 7 до 20%. Важность проблемы лечения увеитов определяется полиэтиологичностью заболевания, низкой эффективностью антибиотиков и химиопрепаратов, тяжестью течения и исходов.

Воспалительные заболевания различных органов, в том числе глаз, сопровождаются развитием окислительного стресса, вызванного избыточным накоплением свободных радикалов кислорода и истощением эндогенных антиоксидантов. В глазу даже незначительное для других органов повреждение, вызванное активацией свободнорадикальных реакций, может сказаться на его функциях, приводя к потере прозрачности оптических сред, нарушению гидродинамики глаза и фоторецепции [22]. Усиление свободнорадикальных процессов установлено при развитии практически всех видов офтальмологической патологии (воспаление, ожоговая болезнь глаз, глаукома, катаракта, внутриглазные кровоизлияния, диабетическая ретинопатия и др.) [23–28]. Поэтому одним из подходов к лечению увеитов является использование антиоксидантов, в частности супероксиддисмутазы (СОД). В отличие от неспецифичных противовоспалительных препаратов кортикостероидов, антибиотиков и иммуномодуляторов, используемых в комплексном медикаментозном лечении воспалений глаз, обладающих многочисленными побочными эффектами, применение препаратов на основе данного фермента является наиболее безопасным. СОД удаляет супероксидные радикалы и предотвращает образование других, более опасных для организма радикалов: гидроксильного радикала и синглетного кислорода. Важно, что СОД практически нетоксична.

Недостатком выпускаемых препаратов СОД является низкая биодоступность. Проникновение лекарственных соединений внутрь тканей глаза ограничено вследствие необходимости преодоления барьера в виде роговицы, которая состоит из трех слоев. Кроме того, лекарственный препарат легко смывается слезой с поверхности глаза. Обычно только около 5–10% применяемого вещества проникает через роговую оболочку и достигает внутриглазных тканей [29]. Эту проблему, как правило, решают увеличением концентрации

лекарственной субстанции в препарате, что может вызвать увеличение содержания действующего соединения и, как следствие, аллергические реакции, а также нежелательные местные и системные побочные эффекты, связанные с попаданием этих препаратов в кровотоки.

Перспективным подходом к решению проблемы проникновения лекарственного препарата внутрь глаза, как было показано в работах J. Agraño и S.K. Sahoo с соавторами в 2008–2009 гг., является использование наночастиц в качестве систем доставки, так как они способны значительно увеличивать биодоступность и повышать концентрацию вещества в тканях без изменения исходной концентрации препарата [30, 31].

С использованием технологии «NanoZYME™» [1] О.А. Кост с соавторами была создана фармацевтическая композиция, содержащая СОД [32]. Установлено значительное усиление терапевтического действия фермента при включении его в полимерные наночастицы на основе сшитого 3,3'-дифенилпропан-2-ола [сульфосукцинимидил пропионат] метокси-поли(этиленгликоль)-поли(L-лизин) блок-сополимера для местного применения при лечении воспалительных заболеваний глаз.

На экспериментальной модели иммуногенного увеита у кроликов совместно со специалистами Института глазных болезней им. Гельмгольца было показано улучшение ряда биохимических показателей течения болезни при местном капельном введении раствора иммобилизованной в полимерные наночастицы рекомбинантной СОД по сравнению с водным раствором фермента и плацебо. Наблюдали значительное сокращение времени отека роговицы, отека век, уменьшение фибриновых отложений и гиперемии конъюнктивы, повышение антиоксидантной активности в слезной жидкости, снижение концентрации лейкоцитов, общего белка и  $\alpha_2$ -макроглобулина в водянистой влаге кроликов. Данные подтверждены гистологическими исследованиями различных тканей глаза [33–37].

Полученные результаты демонстрируют высокую потенциальную терапевтическую эффективность разработанной фармацевтической композиции для лечения широкого круга воспалительных заболеваний глаз и являются основанием для проведения доклинических испытаний.

В качестве альтернативы органическим полимерным наночастицам (как носители офтальмологических лекарственных субстанций) могут быть использованы неорганические наночастицы, в частности кальций-фосфатные (CaPh-частицы).

Эти частицы представляют несомненный интерес, поскольку они нетоксичны, неиммуногенны и биodeградируемы. Методика получения CaPh-частиц была впервые упомянута и запатентована в 2002 г. S.J.D. Bell с соавторами [38]. CaPh-частицы хорошо выводятся из организма и обладают хорошей биосовместимостью благодаря схожести по составу с гидроксипатитом  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , который является основным компонентом костей и зубов человека [39].

Сотрудниками лаборатории «Химический дизайн бионаноматериалов» совместно со специалистами Института глазных болезней им. Гельмгольца была показана способность CaPh-частиц при инстилляциях в глаз кролика проникать во внутренние среды глаза [40–42]. Были продемонстрированы повышение эффективности и пролонгация эффекта снижения внутриглазного давления в экспериментах *in vivo* на кроликах при включении в CaPh-наночастицы низкомолекулярных соединений – бета-адреноблокатора тимолола [40] и ингибитора ангиотензинпревращающего фермента лизиноприла [42].

Логичным развитием исследований с использованием CaPh-частиц стали получение и характеристика препаратов СОД, включенной в CaPh-частицы. О.А. Кост, И.И. Никольская и П.В. Биневский с соавторами установили, что внедрение фермента в CaPh-наночастицы составляет  $50 \pm 5\%$ ,  $\zeta$ -потенциал частиц  $4 \pm 2$  мВ, средний гидродинамический радиус частиц  $230 \pm 15$  нм. Для повышения стабильности частиц использовали  $\beta$ -D-целлобиозу, которая препятствует вымыванию СОД. Экспериментальные образцы с покрытием  $\beta$ -D-целлобиозой сохраняют стабильность и ферментативные свойства по крайней мере в течение трех месяцев в растворе и шести месяцев в лиофилизированном состоянии. Показано, что такие наноформуляции, как СОД-содержащие полимерные наночастицы, характеризуются повышенной противовоспалительной и антиоксидантной активностью и могут представлять собой перспективные лекарственные препараты [43, 44].

При использовании препаратов СОД, включенной в CaPh-частицы, в экспериментах *in vivo* для лечения экспериментального иммуногенного увеита кроликов по сравнению со свободной СОД наблюдается уменьшение отеков и гиперемии век (на 20%), уменьшение формирования задних синехий (спаек) (на 25%), а также значительное уменьшение содержания фибрина в передней камере глаза (на 40%), что способствует сохранению прозрачности оптических сред глаза и снижению вероятности развития вторичной глау-

комы вследствие закупорки путей оттока внутриглазной жидкости.

### **Ферменты-антиоксиданты для лечения контузионной травмы спинного мозга**

Исследования, выполненные в лаборатории в 2011–2013 гг., дали основание полагать, что антиоксидантные ферменты в составе блоксополимерных наноконплексов (нанозимов) эффективны при лечении контузионной травмы спинного мозга [45–48]. Н.В. Нуковой с соавторами были получены нанозимы в форме комплексов на основе СОД и блок-сополимера поли-L-лизин-полиэтиленгликоля [49, 50], а также в форме конъюгатов с использованием сшивающих агентов глутарового альдегида (ГА) и 3,3'-дитиобис(сульфосукцинимидил пропионата) (ДТССП) [51, 52]. Оказалось, что у животных, которым внутривенно вводили нанозимы через 30 мин после нанесения травмы спинного мозга, увеличивается время циркуляции активного фермента в крови, значительно быстрее и в большей степени восстанавливаются произвольные движения по сравнению с контрольными, что было подтверждено сравнительным анализом площадей травмы, проведенным с помощью МРТ в динамике послеоперационного периода.

Недостатком разработанных формуляций было относительно быстрое высвобождение фермента из наночастиц и низкая суммарная каталитическая активность, что не позволяло в полной мере эффективно использовать терапевтические свойства СОД. Для оптимизации имеющегося препарата были разработаны двухслойные наночастицы с различными ковалентными сшивками, соответствующие структуре СОД-поликатион-полианион. В качестве поликатиона использовали протамин или полиаргинин, в качестве полианиона блок-сополимер метокси-поли(этиленгликоль)<sub>113</sub>-блок-поли(L-глутаминовой кислоты натриевая соль)<sub>50</sub> ПЭГ-ПГ. Сшивающими агентами служили ГА и N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)-карбодимид (ЭДК).

Получение двухслойных наночастиц, как было установлено А.Д. Алексашкиным, Е.А. Киржановой, Н.В. Нуковой и другими соавторами [53], позволило в несколько раз увеличить степень включения белка (с 20 до 70%) по сравнению с однослойными наноконпозициями, увеличить время циркуляции в СОД в кровотоке, снизить цитотоксичность, значительно уменьшить потери ферментативной активности СОД в процессе хранения. Остаточная активность СОД через неделю в со-

ставе двуслойного нанозима составила 46%, в то время как однослойный нанозим сохранил только 18% активности, а нативный фермент полностью утратил каталитические свойства уже через 3 дня.

Дальнейший прогресс в лечении травмы спинного мозга может быть достигнут с помощью новой стратегии прецизионной доставки терапевтических наноформуляций непосредственно в область поражения под контролем магнитно-резонансной томографии (МРТ). В экспериментах на животных, выполненных в РНИМУ им. Н.И. Пирогова, было обнаружено уменьшение объемов сирингомиелических кист (более чем на 40%), образующихся при травме спинного мозга, после прецизионных инъекций растворов наноккомплексов с терапевтическими агентами в локальные участки тканей, визуализированные методом МРТ [54].

#### ***Гидролитические нанозимы на основе органофосфатгидролазы для защиты от нейротоксических поражений***

Получили развитие работы Е.Н. Ефременко с соавторами по созданию наноформуляций на основе фермента органофосфатгидролазы, способного осуществлять гидролиз фосфорорганических соединений (ФОС), к которым принадлежат боевые отравляющие вещества и сельскохозяйственные пестициды. Ранее в МГУ имени М.В. Ломоносова была сконструирована рекомбинантная плазмидная ДНК rTES-His-ORN для экспрессии полипептида со свойствами органофосфатгидролазы (ORN) и показано увеличение каталитической эффективности генномодифицированной формы рекомбинантного фермента, гексагистидинсодержащей органофосфатгидролазы [55]. Однако фермент не мог быть использован в медико-биологических целях в качестве агента детоксификации, так как, имея бактериальное происхождение, вызывал иммунную реакцию в организме при его введении в кровь и быстро инактивировался. Для решения задачи детоксификации фосфорорганических соединений *in vivo* предложено модифицировать поверхность фермента полимером. Разработаны композиции, представляющие собой нековалентные полиэлектролитные комплексы, в состав которых входит полипептид со свойствами органофосфатгидролазы и блок-сополимер полиэтиленгликоля и полиглутаминовой кислоты в рядовом соотношении фермент:блок-сополимер в диапазоне от 2:1 до 1:5. Это позволило значительно уменьшить иммунный ответ, увеличить каталитическую эффективность образцов препарата, снизив вводимую дозу, а также повысить активность фермента в реакциях гидролиза пести-

цидов и отравляющих веществ [56]. В работе [57] И.В. Лягиным с соавторами были предприняты попытки получения ковалентно сшитых полиэлектролитных комплексов, содержащих рекомбинантный фермент ORN и блок-сополимер полиэтиленгликоля и полиглутаминовой кислоты с использованием различных сшивающих агентов. Показано, что лучшими характеристиками обладает конъюгат, полученный с помощью N-этил-N'(3-диметиламинопропил)карбодииминаминоклорида (EDC).

Дальнейшее увеличение эффективности биопрепаратов стало возможным за счет введения в состав нековалентных ORN-содержащих блок-иономерных комплексов дополнительного полимера на основе полиэтиленгликоля [58], приводящего к улучшению проникновения активного компонента в кровотоки и увеличению времени его циркуляции. Такие композиции, как оказалось, еще более эффективно катализируют гидролиз фосфорорганических соединений, проникающих в живые организмы. Показано, что разработанные ферментные биокатализаторы могут вводиться в организм разными путями: внутривенно, внутримышечно, внутрибрюшно и трансбуккально. Последний вариант является наиболее многообещающим ввиду простоты своей реализации, кроме того, он значительно увеличивает вероятность внедрения таких биопрепаратов на практике для предотвращения острых и/или хронических отравлений опасными нейротоксикантами.

#### ***Ферменты бактериофагов и бактериолитические нанозимы для борьбы с инфекционными заболеваниями***

Появление значительного числа патогенных «супербактерий», устойчивых к действию низкомолекулярных антибиотиков, вызывает необходимость поиска новых субстанций с антимикробным действием, лишенных недостатков традиционных антибиотиков. В частности, особый интерес вызывает использование ферментов бактериофагов, разрушающих клеточную стенку бактерий. В целях создания стабильных и эффективных средств борьбы с бактериальными инфекциями в лаборатории «Химический дизайн бионаноматериалов» МГУ имени М.В. Ломоносова изучаются свойства, особенности лизиса патогенов и возможности получения лекарственных форм ферментов бактериофагов, эффективных в разрушении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, в частности антистрептококкового фермента PlyC [59–62], антистафилококковых ферментов – лизин-офагов phi11 и phi80a, лизина бактериофага K

(LysK), химерного лизина LysK390-Lyso [63–69], а также фермента фага S-394/1, специфичного к сальмонелле и *E. coli* [70–72].

Основная проблема использования антистрептококкового и антистафилококковых ферментов, эффективных в лизисе грамположительных бактерий, заключается в низкой стабильности. Поэтому разработка подходов к стабилизации ферментов остается актуальной задачей.

С учетом данных о механизме инактивации фермента PlyC в лаборатории «Химический дизайн бионаноматериалов» МГУ были разработаны композиции из неионогенных ПАВ и полиэлектролитов для включения PlyC, в которых наблюдали существенную стабилизацию фермента (сохранение 100%-й активности при комнатной температуре в течение нескольких месяцев). Была показана высокая эффективность действия полученных нанозимов фермента PlyC на живых клетках гемолитического стрептококка [59–62].

Для антистафилококковых лизинов увеличение стабильности было достигнуто при получении рекомбинантных форм лизинов фагов phi11 и phi80 $\alpha$ , а также химерного лизина LysK390-Lyso в лаборатории Д.М. Донована (США). Подробное сравнительное физико-химическое исследование свойств ферментов в условиях функционирования и хранения, проведенное в МГУ имени М.В. Ломоносова, позволило осуществить выбор наиболее эффективных кандидатов в качестве действующего вещества для дальнейшего создания лекарственных композиций с использованием технологии «NanoZYME™».

Физико-химическими методами (кинетические методы, динамическое рассеяние света, электрофорез, введение в реакционную среду низкомолекулярных аддитивов) Л.Ю. Филатовой с соавторами исследованы активность и стабильность антистафилококковых лизинов, выявлены лимитирующие стадии инактивации [63–65]. Установлено, что лизины фагов phi11 и phi80 $\alpha$ , а также химерный фермент при соответствующих условиях хранения (4°C, 22°C; pH 6,0–9,0; 10–500 mM NaCl) инактивируются в соответствии с мономолекулярным механизмом, повышение pH и температуры способствует ускорению инактивации. Самым стабильным оказался лизин фага phi11 (максимальное значение времени полуинактивации достигает 120–160 суток при 4°C, pH 6,0–7,5 и 10 mM NaCl), наименее стабилен лизин фага phi80 $\alpha$  (величина времени полуинактивации варьируется от нескольких часов до 3 суток). Сравнение стабильности ферментов LysK390-

Lyso и LysK показало, что замена домена SH3\_5 в молекуле LysK на молекулу лизоостафина приводит к стабилизации (увеличению вдвое времени полуинактивации в условиях хранения и при 37°C). Выявлено, что при температуре 37°C механизм инактивации лизина фага phi11 меняется с мономолекулярного на агрегационный при увеличении содержания хлорида натрия в среде. В целом, по сравнению с ранее изученным ферментом LysK в работе [66] показано, что лизин фага phi11 и химерный фермент LysK390-Lyso более стабильны, но менее активны в лизисе клеток *Staphylococcus aureus*.

Для увеличения продолжительности хранения и эффективности действия были получены нанозимы лизина фага phi11 и LysK390-Lyso с использованием нетоксичных биоразлагаемых блок-сополимеров полиглутаминовой кислоты и полиэтиленгликоля (PGLU-PEG) [67]. Установлено, что блок-сополимер PGLU<sub>10</sub>-PEG<sub>114</sub> оказывает стабилизирующее влияние на LysK390-Lyso, а за счет формирования нанозима понижается иммуногенность фермента. На фермент LysK блок-сополимеры подобного типа не оказывают стабилизирующего воздействия, этот фермент стабилизируется при помощи положительно заряженных полимеров [68, 69], что, однако, не влияет на проблему повышенной токсичности. В этом заключается преимущество химерной конструкции по сравнению с LysK.

Применение фаговых эндолизинов для контроля грамотрицательных микроорганизмов ограничено тем, что пептидогликановый слой таких бактерий покрывает внешняя липидная мембрана, предотвращающая доступ молекул фермента к пептидогликану. Стратегия создания процесса эффективного лизинга грамотрицательной микрофлоры, изложенная в работах К.А. Мирошникова, Н.Л. Клячко, С.А. Легоцкого и др. [70–74], заключалась в получении активного целевого фермента и подборе агентов, увеличивающих проницаемость внешней мембраны грамотрицательных бактерий.

Важным результатом в этом направлении стало получение конструкции и синтез рекомбинантного эндолизина фага S-394 в *E. coli* C41(DE3), с высоким выходом по белку (96 мг белка с 1 л культуральной жидкости) [70]. Электрофоретическая подвижность белка и изоэлектрическая точка (pI 7,0) были близки к значениям, предсказанным *in silico*. Молекулярная масса фермента по данным гель-фильтрации составила 18 кДа. Сделан вывод, что эндолизин фага S-394 присутствует в растворе в виде мономера [71, 72].

Предложен подход для увеличения проницаемости внешней мембраны модельных грамотрицательных бактерий *E. coli*, который заключается в введении дополнительных коротких катионных пептидов, помогающих работе антибактериального фермента [73, 74]. С.А. Легоцкий с соавторами показал, что лизис живых бактериальных клеток *E. coli* под действием эндолизина фага S-394 становится возможным в присутствии 25 мкг/мл поли-Arg (5–15 кДа) или 20 мкг/мл антибактериального пептида PGLa, при этом способность клеток *E. coli* образовывать колонии уменьшается на 4 порядка после 30-минутной обработки 25 мкг Lys394, 1 мМ ЭДТА и 50 мкг/мл пептида PGLa при комнатной температуре [73].

***Магнитные наночастицы для терапии и диагностики. Разработка стратегии дистанционного управления с помощью низкочастотных магнитных полей функциями биополимеров и других макромолекул, иммобилизованных на магнитных наночастицах***

В настоящее время магнитные наночастицы (МНЧ) широко и разнообразно используются в наномедицине. МНЧ используют для адресной доставки лекарств и их контролируемого высвобождения из наноразмерных носителей, в тканевой инженерии и регенеративной медицине [75–77], для детектирования антител и ранней диагностики болезней [78], магнитной гипертермии злокачественных опухолей [79–81], контрастирования изображения в магнитно-резонансной томографии [82] и др. Бурное развитие получило новое направление, появившееся в XXI в. – тераностика, объединяющее методы неинвазивной терапии и диагностики в единый комплекс. Сегодня под тераностикой понимают совокупность возможностей, обеспечивающих изображение объекта с молекулярным разрешением; томографию; раннюю диагностику; определение стадии развития болезни; выбор методов терапии (как правило, таргетированной на молекулярном уровне и персонализированной); адресную доставку диагностического или терапевтического агента; его контролируемый выпуск из наноносителей, контроль за ходом лечения и состоянием пациента после него [83–87].

Усилия коллектива лаборатории «Химический дизайн бионаноматериалов» сосредоточены как на создании диагностических агентов и систем доставки лекарственных молекул с использованием МНЧ, так и на создании принципиально новых подходов и методов дистанционного управления биохимическими системами с помощью негреющего низкочастотного пере-

менного магнитного поля, взаимодействующего с введенными в объект биофункционализированными магнитными наночастицами.

Так, на основе магнитных наночастиц оксида железа и стабилизированного ковалентной сшивкой бычьего сывороточного альбумина (БСА) М.А. Абакумовым с соавторами была разработана система, способная выступать в качестве платформы при создании нового класса препаратов для диагностики и терапии различных заболеваний [88, 89]. Показано, что конъюгация полученных наночастиц с антителами к фактору роста эндотелия сосудов (VEGF), высоко экспрессированному на поверхности клеток опухоли головного мозга глиобластомы С6, позволяет визуализировать данную опухоль у животных при внутривенном введении контрастного средства. Изучен процесс проникновения в опухолевую ткань магнитных наночастиц разного размера и установлено, что наночастицы размером менее 50 нм проникают в сосуды опухоли гораздо более эффективно, чем большие по размеру частицы аналогичного химического строения и структуры. Полученные наноформуляции стабильны и не проявляют токсичности при концентрациях не выше 2,5 мг/мл.

Важное направление работ по созданию препаратов для одновременной терапии и диагностики опухолевых заболеваний – получение систем на основе функционализированных наночастиц оксида железа и противоопухолевого препарата доксорубицина. А.С. Семкина и соавторы [90] получили наночастицы типа ядро-корона, состоящие из ядра оксида железа с высокой T2-релаксивностью, бычьего сывороточного альбумина (БСА) и оболочки, связывающей доксорубицин и полиэтиленгликоль, формирующий «корону», за счет чего увеличивается стабильность и биосовместимость. Цитотоксичность формуляций по отношению к клеткам С6 и НЕК293 соответствовала цитотоксичности свободного доксорубицина. Показана принципиальная возможность загрузки доксорубицина в оболочку магнитных наночастиц, а также изучен феномен рН-зависимого высвобождения препарата из наночастиц. Известно, что развитие опухоли сопровождается активным ростом клеток, а также недостатком питательных веществ и кислорода, что приводит к развитию локальной гипоксии в опухоли и понижению рН [91, 92]. Данное отличие патологической ткани от здоровой делает привлекательным использование «умных» систем доставки, способных высвобождать цитотоксический препарат только в опухоли, с пониженным значением рН.

Несмотря на достигнутые успехи современной науки в области создания носителей для лекар-

ственных препаратов, проблема контролируемого высвобождения лекарственных молекул и их активации является наиболее острой при создании систем направленной доставки лекарств и до сих пор не решена в полной мере. Актуальной задачей, решение которой принципиальным образом расширяет терапевтические возможности наномедицины, является создание технологии дистанционного управления функциями лекарственных биомолекул, входящих в состав наноконструкций, которая позволит не только осуществлять контролируемый выпуск лекарства из носителей, но и обеспечит селективность и локальность управляющего действия на клеточном и молекулярном уровне, повысит безопасность существующих методов терапии опасных заболеваний.

Теоретические и экспериментальные исследования, проводимые в Тамбовском государственном университете им. Г.Р. Державина, а также в лаборатории «Химический дизайн бионаноматериалов» МГУ имени М.В. Ломоносова и в Университете Северной Каролины (США), показали осуществимость концепции дистанционной наномеханической актуации биологических систем, содержащих предварительно введенные биофункционализированные магнитные наночастицы, с помощью переменных магнитных полей с частотой  $f$  ниже 3 кГц [93–100]. Группой исследователей под руководством Ю.И. Головина предложено использовать магнитные наночастицы в качестве медиаторов, преобразующих энергию ультранизкочастотного (негреющего) переменного магнитного поля (ПМП) ( $f < 3$  кГц) в механическую деформацию «пришитых» к ним лигандов и биоактивных макромолекул (белков, ферментов, ДНК и др.) в целях изменения биохимических свойств последних. Такой подход является принципиально новым, что подтверждено патентом РФ [101]. Оценочные расчеты показали, что с помощью ПМП умеренной напряженности (100–200 кА/м) к макромолекулам, прикрепленным к магнитным наночастицам диаметром 10–20 нм, можно приложить силу от нескольких десятков до сотен пН. Этого достаточно для существенного изменения межатомных расстояний в активных центрах ферментов и изменения их вторичной/третичной структуры. Такие глобальные изменения конформации неизбежно приведут к изменению биохимических свойств биомолекул, в частности, к изменению активности ферментов [98].

В работах Ю.И. Головина с соавторами теоретически рассмотрена динамика поведения функционализированных магнитных наночастиц (ф-МНЧ) в ПМП в зависимости от характеристик

ф-МНЧ и параметров поля. Найдены диапазоны частот и амплитуд ПМП, обеспечивающие наиболее эффективное преобразование энергии поля в механическую деформацию макромолекул, взаимодействующих с ф-МНЧ посредством сил связи той или иной природы. Оценены пороговые параметры ПМП, необходимые для изменения активности молекул прикрепленных к ф-МНЧ ферментов, гидродинамического вымывания терапевтических агентов из окружающей ф-МНЧ полимерной «шубы», разрыхления билипидных мембран и контролируемого выпуска лекарств из липосомальных наноконтейнеров, активации различных откликов и изменения функциональности клетки [93, 99, 102, 103].

Для подтверждения данных молекулярного моделирования нами был выполнен ряд экспериментов с использованием оригинальных приборов, созданных в Наноцентре Тамбовского государственного университета им. Г.Р. Державина, с регулируемыми параметрами поля, термостатируемым рабочим объемом и компьютерным управлением [104]. В качестве магнитных носителей, кроме наночастиц магнетита ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), использовали магнитные наночастицы, покрытые золотой оболочкой ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$ ). Такое покрытие уменьшает агрегацию наночастиц в растворе, снижает токсичность для организма и облегчает функционализацию [103, 105].

В работах Н.Л. Клячко и Ю.И. Головина с соавторами установлено влияние переменного магнитного поля на каталитическую активность ферментов химотрипсина,  $\beta$ -галактозидазы, дрожжевой алкогольдегидрогеназы, супероксиддисмутазы (СОД1), иммобилизованных на функционализированных МНЧ. Как правило, воздействие низкочастотного ПМП значительно (до 30%) уменьшает каталитическую активность ферментов в составе наноконструкций [93, 103, 107–109].

С помощью спектральных исследований (круговой дихроизм) выявлены изменения вторичной структуры химотрипсина в составе ковалентных конъюгатов с сополимером полиэтиленгликоль-полиметакрилат (ПЭГ-ПМА), иммобилизованных на наночастицах магнетита, после воздействия ультранизкочастотного ПМП (20 Гц – 20 кГц) в сравнении со свободным ферментом и с ферментом в составе нековалентных комплексов. Изменения значительно отличаются от изменений, которые вызваны воздействием радиочастотного магнитного поля (337 кГц), обычно применяемого при магнитной гипертермии опухолевой ткани [93].

М.М. Веселов, П.Г. Рудаковская и А.Г. Мажуга с соавторами изучали особенности поведения

химотрипсина (ХТ) и алкогольдегидрогеназы из дрожжей (АДГ) в агрегате из двух МНЧ, покрытых золотой оболочкой, связанных мостиком линкер-фермент-линкер. Найдено, что воздействие ультранизкочастотного ПМП (50 Гц) уменьшает каталитическую активность ферментов до 50% по сравнению с исходной. Исследовано влияние воздействия радиальных сил ПМП (8 пН) на кинетические параметры ферментов. Анализ полученных данных показал, что в результате действия ПМП константа  $K_m$  увеличивается более чем в два раза, а  $k_{кат}$  ( $V_m$ ) практически не меняется, что подтверждает данные молекулярного моделирования и свидетельствует об изменениях конформации белка на уровне центра связывания субстрата без затрагивания каталитического участка активного центра [107].

К.Ю. Власовой с соавторами [108] показана возможность контролируемого высвобождения лекарственных молекул (ЛМ) из носителей на основе МНЧ, покрытых полимерной «шубой», с помощью однородного низкочастотного (негреющего) ПМП на примере фермента СОД1, нековалентно включенного в наночастицы магнетита, стабилизированные с помощью катионного блок-сополимера полилизин-полиэтиленгликоль (МНЧ-ПЛЛ-ПЭГ). Найдено, что под действием ПМП происходит заметное увеличение каталитической активности наноконпозита, обусловленное выходом СОД в раствор.

Проводятся исследования, направленные на улучшение загрузки и высвобождения лекарственных молекул для липосомальных контейнеров посредством МНЧ под действием низкочастотного ПМП [109, 110]. Для формирования липосом использовали наночастицы магнетита, флуоресцеин, фосфатидилхолин и холестерин. Данные просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) показали, что нефункционализированные МНЧ находятся внутри липосом. Методами ИК-спектроскопии установлено, что воздействие негреющего низкочастотного ПМП (50 Гц) вызывает «плавление» мембраны липосом, а диапазон «плавления» зависит от времени экспозиции и интенсивности магнитного поля. Данные коррелируют с результатами экспериментов по высвобождению МНЧ. Сделано предположение о разрушении и / или реорганизации липидного бислоя липосом под действием ПМП.

Для управления свойствами мембран везикул, липосом, живых клеток в однородном ПМП предложено использовать стержнеобразные МНЧ [97, 100, 111]. Теоретические исследования показали, что из-за высокой чувствительности к деформациям анизометрические МНЧ действуют при раз-

упорядочивании мембран клеточных структур эффективнее, чем сферические, так как они могут индуцировать в мембране не только сдвиговые деформации, но и нормальные. Данная модель может быть полезна и для понимания эффектов очень маленьких (5–10 нм) магнитных наночастиц, которые в определенных условиях, взаимодействуя друг с другом и с мембраной, могут собираться в двумерные «острова» или палочки, а также вести себя подобно стержнеобразным частицам [99].

В планах исследователей экспериментальная проверка теоретических расчетов на модели лизиса грамотрицательных бактерий под действием эндолизинов в присутствии магнитных наностержней.

Следует отметить, что наномеханическая активация биосистем с помощью стержнеобразных МНЧ может быть как ядром самостоятельной терапевтической платформы, так и сочетаться с магнитной гипертермией, что определяется надлежащим выбором частоты поля  $f$ . В отличие от гипертермии, магнитомеханическая активация использует более безопасные низкочастотные ПМП и может быть локализована на молекулярном уровне. Она слабо зависит от температуры окружающей среды, концентрации МНЧ и продолжительности экспозиции, что снижает риск передозировки [95]. Представленные в настоящем обзоре исследования и разработки направлены на создание функциональных бионаносистем для терапии и диагностики широкого круга социально-значимых заболеваний (болезни головного мозга и центральной нервной системы, воспаления (в том числе воспаления глаз), заболевания сердечно-сосудистой системы, бактериальные инфекции, онкологические болезни и др.) с использованием современных научных методов и последних достижений в области наномедицины, химии, физики и молекулярной биологии. Главным принципом, объединяющим проводимые исследования, является адресная доставка лекарственных молекул в органы-мишени, фундаментальной основой которой служит химический дизайн разрабатываемых композиций, что позволяет снизить дозы вводимых препаратов, токсичность, иммуногенность, уменьшить нежелательные побочные эффекты.

Созданные в ходе исследований методы получения лекарственных средств, способы управления биохимическими реакциями в живых системах, включая подходы к контролируемому высвобождению лекарств и визуализацию объектов *in vivo*, открывают новые возможности для современной медицины, направлены на улучшение качества жизни и представляют практический и научный интерес.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-13-00731 (описание исследований свойств функционализированных магнитных частиц под действием переменного магнитного поля).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kabanov A., Bronich T., Batrakova E., Gendelman H. Compositions for protein delivery and methods of use thereof // Pat. WO/2008/141155 A1.
2. Klyachko N.L., Manickam D.S., Brynskikh A.M., Uglanova S.V., Li S. Higginbotham S.M., Bronich T.K., Batrakova E.V., Kabanov A.V. // *Nanomedicine*. 2012. Vol. 8. N 1. P. 119.
3. Manickam D.S., Brynskikh A.M., Kopanic J.L., Sorgen P.L., Klyachko N.L., Batrakova E.V., Bronich T.K., Kabanov A.V. // *J. Control. Release*. 2012. Vol. 162. N 3. P. 636.
4. Uglanova S.V., Popov M.V., Kurova V.S., Batrakova E.V., Manickam D., Kabanov A.V., Klyachko N. L. // *Moscow University Chemistry Bulletin*. 2010. *J. Control. Release*. 2012. Vol. 65. P. 190.
5. Zhao Y., Haney M.J., Mahajan V., Reiner B.C., Dunavsky A., Mosley R.L., Kabanov A.V., Gendelman H.E., Batrakova E.V. // *J. Nanomed. Nanotechnol.* 2011. Sep. 10. S.4.
6. Brynskikh A.M., Zhao Y., Mosley R.L., Li S., Boska M.D., Klyachko N.L., Kabanov A.V., Gendelman H.E., Batrakova E.V. // *Nanomedicine (L.)*. 2010. Vol. 5. N 3. P. 379.
7. Haney M.J., Suresh P., Zhao Y., Kanmogne G.D., Kadiu I., Sokolsky-Papkov M., Klyachko N.L., Mosley R.L., Kabanov A.V., Gendelman H.E., Batrakova E.V. // *Nanomedicine (L.)*. 2012. Vol. 7. N 6. P. 815.
8. Klyachko N.L., Haney M.J., Zhao Y., Manickam D.S., Mahajan V., Suresh P., Hingtgen S.D., Mosley R.L., Gendelman H.E., Kabanov A.V., Batrakova E.V. // *Nanomedicine (L.)*. 2014. Vol. 9. N 9. P. 1403.
9. Batrakova E.V., Kim M.S.. // *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2016 Feb 17. doi: 10.1002/wnan.1395.
10. Johnsen K.B., Gudbergsson J.M., Skov M.N., Pilgaard L., Moos T., Duroux M.A. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2014. Vol. 1846. N 1. P. 75.
11. Kooijmans S.A., Vader P., Dommelen van S.M., Solinge van W.W., Schiffelers R.M. // *Int. J. Nanomedicine*. 2012. Vol. 7. P. 1525.
12. Hung M.E., Leonard J.N. // *J. Biol. Chem.* 2015. Vol. 290. N 13. P. 8166.
13. Greening D.W., Xu R., Ji H., Tauro B.J., Simpson R.J. // *Methods Mol. Biol.* 2015. Vol. 1295. P. 179.
14. Tian X., Zhu M., Nie G. // *Hum. Vaccin. Immunother.* 2013. Vol. 9. N 1. P. 222.
15. Marcus M.E., Leonard J.N. // *Pharmaceuticals (Basel)*. 2013. Vol. 6. N 5. P. 659.
16. Stickney Z., Losacco J., McDevitt S., Zhang Z., Lu B. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016. Feb 18. pii: S0006-291X(16)30247-9.
17. Azmi A.S., Bao B., Sarkar F.H. // *Cancer. Metastasis Rev.* 2013. Vol. 32. N 3–4. P. 623.
18. Basu J., Ludlow J.W. // *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2016. Jan 28:1–18. [Epub ahead of print].
19. Haney M.J., Klyachko N.L., Zhao Y., Gupta R., Plotnikova E.G., He Z., Patel T., Piroyan A., Sokolsky M., Kabanov A.V., Batrakova E.V. // *J. Control Release*. 2015. Vol. 207. P. 18.
20. Batrakova E.V., Kim M.S. // *J. Control Release*. 2015. Vol. 219. N. 10. P. 396.
21. Haney M.J., Klyachko N.L., Zhao Y., Gupta R., Plotnikova E.G., He Z., Patel T., Piroyan A., Sokolsky M., Kabanov A.V., Batrakova E.V. // *J. Control Release*. 2015. Vol. 207. N 10. P. 18.
22. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. М., 2001.
23. Yadav U.C.S., Kalariya N.M., Ramana K.V. // *Curr. Med. Chem.* 2011. Vol. 18. P. 931.
24. Гулидова О.В., Любичкий О.Б., Клебанов Г.И., Чеснокова Н.Б. // *Бюл. экспер. биол. мед.* 1999. Т. 128. № 11. С. 571.
25. Зиангирова Г.Г., Антонова О.В. // *Вестн. Офтальмол.* 2003. Т. 4. С. 54.
26. Garner B., Davies V.J., Truscott R.J.W. // *Exp. Eye Res.* 2000. Vol. 70. P. 81.
27. Ромащенко А.Д., Гундорова Р.А., Касавина Б.С. // *Вестн. Офтальмол.* 1981. Vol. 2. С. 51.
28. Булатова О.С., Кондратьев Я.Ю., Миленская Т.М. // *Клин. эндокринолог.* 1999. Т. 45. № 4. С. 3.
29. Prausnitz M.R., Noonan J.S. // *J. Pharm. Sci.* 1998. Vol. 87. P. 1479.
30. Araujo J., Gonzalez E., Egea M.A., Garcia M.L., Souto E.B. // *Nanomedicine*. 2009. Vol. 5. P. 394.
31. Sahoo S.K., Dilnawaz F., Krishnakumar S. // *Drug. Discov. Today*. 2008. Vol. 13. P. 144.
32. Кост О.А., Никольская И.И., Бинеvский П.В., Маникам Д., Клячко Н.Л., Кабанов А.В. Фармацевтическая композиция для местного применения при лечении воспалительных заболеваний глаз и способ ее использования. // Патент РФ № 2508123. Бюл. № 3 от 27.01.2014. (Совместный приоритет ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова и Медицинского центра Университета Небраски (UNMC). США, 19.07.2012).
33. Kost O.A., Beznos O.V., Davydova N.G., Manickam D.S., Nikolskaya I.I., Guller A.E., Binevski P.V., Chesnokova N.B., Shekhter A.B., Klyachko N.L., Kabanov A.V. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016. Article ID 5194239, 13 pages (in press).
34. Binevski P., Kost O., Chesnokova N., Nikolskaya I., Beznos O., Pavlenko T., Klyachko N., Manickam D., Kabanov A. Superoxide dismutase within nanoparticles for the treatment of eye inflammation. Abstracts of the 3rd Conference on Innovation in Drug Delivery: Advances in Local Drug Delivery. Pisa, 2013. P. 105.
35. Бинеvский П.В., Кост О.А., Чеснокова Н.Б., Никольская И.И., Безнос О.В., Павленко Т.А. Тихомирова В.Е., Клячко Н.Л., Кабанов А.В. Использование нанозима на основе супероксиддисмутазы для лечения экспериментального увеита. // *Мат-лы VI*

- Рос. симпоз. «Белки и пептиды». Уфа, 2013. С. 175.
36. *Чеснокова Н.Б., Кост О.А., Галицкий В.А., Безнос О.В., Бейшенева Г.А., Никольская И.И.* // Сб. тр. VII Российского общенационального офтальмологического форума. М., 2014. С. 464.
37. *Кост О.А., Чеснокова Н.Б., Никольская И.И., Безнос О.В., Биневский П.В., Павленко Т.А., Клячко Н.Л., Кабанов А.В.* // Мат-лы VII Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития». М., 2013. С. 130.
38. *Bell S.J.D., Morcol T., He Q.* // Pat. US No. 6355271(B1) МПК7, А61К9/12, С12N15/87 (заявитель и патентообладатель Biosante Pharmaceuticals, Inc. приоритет. 03.02.2000, опубл. 12.03.2002).
39. *He Q., Chu T.-C., Potter D.* // J. Ocular Pharmacol. Therap. 2002. Vol. 18. P. 507.
40. *Шимановская Е.В., Безнос О.В., Клячко Н.Л., Кост О.А., Никольская И.И., Павленко Т.А., Чеснокова Н.Б., Кабанов А.В.* // Вестн. Офтальмол. 2012. Т. 3. С. 15.
41. *Никольская И.И., Шимановская Е.В., Кост О.А., Чеснокова Н.Б., Павленко Т.А., Безнос О.В., Биневский П.В., Клячко Н.Л., Кабанов А.В.* // Патент РФ № 2472471 (заявитель и патентообладатель Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца, Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова. заявл. 24.11.2011, опубл. 20.01.2013).
42. *Шимановская Е.В., Никольская И.И., Биневский П.В., Безнос О.В., Клячко Н.Л., Павленко Т.А., Чеснокова Н.Б., Кост О.А.* // Российские нанотехнологии. 2014. Т. 9. N 3–4. С. 100.
43. *Чеснокова Н.Б., Галицкий В.А., Безнос О.В., Бейшенева Г.А., Кост О.А., Никольская И.И.* // Российский офтальмологический журнал. 2015. Т. 8. № 4. С. 31.
44. *Kost O.A., Beznos O.V., Nikolskaya I.I., Chesnokova N.B.* // Abstracts of International Conference «Biocatalysis-2015. Fundamentals and Applications». Moscow region. 2015. P. 145.
45. *Nukolova N.V., Morozova A.Y., Kirzhanova E.A., Pechenkin M.A., Manickam D.S., Chekhonin V.P., Klyachko N.L., Kabanov A.V.* // Programme Book of 8th FENS Forum of Neuroscience. Barcelona, 2012. P. 173.
46. *Морозова А.Ю., Нуколова Н.В., Мустафина Т.Б., Печенкин М.А., Киржанова Е.А., Клячко Н.Л., Кабанов А.В., Чехонин В.П.* // Российский нейрохирургический журнал. 2012. Т. IV. С. 23.
47. *Морозова А.Ю., Нуколова Н.В., Киржанова Е.А., Печенкин М.А., Мустафина Т.Б., Маникам Д.С., Чехонин В.П., Клячко Н.Л., Кабанов А.В.* // Мат-лы междунар. науч.-практ. конф. «Фармацевтические и медицинские биотехнологии». М., 2012. С. 245.
48. *Aleksashkin A.D., Morozova A.Yu., Mustafina T.B. et al.* // Abstract Book of IV International Conference «Biomaterials and Nanobiomaterials: Recent Advances Safety-Toxicology and Ecology Issues». Heraklion, 2013. P. 20.
49. *Нуколова Н.В., Алексашкин А.Д., Клячко Н.Л., Кабанов А.В.* // Патент РФ № 2552340 (совместный приоритет ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова и Университет Северной Каролины (UNC), США, 29.11.2013).
50. *Нуколова Н.В., Алексашкин А.Д., Клячко Н.Л., Кабанов А.В.* // Патент РФ № 2575836 (совместный приоритет ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова и Университет Северной Каролины (UNC), США, 29.11.2013).
51. *Aleksashkin A.D., Nukolova N.V., Klyachko N.L., Kirzhanova E.A., Pechyonkin M.A., Balabushevich N.G., Manickam D.S., Kabanov A.V.* // Abstract Book of the Conference «Nanomedicine: From Molecules to Diagnosis and Therapy». Rome, 2012. P. 3.
52. *Aleksashkin A.D., Kirzhanova E.A., Nukolova N.V., Pechyonkin M.A., Balabushevich N.G., Klyachko N.L., Kabanov A.V.* // Abstract Book of 3-rd Russian-Hellenic Symposium with International Participation «Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Problems and Safety Issues». Heraklion, 2012. P. 42.
53. *Aleksashkin A.D., Abakumova T.O., Nukolova N.V., Chekhonin V.P., Klyachko N.L., Kabanov A.V.* // Program and Book of Abstracts International Conference «Biocatalysis-2015: Fundamentals & Applications». Istra (Moscow Region). P. 83.
54. *Zhang C., Morozova A.Y., Abakumov M.A., Gubsky I.L., Douglas P., Feng S., Bryukhovetskiy A.S., Chekhonin V.P.* // Med. Sci. Monit. 2015. Vol. 21. P. 3179.
55. *Ефременко Е.Н., Вотчитцева Ю.А., Алиев Т.К., Варфоломеев С.Д.* Рекомбинантная плазмидная ДНК рTES-His-ОРН и продуцент олигогистидинсодержащей органофосфатгидролазы. // Патент РФ № 2255975. (Бюл. № 19, приоритет от 19.12.2003 г. Организация-заявитель: Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова).
56. *Ефременко Е.Н., Кабанов А.В., Клячко Н.Л., Бронич Т.К., Лягин И.В., Варфоломеев С.Д.* // Патент РФ № 2525658, 2014 (совместный приоритет ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова и Медицинского центра Университета Небраски (UNMC), США, 13.09.2012).
57. *Lyagin I.V., Efremenko E. N., Kabanov A.V.* // Moscow University Chemistry Bulletin. 2014. Vol. 69. N 3. P. 125.
58. *Ефременко Е.Н., Лягин И.В., Кабанов А.В., Клячко Н.Л.* Ферментный биокатализатор для нейтрализации фосфорорганических соединений *in vivo*. // Патент РФ № 2575627 (Бюл. № 5, приоритет от 18.12.2014 г. Организация-заявитель: ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова).
59. *Filatova L.Yu., Klyachko N.L.* // Moscow University Chemistry Bulletin. 2010. Vol. 65. N 3. P. 180.
60. *Kliachko N.L., Dmitrieva N.F., Eshchina A.S. et al.*

- // *Bioorganicheskaya khimiya*. 2008. Vol. 34. N 3. P. 416.
61. *Filatova L.Y., Lebedev D.N., A.D. Priyma et al.* // Proceedings of VII Moscow International Congress Biotechnology: State of the art and prospects of development. Moscow, Russia. 2013. Part 2. P. 130.
  62. *Дмитриева Н.Ф., Клячко Н.Л., Бондаренко В.М., Шабанова Н.А., Ещина А.С., Филатова Л.Ю., Морозова Н.И., Тимофеев Ю.М., Кабанов А.В., Брик Н.И.* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2011. Vol. 6. С. 14.
  63. *Filatova L.Yu., Donovan D.M., Foster-Frey J., Pugachev V.G., Dmitrieva N.F., Chubar T.A., Klyachko N.L., Kabanov A.V.* // *Enzyme and Microbial Technology*. 2015. Vol. 73–74 С. P. 51.
  64. *Filatova L.Yu., Donovan D.M., Becker S.C., Priyma A. D., Kabanov A.V., Klyachko N.L.* // *Moscow University Chemistry Bulletin*. 2014. Vol. 69. N 3. P. 107.
  65. *Филатова Л.Ю., Донован Д.М., Фостер-Фрей Д.А., Пугачев В.Г., Кудряшова Е.В., Клячко Н.Л.* // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия*. 2015. Vol. 56. N 6. С. 393.
  66. *Filatova L.Yu., Becker S.C., Donovan D.M., Gladilin A.K., Klyachko N.L.* // *Biochimie*. 2010. Vol. 92. N 5. P. 507.
  67. *Filatova L.Yu., Donovan D.M., Foster-Frey J.A., Lebedev D.N., Novozhilov I.A., Ishnazarova N.T., Priyma A.D., Pugachev V.G., Dmitrieva N.F., Klyachko N.L.* // Program and Book of abstracts of International conference «Biocatalysis-2015»: fundamentals&applications. Istra (Moscow region). 2015. P. 75.
  68. *Filatova L.Yu., Donovan D.M., Becker S.C., Lebedev D.N., Priyma A.D., Koudriachova H.V., Kabanov A.V., Klyachko N.L.* // *Biochimie*. 2013. Vol. 95.(I. 9). P. 1689.
  69. *Филатова Л.Ю., Донован Д.М., Новожиллов И.А., Клячко Н.Л.* // *Научный альманах*. 2015. Vol. 9. N 11. С. 998.
  70. *Легоцкий С.А., Мирошников К.А., Кабанов А.В., Клячко Н.Л.* // Патент РФ 2547584 (организация-заявитель: ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова, приоритет 05.12.2012).
  71. *Legotsky S., Priyma A., Vlasova K. et al.* // Abstract Book of IV International Conference «Biomaterials and Nanobiomaterials: Recent Advances Safety-Toxicology and Ecology Issues». Heraklion, 2013. P. 17.
  72. *Legotsky S., Priyma A., Vlasova K. et al.* // Abstracts of 20th Evergreen International Phage Meeting. Olympia, 2013. P. 82.
  73. *Legotsky S.A., Vlasova K. Yu., Priyma A.D., Shneider M.M., Pugachev V.G., Totmenina O.D., Kabanov A.V., Miroshnikov K.A., Klyachko N.L.* // *Biochimie*. 2014. Vol. 107. P. 293.
  74. *Klyachko N.L., Filatova L.Yu., Miroshnikov K.A., Legotsky S.A., Priyma A.D., Belyy T.S., Usvaliev A., Rudakovskaya P.G., Gribanovsky S.L., Zaitseva E.A., Belova A.B., Majouga A.G., Golovin Yu.I., Kabanov A.V.* // Proceedings of VIII Moscow International Congress Biotechnology: State of the art and prospects of development. Moscow, Russia. 2015. Part 1. P. 348.
  75. *Sensenig R., Sapir Y., MacDonald C., Cohen S., Polyak B.* // *Nanomedicine (L.)*. 2012. Vol. 7. P. 1425.
  76. *Santo V.E., Rodrigues M.T., Gomes M.E.* // *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2013. Vol. 13. P. 553.
  77. *Veisheh O., Gunn J.W., Zhang M.* // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010. Vol. 62. P. 284.
  78. *Shi D., Bedford N.M., Cho H.-S.* // *Small*. 2011. Vol. 7. P. 2549.
  79. *Kumar C.S., Mohammad F.* // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2011. Vol. 63. P. 789.
  80. *Jeyadevan B.* // *J. of the Ceramic Soc. of Japan*. 2010. Vol. 118. P. 391.
  81. *Peiris P.M., Bauer L., Toy R., Tran E., Pansky J., Doolittle E., Schmidt E., Hayden E., Mayer A., Keri R.A., Griswold M.A., Karathanasis E.* // *ACS Nano*. 2012. Vol. 6. P.4157.
  82. *Sun C., Lee J.S.H., Zhang M.* // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008. Vol. 60. P.1252.
  83. *Lim E.-K., Kim T., Paik S., Haam S., Huh Y.-M., Lee K.* // *Chemical Reviews*. 2015. Vol. 115. N 1. P.327.
  84. *Muthu M.S., Leong D.T., Mei L., Feng S.-S.* // *Theranostics*. 2014. Vol. 4. N 6. P.660.
  85. *Kim T.H., Lee S., Chen X.* // *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2013. Vol. 13. N 3. P. 257.
  86. *Головин Ю.И., Клячко Н.Л., Мажуга А.Г., Сокольски М., Кабанов А.В.* // Сб. тез. междунар. науч.-практ. конф. «Магнитные наноматериалы в биомедицине: получение, свойства, применение». Звенигород (Московская обл.), 2015. С. 15.
  87. *Y.I. Golovin, Sergey L. Gribanovsky, Dmitry Y. Golovin, Natalia L. Klyachko, Alexander G. Majouga, Alyssa M. Master, Marina Sokolsky, Alexander V. Kabanov.* // *Journal of Controlled Release*. 2015. Vol. 219. P. 43–60 .
  88. *Abakumov MA, Nukolova NV, Sokolsky-Papkov M, Shein SA, Sandalova TO, Vishwarsao H, Grinenko NF, Gubsky IL, Abakumov AM, Kabanov AV, Chekhonin VP.* // *Nanomedicine*. 2015. Vol. 11 (4). P. 825.
  89. *Абакумов М.А., Губский И.Л., Чехонин В.П., Кабанов А.В.* Способ диагностики мультиформной глиобластомы с помощью МРТ // Патент РФ № 2530762 (Организации-заявители: ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Минздрава России, 14.12.2012).
  90. *Semkina A., Abakumov M., Grinenko N., Abakumov A., Skorikov A., Mironova E., Davydova G., Majouga A., Nukolova N., Kabanov A, Chekhonin V.* // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2015. Vol. 136. P. 1073.
  91. *Graeber TG, Osmanian C, Jacks T, Housman DE, Koch CJ, Lowe SW, Giaccia AJ.* // *Nature*. 1996. Vol. 379. P.88.

92. *Brahimi-Horn, M.C., Chiche, J., Pouysségur, J.* // *J. Mol. Med.* 2007. Vol. 85. P. 1301.
93. *Klyachko N.L., Sokolsky-Papkov M., Pothayee N., Efremova M.V., Gulin D.A., Kuznetsov A.A., Majouga A.G., Riffle J.S., Golovin Y.I., Kabanov A.V.* // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012. Vol. 51. P. 12016.
94. Головин Ю.И., Клячко Н.Л., Головин Д.Ю., Ефремова М.В., Самодуров А.А., Сокольски-Папков М., Кабанов А.В. // Письма в ЖТФ. 2013. Т. 39. № 5. С. 24.
95. Головин Ю.И., Клячко Н.Л., Сокольски-Папков М., Кабанов А.В. // Изв. РАН. Сер. физическая. 2013. Т. 77. № 11. С. 1621.
96. *Golovin Y; Klyachko, N; Majouga, A; Golovin, D; Gribovsky, S.* // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering.* 2015. Vol. 98. N 1. P. 12016.
97. *Golovin Yu. I., Gribovskii S.L., Klyachko N.L., Kabanov A.V.* // *Technical Physics.* 2014. Vol. 59. N 6. P. 932.
98. *Golovin Yu. I., Gribovskii S.L., Golovin D. Yu., Klyachko N.L., Kabanov A.V.* // *Physics of the Solid State.* 2014. Vol. 56. N 7. P. 1342.
99. Головин Ю.И., Клячко Н.Л., Грибановский С.Л., Головин Д.Ю., Самодуров А.А., Мажуга А.Г., Сокольски-Папков М., Кабанов А.В. // Письма в ЖТФ. 2015. Vol. 41. N 9. С. 96.
100. *Golovin Yu.I., Klyachko N.L., Gribovskii S.L., Golovin D.Yu., Samodurov A.A., Majouga A.G., Sokolsky-Papkov M., Kabanov A.V.* // *Technical Physics Letters.* 2015. Vol. 41. N 5. P. 455.
101. Клячко Н.Л., Головин Ю.И., Сокольски-Папков М., Кабанов А.В. Способ управления биохимическими реакциями // Патент РФ № 2525439 (Совместный приоритет ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова и Медицинского центра Университета Небраски (UNMC). США. 20.12.2012. публ. 27.06.2014. Бюл. №18).
102. *Golovin Yu.I., Gribovsky S.L., Golovin D.Yu., Klyachko N.L., Majouga A.G., Master A.M., Sokolsky M., Kabanov A.V.* // *J. Controlled Release.* 2015. Vol. 219. P. 43.
103. *Majouga A., Sokolsky-Papkov M., Kuznetsov A., Lebedev D., Efremova M., Beloglazkina E., Rudakovskaya P., Veselov M., Zyk N., Golovin Yu., Klyachko N., Kabanov A.* // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2015. Vol. 125. P. 104.
104. Самодуров А.А., Головин Д.Ю., Головин Ю.И., Клячко Н.Л., Кабанов А.В. Программа управления установкой, предназначенной для исследования биохимических реакций в магнитном поле // Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2013612385 от 26.02.2013. (Организации-правообладатели: ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВПО ТГУ им. Г.Р. Державина).
105. *Salihov S.V., Ivanenkov Ya.A., Krechetov S.P., Veselov M.S., Sviridenkova N.V., Savchenko A.G., Klyachko N. L., Golovin Yu.I., Chufarova N.V., Beloglazkina E.K., Majouga A.G.* // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials.* 2015. Vol. 394. P. 173.
106. *Efremova M.V., Tcareva I.O., Rudakovskaya P.G., Grebennikov I.S., Garanina A.S., Abakumov M.A., Shetinin I.V., Savchenko A.G., Golovin Y.I., Majouga A.G., Klyachko N.L.* Synthesis, functionalization and physical-chemical investigation of magnetite nanoparticles for biomedical application. // Program and Book of Abstracts International Conference «Biocatalysis-2015: Fundamentals & Applications». Istra (Moscow Region). P. 89.
107. *Veselov M.M., Rudakovskaya P.G., Majouga A.G., Efremova M.V., Uporov I.V., Kabanov A.V., Golovin Yu.I., Klyachko N.L.* Nanomechanical control of biochemical reactions via low-frequency magnetic field in aggregates of two magnetic nanoparticles cross-linked by chymotrypsin and YADH. // Сборник тезисов международной научно-практической конференции «Магнитные наноматериалы в биомедицине: получение, свойства, применение», Звенигород, Московская область. 2015. С. 65.
108. *Vlasova K.Yu., Abakumov M.A., Wishwarsao H., Sokolsky M., Nukolova N.V., Majouga A.G., Golovin Y.I., Klyachko N.L., Kabanov A.V.* Application of magnetic nanoparticles for controlled delivery of drugs. // Proceedings of VIII Moscow International Congress Biotechnology: State of the art and prospects of development. Moscow, Russia. Part 1. 2015. P. 99.
109. *Vlasova K.Yu., Abakumov M.A., Wishwarsao H., Sokolsky M., Deygen I.M., Nukolova N.V., Majouga A.G., Kudryashova E.V., Golovin Yu.I., Kabanov A.V., Klyachko N.L.* Remote control for release properties of magnetic liposomes. // Program and Book of Abstracts International Conference «Biocatalysis-2015: Fundamentals & Applications». Istra (Moscow Region). P. 90.
110. *Vlasova K.Yu., Majouga A.G., Golovin Yu.I., Klyachko N.L.* Remote control for release properties of magnetic liposomes. // Сб. тез. междунар. науч.-практ. школы-конференции «Магнитные наноматериалы в биомедицине: получение, свойства, применение». Звенигород, Московская область. 2015. С. 78.
111. Головин Ю.И., Клячко Н.Л., Грибановский С.Л., Головин Д.Ю., Самодуров А.А., Мажуга А.Г., Сокольски М., Кабанов А.В. Модели наномеханического управления свойствами биологических мембран с помощью стержне-образных магнитных наночастиц в переменном магнитном поле. // Матлы науч.-практ. интернет-конференции «Математическое моделирование в области клеточной биологии, биохимии и биофизики». Тольятти. 2014. С. 101.

## «NANOZYME» TECHNOLOGY IN MOSCOW UNIVERSITY. ACHIEVEMENTS AND DEVELOPMENT PERSPECTIVES

E.A. Zaitseva<sup>1\*</sup>, Yu.I. Golovin<sup>2,1</sup>, O. A. Kost<sup>1</sup>, I.I. Nikol'skaya<sup>1</sup>, K.Yu. Vlasova<sup>1</sup>,  
L.Yu. Filatova<sup>1</sup>, A.B. Belova<sup>1</sup>, E.N. Efremenko<sup>1</sup>, I.V. Lyagin<sup>1</sup>, A.D. Aleksashkin<sup>1</sup>,  
N.V. Nukolova<sup>3</sup>, A.G. Majouga<sup>1,4</sup>, A.V. Kabanov<sup>1,5</sup>, N.L. Klyachko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*M.V. Lomonosov Moscow State University, Department of Chemistry, Russia;* <sup>2</sup>*Nanocenter of G.R. Derzhavin Tambov State University, Russia;* <sup>3</sup>*Federal Medical Research Center of Psychiatry and Addictology, Moscow, Russia;* <sup>4</sup>*National University of Science and Technology MISiS;* <sup>5</sup>*Eshelman School of Pharmacy, University of North Carolina-Chapel Hill, Chapel Hill, USA;* \**e-mail: ezaitseva2008@gmail.com*)

Novel functional bionanosystems developed in the Lomonosov Moscow State University laboratory "Chemical design of bionanomaterials" in collaboration with scientists from UNC Eshelman School of Pharmacy (USA) for therapy and diagnostics based on proteins, enzymes, polymeric coatings, magnetic nanoparticles are presented in the review. The properties of enzymes (superoxide dismutase, catalase, organophosphate hydrolase, lysines of bacteriophages) and other drugs molecules immobilized in polymeric complexes as well as the methods for targeted drug delivery using cell-mediated systems and magnetic nanoparticles and operating conditions *in vitro* and *in vivo* are discussed. Physical and chemical characteristics including function peculiarities data of the nanoformulations are obtained. The nanoformulations developed demonstrated high potential therapeutic efficacy for treatment of central nervous system and brain diseases, inflammations (including inflammatory diseases in the eye), cancer and infectious diseases, neurotoxic injury and others. The possibilities of remote control biochemical reactions using a non-heating low-frequency alternating magnetic field (AMF) for the controlled release of drugs are analyzed in the review. The experimental results of the AMF effects on bionanosystems containing magnetic nanoparticles such as changing the catalytic activities of enzymes bound to magnetic nanoparticles as well as "disordering" of lipid bilayer in membranes are considered.

**Key words:** nanomedicine, enzymes, block copolymers, nanozymes, targeted drug delivery, theranostics, functionalized magnetic nanoparticles, low-frequency alternating magnetic field, controlled release of drugs.

**Сведения об авторах:** Зайцева Елена Анатольевна – вед. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (ezaitseva2008@gmail.com); Головин Юрий Иванович – профессор ТГУ им. Г.Р. Державина, вед. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук (yugolovin@yandex.ru); Кост Ольга Алексеевна – вед. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (kost-o@mail.ru); Никольская Ирина Ивановна – ст. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (ace@enzyme.chem.msu.ru); Власова Ксения Юрьевна – аспирант химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (vlasova\_k.y@mail.ru); Филатова Любовь Юрьевна – науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (luboff.filatova@gmail.com); Белова Алла Борисовна – ст. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (belovaab@gmail.com); Ефременко Елена Николаевна – зав. лабораторией кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, профессор, докт. хим. наук (elena\_efremenko@list.ru); Лягин Илья Владимирович – ст. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (lyagin@mail.ru); Алексахин Антон Дмитриевич – аспирант химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (alhimik239@yandex.ru); Нуколова Наталья Владимировна – ст. науч. сотр. Государственного научного центра социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского, канд. хим. наук (nnukolova@gmail.com); Мажуга Александр Георгиевич – доцент кафедры органической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук (alexander.majouga@gmail.com); Кабанов Александр Викторович – зав. лабораторией кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, директор Центра нанотехнологий и доставки лекарств Университета Северной Каролины (США), докт. хим. наук (skabanov@me.com; kabanov@unc.edu); Клячко Наталья Львовна – профессор кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (nlklyachko@gmail.com).