

ХИМИЯ
CHEMISTRY

УДК 544.77+577.115+57.084.1

Поступило в редакцию 19.09.2017
Received 19.09.2017

**Е. И. Дубатовка¹, И. Л. Лутик², Е. А. Чернявский³, Е. С. Бондаренко³, И. Э. Адзерихо²,
академик В. Е. Агабеков¹**

¹*Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

²*Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь*

³*Научно-исследовательский институт физико-химических проблем
Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь*

**ПОЛУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ ПРЕПАРАТОВ
НА ОСНОВЕ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ СТРЕПТОКИНАЗЫ
И ИХ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Аннотация. Получена липосомальная форма стрептокиназы (СК) с гидродинамическим диаметром ~70 нм, дзета-потенциалом –6,2 мВ и степенью включения вещества 14,1 %, на основе которой приготовлены комплексные препараты, содержащие «связанную» и «свободную» СК в соотношениях 20/80, 40/60 и 50/50. Для них в эксперименте *in vivo* на крысах показано увеличение периода полувыведения от 1,8 до 31,9 мин и времени достижения максимальной концентрации стрептокиназы от 15 до 45 мин, а также уменьшение константы элиминации в ~18 раз по сравнению с нативной СК. Оптимальное соотношение «связанной» и «свободной» СК в комплексном препарате составило 40 и 60 % соответственно, что было использовано для получения липосомальной фибрин-специфичной формы тромболитика, который обладает практически такими же физико-химическими и фармакокинетическими параметрами.

Ключевые слова: липосомы, стрептокиназа, фибрин-специфичность, фармакокинетические свойства, плазма крови

Для цитирования: Получение комплексных препаратов на основе липосомальной формы стрептокиназы и их фармакокинетические характеристики / Е. И. Дубатовка [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2017. – Т. 61, № 6. – С. 50–57.

**Katsiaryna I. Dubatouka¹, Iryna L. Lutsik², Evgenii A. Cherniavsky³, Ekaterina S. Bondarenko³, Igor E. Adzerikho²,
Academician Vladimir E. Agabekov¹**

¹*Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*Belarussian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus*

³*Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

**PREPARATION OF COMPLEX FORMULATIONS BASED ON LIPOSOMAL STREPTOKINASE
AND THEIR PHARMACOKINETIC CHARACTERISTICS**

Abstract. It was obtained that liposomal streptokinase (SK) with a hydrodynamic diameter of ~70 nm and a zeta-potential of –6.2 mV contains 14.1 % wt of drug. The complex formulations based on liposomal SK include “associated” and “free” SK in the ratios of 20/80, 40/60 and 50/50. The *in vivo* experiments on rats showed an increase in the elimination half-time from 1.8 to 31.9 min and in the time to reach the maximum concentration of streptokinase from 15 to 45 min. The decrease in the elimination rate constant by a factor of 18 compared with SK was also found. The optimal ratio of “associated” and “free” SK in the complex formulation was 40 and 60 % respectively. It was used to obtain liposomal fibrin-specific form of thrombolytic with similar physico-chemical and pharmacokinetic parameters.

Keywords: liposomes, streptokinase, fibrin-specificity, pharmacokinetic parameters, blood plasma

For citation: Dubatouka K. I., Lutsik I. L., Cherniavsky E. A., Bondarenko E. S., Adzerikho I. E., Agabekov V. E. Preparation of complex formulations based on liposomal streptokinase and their pharmacokinetic characteristics. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2017, vol. 61, no. 6, pp. 50–57 (in Russian).

Введение. Медикаментозный тромболизис является одним из высокоэффективных методов реперфузионной терапии. Для его проведения широко используются различные по степени фибрин-специфичности тромболитические агенты [1]. Стрептокиназа (СК) относится к фибрин-неспецифичным тромболитикам, что определяет ряд недостатков, которые ограничивают ее клиническое применение. Среди них относительно низкий процент полной реканализации тромбированных артерий и высокая частота рестенозов/реокклюзий [2]. Во многом это связано с системным действием препарата, коротким периодом его полувыведения, а также влиянием внутренних инактиваторов. Все это определяет поиск новых лекарственных форм СК, направленный на повышение эффективности ее действия за счет улучшения фармакокинетических свойств. В этом отношении одним из перспективных направлений в последние десятилетия является использование липосом в качестве наноконтейнеров, обеспечивающих более высокую селективность действия препарата и дозированное его высвобождение, вследствие чего достигается более длительный по времени медикаментозный эффект [3; 4].

Ранее [5; 6] нами были получены фибрин-специфичные липосомы (ФСЛ), содержащие моноклональные антитела и стрептокиназу (ФСЛ-СК). В экспериментах *in vivo* наблюдали высокую плотность накопления ФСЛ в модельных сосудистых тромбозах через 30 мин после введения препарата в системный кровоток. Предварительный анализ показал, что лиофилизированный препарат ФСЛ-СК наряду с инкапсулированной в липосомы СК («связанная» СК) содержит неинкапсулированную, нативную СК («свободная» СК). Наличие в таком комплексном препарате двух форм стрептокиназы, по-видимому, и определяет более длительное действие СК за счет двухфазного высвобождения в кровеносное русло. При этом «свободная» СК действует быстрее, а «связанная» – медленнее, и от их процентного соотношения зависят фармакокинетические свойства комплексного препарата, содержащего липосомальную форму СК.

Цель работы – установить гидродинамический диаметр и дзета-потенциал липосомальной формы стрептокиназы и подобрать соотношения «свободной» и «связанной» СК для достижения оптимальных фармакокинетических параметров (максимальной концентрации препарата в сыворотке крови, продолжительности периода полувыведения, времени наступления максимальной концентрации, константы элиминации) комплексного препарата, содержащего фибрин-специфичные липосомы.

Материалы и методы исследования. В работе использовали препарат «Стрептокиназа» (РУП «Белмедпрепараты», Беларусь) в виде лиофилизированного порошка с активностью 750 000 МЕ.

Липосомальную форму стрептокиназы (ЛипСК) получали методом гидратации липидной пленки [4; 7] с некоторыми изменениями. Смесь яичного фосфатидилхолина (Sigma) и холестерина (Acros Organics) в хлороформе в мольном соотношении 2 : 1 упаривали на водяной бане (37 °С), используя роторный испаритель ИР-1М (РФ) до образования тонкой пленки липидов на стенках колбы с последующим досушиванием в течение 1 ч под вакуумом до полного удаления растворителя. Затем пленку гидратировали 40 мМ раствором глюкозы (х. ч.) на ультразвуковой ванне BANDELIN Sonorex (Германия) с частотой 35 кГц и полученный золь лиофилизировали (FreeZone, Labcongo, США), затем к полученным пролипосомам (Лип) добавляли стрептокиназу из расчета 65000 ЕД/6,2 мг липидов, перемешивали, проводили 5 циклов замораживания-оттаивания (от –20 °С до +37 °С) и повторно лиофилизировали. После ресуспендирования в воде получили комплексный препарат, содержащий «связанную» и «свободную» стрептокиназу (СК/ЛипСК-20). После центрифугирования липосом при 6000 об/мин и +4 °С в течение 30 мин (Allegra 64R, Beckman Coulter, США) супернатант отделяли и определяли в нем концентрацию СК. Осадок представлял собой липосомы, содержащие «связанную» стрептокиназу. Комплексные препараты СК/ЛипСК-40 и СК/ЛипСК-50 получали смешением нескольких образцов ЛипСК, после чего добавляли стрептокиназу до суммарной активности 45000 ЕД. Для получения фибрин-специфичного комплексного препарата (СК/ФСЛ-СК) к липидной смеси добавляли гексадециламин (3 мол. %), далее готовили липосомы аналогично формированию СК/ЛипСК-40, смешивали их с конъюгатом карбоксилированного декстрана и фибрин-специфичных моноклональных антител FnI-3С (класс IgG₂) и инкубировали в течение 1 ч при перемешивании.

Гидродинамический диаметр липосом определяли методом динамического рассеяния света, а дзета-потенциал – по электрофоретической подвижности частиц (Zetasizer Nano-ZS, Malvern, Великобритания). Результаты представляют собой средние значения диаметров частиц и их стандартные отклонения пяти независимых измерений образцов. Форму и размеры липосом определяли также методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ, JEM-100СХ, Япония).

Эксперименты *in vivo* проводили в стандартных условиях операционного блока вивария на 55 наркотизированных и зафиксированных рандомбредных беспородных самцах крыс весом 200–250 г в соответствии с «Методическими рекомендациями по доклиническому изучению фармакокинетики лекарственных средств»¹, ТКП 125–2008 (02040) «Надлежащая производственная практика». Фармакокинетику и распределение препарата в плазме крови крыс [8] изучали в течение 3 ч во временные интервалы через 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 и 180 мин после однократного введения комплексных препаратов СК/ЛипСК и СК/ФСЛ-СК или нативной СК внутривенно (в хвостовую вену) в дозе 150 тыс. ЕД/кг. Во всех случаях объем вводимого препарата соотносился с весом конкретного лабораторного животного. В каждой временной точке использовали 5 крыс.

Взятие венозной крови крыс проводили из яремной вены путем ее перерезания непосредственно перед выведением животного из эксперимента. Образцы крови животного (~5 мл) центрифугировали с использованием центрифуги лабораторной ОПн-8УХЛ4.2 (Россия) в течение 15 мин при 3000 об/мин и отбирали плазму крови в количестве 1000 мкл.

Для определения концентрации «свободной» и «связанной» стрептокиназы в комплексном препарате его суспендировали в изотоническом буфере и центрифугировали при 4000 об/мин в течение 15 мин. При этом супернатант содержал «свободную» СК, а осадок – «связанную». Для определения количества «связанной» СК ресуспендированный в изотоническом буфере осадок выдерживали в течение 4 ч при 37 °С до полного высвобождения СК из липосом.

Количественное определение концентрации стрептокиназы оценивали по гидролизу хромогенного субстрата плазминоном, образующегося при активации плазминогена человека. В экспериментах использовали коммерческий набор определения активности плазминогена (Хромотех-плазминоген, Россия), адаптированный для определения активности СК в концентрации 7,5–30 ед/мл. Был использован вариант стоп-метода при времени реакции 15 мин. Количество образующегося п-нитроанилида определяли фотометрически по оптической плотности раствора при длине волны 450 нм. Для определения активности СК использовали калибровочный график в координатах $Y = D$, $X = \lg C$, где D – оптическая плотность, C – концентрация калибровочного раствора.

При расчете фармакокинетических параметров стрептокиназы в плазме крови крыс использовали однокамерную модель. Расчет интегральных параметров фармакокинетики препарата проводили по экспериментально определенному ряду концентраций $C = C(t)$ в плазме крови. В соответствии с рекомендациями [9; 10] расчет включал в себя вычисление основных фармакокинетических параметров: суммарная площадь под кривой «концентрация–время» (AUC), суммарная площадь под кривой момента (AUMC), среднее время пребывания в организме молекулы фармакологического средства (MRT), C_{\max} – максимальная концентрация препарата в сыворотке крови, T_{\max} – время наступления максимальной концентрации, общий клиренс (Cl), стационарный объем распределения (V_{ss}), константа элиминации (k_{el}), продолжительность периода полувыведения ($T_{1/2}$). Расчет AUC и AUMC для кинетики высвобождения препаратов проводили с использованием программы OriginPro 7.0. Для статистического анализа полученных данных использовали таблицы Microsoft Excel 2007 и пакет прикладных программ Statistica 10.0 для параметрических величин. Критериями оценки выступали среднее арифметическое \pm стандартное отклонение. Достоверность различий определяли с помощью U -теста Стьюдента (для независимых выборок). Значение $p < 0,05$ принимали как статистически значимое.

¹ Правила доклинических исследований безопасности и эффективности фармакологических веществ (Правила качественной лабораторной практики в РФ – GLP или ПДП). Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – Москва, 2000. – С. 56.

Результаты и их обсуждение. Липосомы со стрептокиназой имели сферическую форму (рис. 1) и размер, установленный методом просвечивающей электронной микроскопии, 135–160 нм, в то время как гидродинамический диаметр для пролипосом (Лип) составил $65,4 \pm 7,0$ нм (PDi 0,50), а для ЛипСК – $70,1 \pm 3,0$ нм (PDi 0,46) (табл. 1).

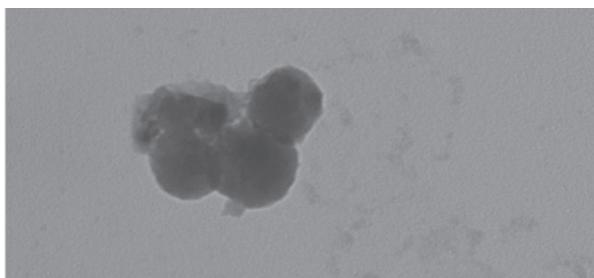


Рис. 1. ПЭМ изображение липосом со стрептокиназой (ЛипСК)

Fig. 1. TEM image of liposomes with Streptokinase (LipSK)

Т а б л и ц а 1. Основные физико-химические характеристики липосом

Table 1. Physicochemical characteristics of liposomes

Характеристика липосом Characteristics of liposomes	Пролипосомы (Лип) Proliposomes (Lip)	Липосомы со стрептокиназой (ЛипСК) Liposomes with Streptokinase (LipSK)
Гидродинамический диаметр, нм Hydrodynamic diameter, nm	$65,4 \pm 7,0$	$70,1 \pm 3,0$
Индекс полидисперсности (PDi) Polydispersity Index (PDi)	$0,50 \pm 0,08$	$0,46 \pm 0,06$
Дзета-потенциал, мВ Zeta potential, mV	$-24,7 \pm 5,4$	$-6,2 \pm 0,7$

Подобное различие в размерах липосом было отмечено в работе [11]: для везикул, полученных методом гидратации липидной пленки, гидродинамический диаметр составил ~ 84 нм, а размер на ПЭМ-изображении – более 200 нм. Большее значение размера по сравнению с гидродинамическим диаметром могло быть связано с деформацией и слиянием липосом при контакте с коллоидной пленкой в процессе приготовления образца для ПЭМ-регистрации.

Величина и знак дзета-потенциала являются одним из важнейших параметров стабильности коллоидных растворов и скорости клиренса частиц в крови [12; 13]. Исследованные образцы отрицательно заряжены: значения дзета-потенциала для Лип составили $-24,7 \pm 5,4$ мВ, а для ЛипСК $-6,2 \pm 0,7$ мВ, что указывает на изменение свойств поверхности липосом при включении белка в их состав. В литературе описаны способы получения липосом с исходным содержанием тромболитического препарата 2000–42000 ЕД/6,2 мг липидов и размерами 150–250 нм [12–14]. В настоящей работе применение дополнительной стадии при получении ЛипСК из пролипосом, а также использование 5 циклов замораживания-оттаивания позволило увеличить количество взятой стрептокиназы до 65000 ЕД/6,2 мг липидов и уменьшить размеры липосом до ~ 70 нм. Активность ЛипСК составила 9160 ± 360 ЕД, что соответствует степени включения 14,1 % от исходного количества СК. Лиофилизация обеспечивает длительное хранение ЛипСК с сохранением активности тромболитического препарата. Для обеспечения пролонгированного эффекта стрептокиназы были получены комплексные тромболитические препараты СК/ЛипСК-20, СК/ЛипСК-40, СК/ЛипСК-50 путем добавления нативной СК к ЛипСК до соотношений «связанной» и «свободной» фракций 20/80, 40/60 и 50/50 соответственно (табл. 2). Схема строения комплексных тромболитических препаратов приведена на рис. 2.

Для комплексного тромболитического препарата можно ожидать первоначального действия «свободной» фракции стрептокиназы для получения быстрого фибринолитического эффекта, а затем выхода из липосом в достаточном количестве «связанной» фракции СК с последующей активацией фибринолиза.

Т а б л и ц а 2. Значения активности «связанной» с липосомами и находящейся в растворе «свободной» СК в составе комплексных препаратов СК/ЛипСК-20, СК/ЛипСК-40 и СК/ЛипСК-50

Table 2. Activity of “associated” with liposomes and “free” SK in the complex formulations SK/LipSK-20, SK/LipSK-40 and SK/LipSK-50

Параметр Parameter	Активность, ЕД. Activity, units		
	СК/ЛипСК-20 SK/LipSK-20	СК/ЛипСК-40 SK/LipSK-40	СК/ЛипСК-50 SK/LipSK-50
Активность СК, «связанной» с липосомами, ЕД Activity “associated” with liposomes SK, units	9160 ± 360	18490 ± 370	22490 ± 450
Активность СК, находящейся в растворе, ЕД Activity of SK in the solution, units	35840 ± 670	27980 ± 540	23400 ± 510
Суммарная активность СК в липосомах, ЕД Summary SK activity in the liposomes, units	44100 ± 855	46480 ± 675	45900 ± 740
Соотношение «связанной» и «свободной» СК в липосомах, % Ratio between “associated” and “free” SK, %	20/80	40/60	50/50

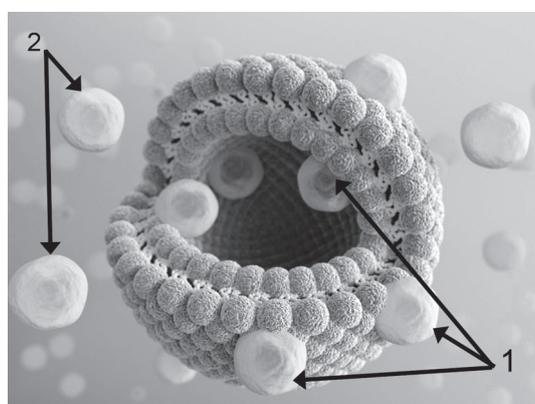


Рис. 2. Схематическое представление комплексного тромболитического препарата: 1 – «связанная» с липосомами стрептокиназа, доступная для активации плазминогена; 2 – «свободная», находящаяся в растворе стрептокиназа

Fig. 2. Scheme of a complex thrombolytic drug: 1 – “associated” with liposomes streptokinase, available for plasminogen activation; 2 – “free” streptokinase in solution

Фармакокинетика комплексных препаратов СК/ЛипСК-20, СК/ЛипСК-40 и СК/ЛипСК-50. Кинетические параметры комплексных препаратов (C_{\max} , T_{\max} , k_{el} , $T_{1/2}$) определяли на основании анализа концентрации стрептокиназы в плазме крови крыс. Фармакокинетический профиль нативной СК характеризовался коротким периодом полувыведения и высоким значением константы элиминации (табл. 3). При этом максимальную концентрацию препарата отмечали на 15-й минуте наблюдения.

При использовании СК/ЛипСК увеличивается период полувыведения и время достижения максимальной концентрации и уменьшается максимальная концентрация и константа элиминации. Период полувыведения СК увеличится с ростом содержания «связанной» СК и составляет 8,6, 24,3 и 31,9 мин в препаратах СК/ЛипСК-20, СК/ЛипСК-40 и СК/ЛипСК-50 соответственно (табл. 3), что значительно превышало период полураспада свободной СК ($p < 0,05$). Увеличение содержания «связанной» СК в группах СК/ЛипСК также приводит к росту времени достижения максимальной концентрации стрептокиназы от 20 до 45 мин и уменьшению константы элиминации в препаратах от 0,0810 до 0,0217 мин⁻¹ за счет замедления контакта СК/ЛипСК-50 с плазминогеном. Это подтверждает механизм первоначального распределения в кровотоке «свободной» фракции СК, обеспечивающей быстрый фибринолитический эффект, и замедленный выход «связанной» части препарата с последующей активацией фибринолиза. Отсутствие значимых различий константы элиминации при использовании СК/ЛипСК-40 в сравнении с СК/ЛипСК-50,

Т а б л и ц а 3. Фармакокинетические параметры комплексных тромболитических препаратов СК/ЛипСК-20, СК/ЛипСК-40 и СК/ЛипСК-50, СК/ФСЛ-СК и нативной стрептокиназы ($n = 5$)

T a b l e 3. Pharmacokinetic parameters of complex thrombolytic drugs SK/LipSK-20, SK/LipSK-40 and SK/LipSK-50, SK/FSL-SK and streptokinase ($n = 5$)

Параметр Parameter	Соотношение «связанной» и «свободной» стрептокиназы The ratio of “associated” with liposomes and “free” SK					p
	0/100	20/80	40/60	50/50	40/60	
	СК SK	СК/ЛипСК-20 SK/LipSK-20	СК/ЛипСК-40 SK/LipSK-40	СК/ЛипСК-50 SK/LipSK-50	СК/ФСЛ-СК SK/FSL-SK	
T_{\max} , мин T_{\max} , min	15	20*	30*	45*	30*	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
C_{\max} , ед/мл C_{\max} , u/ml	98,7	94,5*	72,1*	66,5*	73,2*	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
k_{el} , 1/мин k_{el} , 1/min	0,3867	0,0810*	0,0285*	0,0217*	0,0291*	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
$T_{1/2}$, мин $T_{1/2}$, min	1,8	8,6*	24,3*	31,9*	24,1*	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$

П р и м е ч а н и е: p – достигнутый уровень значимости между группами; * – различия достоверны по отношению к нативной форме стрептокиназы ($p < 0,05$).

N o t e: p – the level of significance between the groups; * – the differences are significant compared to the native form of Streptokinase ($p < 0.05$).

трехкратное увеличение периода полураспада по отношению к СК/ЛипСК-20 и наибольшее значение активности (46480 ЕД) позволили сделать вывод об оптимальном соотношении «связанной» и «свободной» СК в СК/ЛипСК-40, который был выбран нами для дальнейших экспериментов по исследованию фибрин-специфичного комплексного препарата СК/ФСЛ-СК.

Фармакокинетические параметры фибрин-специфичного комплексного препарата, содержащего стрептокиназу. Модификация ЛипСК конъюгатом фибрин-специфичных моноклональных антител FnI-3С (класс IgG₂) с карбоксилированным декстраном приводит к увеличению гидродинамического диаметра липосом от ~65 до ~140 нм (PDi 0,32). Введение в липидную смесь ФСЛ катионного поверхностно-активного вещества гексадециламина приводит к образованию комплекса между липосомами и конъюгатом декстран-антитела с дзета-потенциалом –19,6 мВ. Значения активностей СК в составе СК/ФСЛ и СК/ЛипСК-40 имели близкие показатели и составили 19710 и 18490 ЕД соответственно. При введении фибрин-специфичных липосом в крыс максимальная концентрация, время полувыведения, константа элиминации и время достижения максимальной концентрации СК в плазме крови достоверно не отличались от СК/ЛипСК-40, что свидетельствует об отсутствии влияния гексадециламина, моноклональных антител к фибрину

и конъюгата декстран-антитела на активность и фармакокинетические параметры стрептокиназы. Это можно объяснить тем, что исследование проводили на здоровых животных без модельного тромба, что значимо не повлияло на кинетику высвобождения СК.

Таким образом, комплексный тромболитический препарат СК/ФСЛ-СК имеет гидродинамический диаметр ~ 140 нм, дзета-потенциал $-19,6$ мВ, активность СК и основные фармакокинетические параметры (C_{\max} , T_{\max} , k_{el} , $T_{1/2}$), аналогичные СК/ЛипСК-40.

Заключение. Получена липосомальная форма стрептокиназы (СК) с гидродинамическим диаметром ~ 70 нм, дзета-потенциалом $-6,2$ мВ и степенью включения вещества $14,1$ %, на основе которой приготовлены комплексные препараты, содержащие «связанную» и «свободную» СК в соотношениях 20/80, 40/60 и 50/50. Для них в эксперименте *in vivo* на крысах показано увеличение периода полувыведения от 1,8 до 31,9 мин и времени достижения максимальной концентрации стрептокиназы от 15 до 45 мин, а также уменьшение константы элиминации в ~ 18 раз по сравнению с нативной СК. Оптимальное соотношение «связанной» и «свободной» СК в комплексном препарате составило 40 и 60 % соответственно, что было использовано для получения липосомальной фибрин-специфичной формы тромболитика, который обладает практически такими же физико-химическими и фармакокинетическими параметрами.

Список использованных источников

1. Эволюция тромболитической терапии в лечении инфаркта миокарда / П. Г. Кесов [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2014. – Т. 10, № 5. – С. 554–558.
2. Шарафутдинова, А. Ф. Осложнения тромболитической терапии в реальной клинической практике / А. Ф. Шарафутдинова, М. В. Мензоров // Клиницист. – 2011. – Т. 5, № 3. – С. 106–108. doi.org/10.17650/1818-8338-2011-3-106-108
3. Bunker, A. Rational design of liposomal drug delivery systems, a review: Combined experimental and computational studies of lipid membranes, liposomes and their PEGylation / A. Bunker, A. Magarkar, T. Viitala // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes. – 2016. – Vol. 1858, N 10. – P. 2334–2352. doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.02.025
4. Влияние липосомальной формы стрептокиназы на образование Д-димеров / Е. И. Дубатовка [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 6. – С. 54–58.
5. Dubatouka K. I. Investigation of antibody modified liposomes binding with patterned fibrinogen films / K. I. Dubatouka, I. V. Paribok, V. E. Agabekov // Physics, chemistry and application of nanostructures. – Singapore: World Scientific, 2017. – P. 299–302.
6. Сравнительная оценка фармакокинетики липосомальных форм стрептокиназы в эксперименте *in vivo* / И. Л. Лутик [и др.] // Вестн. РГМУ. – 2015. – № 2. – С. 864–865.
7. Walde, P. Enzymes inside lipid vesicles: preparation, reactivity and applications / P. Walde, S. Ichikawa // Biomolecular Engineering. – 2001. – Vol. 18, N 4. – P. 143–177. doi.org/10.1016/s1389-0344(01)00088-0
8. Клиническая фармакология / под ред. В. Г. Кукеса. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – С. 17–69.
9. Pharmacokinetics of Methylphenidate after oral administration of two modified-release formulations in healthy adults / J. S. Markowitz [et al.] // Clinical Pharmacokinetics. – 2003. – Vol. 42, N 4. – P. 393–401. doi.org/10.2165/00003088-200342040-00007
10. Gabrielsson, J. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis – Concepts and Applications / J. Gabrielsson, D. Weiner. – 5th ed. – Swedish Pharmaceutical Press, 2016. – 1040 p.
11. Thompson, A. K. The properties of liposomes produced from milk fat globule membrane material using different techniques / A. K. Thompson, M. R. Mozafari, H. Singh // Le Lait. – 2007. – Vol. 87, N 4–5. – P. 349–360. doi.org/10.1051/lait:2007013
12. Development and characterization of site specific target sensitive liposomes for the delivery of thrombolytic agents / B. Vaidya [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 2011. – Vol. 403, N 1–2. – P. 254–261. doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.10.028
13. Thrombus-targeted nanocarrier attenuates bleeding complications associated with conventional thrombolytic therapy / S. Absar [et al.] // Pharm. Res. – 2013. – Vol. 30, N 6. – P. 1663–1676. doi.org/10.1007/s11095-013-1011-x
14. Holt, B. Streptokinase Loading in Liposomes for Vascular Targeted Nanomedicine Applications: Encapsulation Efficiency and Effects of Processing / B. Holt, A. Sen Gupta // J. of Biomat. App. – 2010. – Vol. 26, N 5. – P. 509–527. doi.org/10.1177/0885328210374778

References

1. Kesov P. G., Reytblat O. M., Safiullina Z. M., Shalaev S. V. Evolution of thrombolytic therapy in the treatment of myocardial infarction. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii = Rational Pharmacotherapy in Cardiology*, 2014, vol. 10, no. 5, pp. 554–558 (in Russian).

2. Sharafutdinova A. F., Menzorov M. V. Complications of thrombolytic therapy in actual clinical practice. *Klinitsist = The Clinician*, 2011, no. 3, pp. 106–108 (in Russian). doi.org/10.17650/1818-8338-2011-3-106-108
3. Bunker A., Magarkar A., Viitala T. Rational design of liposomal drug delivery systems, a review: Combined experimental and computational studies of lipid membranes, liposomes and their PEGylation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 2016, vol. 1858, no. 10, pp. 2334–2352. doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.02.025
4. Dubatouka K. I., Agabekov V. E., Lutsik I. L., Yatsevich V. N., Adzerikho I. E. Effect of liposomal streptokinase on the D-dimers formation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 6, pp. 54–58 (in Russian).
5. Dubatouka K. I., Paribok I. V., Agabekov V. E. Investigation of antibody modified liposomes binding with patterned fibrinogen films. *Physics, chemistry and application of nanostructures*. Singapore, World Scientific, 2017, pp. 299–302. doi.org/10.1142/9789813224537_0069
6. Lutik I. L., Dubatovka K. I., Adzeriho I. E. Comparative evaluation of pharmacokinetics liposomal forms of streptokinase in experiment *in vivo*. *Vestnik Rossiiskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of Russian State Medical University*, 2015, no. 2, pp. 864–865 (in Russian).
7. Walde P., Ichikawa S. Enzymes inside lipid vesicles: preparation, reactivity and applications. *Biomolecular Engineering*, 2001, vol. 18, no. 4, pp. 143–177. doi.org/10.1016/s1389-0344(01)00088-0
8. Kukes V. G. (ed.). *Clinical pharmacology*. 3d ed. Moscow, GEOTAR–Media Publ., 2006, pp. 17–69 (in Russian).
9. Markowitz J. S., Straughn A. B., Patrick K. S., DeVane C. L., Pestreich L., Lee J., Wang Y., Muniz R. Pharmacokinetics of Methylphenidate after oral administration of two modified-release formulations in healthy adults. *Clinical Pharmacokinetics*, 2003, vol. 42, no. 4, pp. 393–401. doi.org/10.2165/00003088-200342040-00007
10. Gabrielsson J., Weiner D. *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis – Concepts and Applications*. 5th ed. Swedish Pharmaceutical Press, 2016. 1040 p.
11. Thompson A. K., Mozafari M. R., Singh H. The properties of liposomes produced from milk fat globule membrane material using different techniques. *Le Lait*, 2007, vol. 87, no. 4–5, pp. 349–360. doi.org/10.1051/lait:2007013
12. Vaidya B., Nayak M. K., Dash D., Agrawal G. P., Vyas S. P. Development and characterization of site specific target sensitive liposomes for the delivery of thrombolytic agents. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, vol. 403, no. 1–2, pp. 254–261. doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.10.028
13. Absar S., Nahar K., Kwon Y. M., Ahsan F. Thrombus-targeted nanocarrier attenuates bleeding complications associated with conventional thrombolytic therapy. *Pharmaceutical Research*, 2013, vol. 30, no. 6, pp. 1663–1676. doi.org/10.1007/s11095-013-1011-x
14. Holt B., Sen Gupta A. Streptokinase Loading in Liposomes for Vascular Targeted Nanomedicine Applications: Encapsulation Efficiency and Effects of Processing. *Journal of Biomaterials Applications*, 2010, vol. 26, no. 5, pp. 509–527. doi.org/10.1177/0885328210374778

Информация об авторах

Дубатовка Екатерина Ивановна – мл. науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: d_katerina@tut.by.

Лутик Ирина Леонидовна – мл. науч. сотрудник. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lutik-irinka@yandex.by.

Чернявский Евгений Анатольевич – канд. хим. наук, заместитель директора. Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: eugene.cherniavsky@gmail.com.

Бондаренко Екатерина Сергеевна – мл. науч. сотрудник. Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220030, Минск, Республика Беларусь).

Адзерихо Игорь Эдуардович – д-р мед. наук, профессор. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: adzerikhoigor@mail.ru.

Агабеков Владимир Енокович – академик, д-р хим. наук, профессор, директор. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: agabekov@ichnm.basnet.by.

Information about the authors

Dubatouka Katsiaryna Ivanawna – Junior researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: d_katerina@tut.by.

Lutsik Iryna Leanidawna – Junior researcher. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lutik-irinka@yandex.by.

Cherniavsky Evgenii Anatolievich – Ph. D. (Chemistry), Deputy Director. Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: eugene.cherniavsky@gmail.com.

Bondarenko Ekaterina Sergeevna – Junior researcher. Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus).

Adzerikho Ihar Eduardavich – D. Sc. (Medicine), Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: adzerikhoigor@mail.ru.

Agabekov Vladimir Enokovich – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor, Director. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: agabekov@ichnm.basnet.by.