

УДК 577.3

## НАНОТЕХНОЛОГИИ В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

© 2023 г. Д.Б. Корман\*, Л.А. Островская\*<sup>\*,#</sup>, Н.В. Блюхтерова\*, В.А. Рыкова\*, М.М. Фомина\*

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина, 4, Москва, 119334, Россия*

*\*E mail: larros@list.ru*

Поступила в редакцию 09.03.2023 г.

После доработки 09.03.2023 г.

Принята к публикации 15.03.2023 г.

В обзоре обобщены экспериментальные данные, связанные с изучением возможностей использования нанотехнологий для целей лекарственной терапии злокачественных опухолей.

*Ключевые слова: наночастицы, липосомы, полимеры, мицеллы, дендримеры, цитотоксичность, противоопухолевая активность, клеточные культуры опухолей, перевиваемые опухоли.*

DOI: 10.31857/S0006302923030213, EDN: FTEQLV

В последнее десятилетие внимание исследователей, работающих над созданием лекарственных препаратов, привлекают возможности, появившиеся в результате развития нанотехнологий, которые позволяют получать вещества в виде наночастиц (НЧ).

Наночастицы – это изолированные твердофазные объекты, имеющие отчетливо выраженные границы с окружающей средой, размеры которых во всех трех измерениях соответствуют 1–100 нм. Следует однако отметить, что не все НЧ, используемые в медицинских целях, соответствуют общепринятому определению размера НЧ, что, тем не менее, не обязательно влияет на их функциональность в медицинских приложениях. Относительно большие (размер >100 нм) НЧ могут потребоваться для загрузки достаточного количества лекарственного средства в НЧ.

Привлекательность использования НЧ в медицине обусловлена их уникальными особенностями, в первую очередь, наличием большой функциональной поверхности, т.е. высоким отношением поверхности к массе. Это позволяет НЧ адсорбировать и переносить другие соединения, в том числе лекарственные субстанции, то

есть выступать в роли носителя лекарственного средства (лекарственной формы).

Применение противоопухолевых препаратов (ПП) в форме наноразмерных структур может иметь существенные преимущества перед стандартными лекарственными формами, что обусловлено следующими факторами:

- улучшение растворимости в водных средах (многие ПП мало или плохо растворимы, что ограничивает и затрудняет их практическое использование);
- более высокая биодоступность;
- пролонгирование циркуляции в кровотоке;
- увеличение содержания активного агента в опухолевой клетке вследствие эффекта повышенной проницаемости и удерживания НЧ (EPR – enhanced permeation and retention);
- направленная доставка к опухоли за счет возможности прикрепления специфических лигандов;
- уменьшение токсичности лекарственной субстанции [2–6].

Использование возможностей нанотехнологий для целей лекарственной терапии злокачественных опухолей может идти по двум направлениям [7]:

- производство на наноуровне самого лекарственного средства, функционирующего как собственный «носитель» (carrier-free) [1, 2];
- создание специальных, «инженерных» НЧ в качестве носителя.

*Сокращения:* НЧ – наночастицы, ПП – противоопухолевые препараты, EPR – повышенная проницаемость и удерживание наночастиц (enhanced permeation and retention), РМЖ – рак молочной железы человека, НСН – наноструктурированные носители, ТЧЛ – термочувствительные липосомы, НТ-ТЧЛ – низкотемпературные термочувствительные липосомы, PLGA – сополимер полимолочной и гликолевой кислот, РАМАМ – полиаминоамины.

## НАНОЧАСТИЦЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ

Одно из направлений разработки новых лекарственных форм медикаментозных препаратов предполагает получение и изучение активных субстанций не в обычной молекулярной форме, а в форме НЧ – наноразмерных скоплений действующих молекул. Преимуществами такой формы считают высокую загрузку действующего агента (может достигать 100%), отсутствие потенциальной токсичности, которая может быть индуцирована материалом носителя, возможность модификации НЧ для направленной доставки ПП к мишени, возможность получения в одной НЧ нескольких активных агентов [5, 8, 9].

Многочисленные методы получения НЧ лекарственных субстанций делят на две основные группы: подход «снизу-вверх» и подход «сверху-вниз».

Первый, называемый также «конструктивным» методом, подразумевает сборку НЧ из отдельных молекул и атомов.

Второй подход, известный как «деструктивный» метод, основан на разбиении или разложении крупных объектов на мелкие единицы, которые затем превращаются в НЧ. Для этого используют такие методы, как механическое фрезерование, нанолитография, химическое травление, лазерная абляция, распыление, электровзрыв и термическое разложение. Изменяя условия проведения этих процессов можно регулировать такие параметры НЧ как размер, форму, заряд, характер поверхности [2, 9].

Получение НЧ активных субстанций может осуществляться в результате самостоятельной наносборки молекул этих веществ, при этом возможна самосборка НЧ, содержащих один или два-три препарата. В водном растворе молекулы некоторых лекарственных средств выпадают в осадок, при этом происходит спонтанная агрегация молекул с образованием НЧ. Однако большинство ПП не обладают способностью к самосборке и получение НЧ этих веществ требует специальных методов [5, 9].

Наносборка препаратов в основном обусловлена не ковалентными взаимодействиями между молекулами лекарственного средства или лекарственного средства и молекулами воды за счет функциональных групп в химической структуре противоопухолевых субстанций. Например, алифатические группы ведут к гидрофобным взаимодействиям, ионные группы обладают электростатической активностью, гидроксильные или карбоксильные группы взаимодействуют с помощью водородных связей. Наносборка возможна в

результате межмолекулярного пи-стейкинга [5, 10, 11].

Одним из наиболее часто применяемых методов получения НЧ, содержащих ПП, является метод одноступенчатой нанопреципитации, преимуществами которого считается возможность получать НЧ с высоким содержанием действующего агента, легкость и воспроизводимость метода, возможность контроля качества и масштабирования метода. С помощью этого метода получены НЧ нескольких веществ с противоопухолевой активностью (паклитаксел, куркумин, иммунотерапевтический препарат BMS-202 – ингибитор комплекса PD-1/PD-L1 и другие).

В опытах *in vitro* и *in vivo* показаны преимущества этих НЧ по сравнению с «чистыми» препаратами [5, 12–14].

Описан метод получения НЧ с помощью ледяного шаблона, основанный на уникальном свойстве льда, заключающемся в том, что границы зерен льда содержат подвижные молекулы воды, ведущие себя как жидкость. В результате ледяной шаблон эквивалентен специальному водному раствору.

Основные этапы такого метода наносборки включают капельное введение раствора вещества в ледяной шаблон и быстрое выпаривание растворителя с помощью сухого воздуха, в результате чего вокруг зерен льда образуются НЧ, выделяющиеся после плавления льда. Регулируя условия выполнения метода можно получать НЧ разного размера. С помощью этого метода были получены НЧ камптотецина, паклитаксела, 6-меркаптопурина, метотрексата и некоторых других цитостатиков, размерами ~ 50–90 нм, с содержанием препаратов 90–97%. Подобным способом возможно также получение двойных и тройных наносборок. При этом важное значение имеет подбор оптимальных молярных соотношений «чистых» веществ [5, 15].

Тройные НЧ в форме стержня, содержащие одновременно камптотecin, трастузумаб и доксорубин, получены путем сочетания методов диффузии растворителя (получаются НЧ камптотецина), физической абсорбции (покрытие НЧ камптотецина трастузумабом) и совместной инкубации этих НЧ с доксорубицином (включение доксорубина в корону трастузумаба вокруг НЧ камптотецина) [5, 16].

Сообщается о получении НЧ, содержащих три гидрофобных ПП – метотрексат, 10-гидроксикамптотecin и паклитаксел – методом обмена растворителями. Вначале препараты смешивали в молярном отношении 1 : 1 : 1, затем их растворяли в диметилсульфоксиде, образуя гибридный раствор трех препаратов. После введения гибридного

ного раствора в деионизированную воду молекулы препаратов агрегируют и выпадают в осадок с образованием мультитекарственных НЧ в форме стержней. На клетках рака молочной железы человека (РМЖ) линии MCF-7, в том числе резистентных к доксорубину, показано синергетическое усиление цитотоксического эффекта [17].

Двойные и тройные наносборки ПП могут обладать более высокой активностью по сравнению с применением этих же ПП в обычной молекулярной форме [18, 19]. Например, наносборка 10-гидроксикампецтина и доксорубина оказалась эффективной в отношении клеток MCF-7, рефрактерных к этим препаратам [18], наносборка gefitinib и трипептида торосерватида (ингибитор гистондеацетилазы) более эффективно подавляла рост клеток аденокарциномы легких линии A549, чем эти препараты, примененные в традиционной форме [20].

Наносборка доксорубина и берберина (алкалоид, обладающий антиметастатической активностью) оказывала выраженное цитостатическое действие *in vitro* на клетки гепатокарциномы HepG2, тормозила *in vivo* рост гепатомы H22 мышей [19], ингибировала рост опухоли и метастазирование в легкие перевиваемого РМЖ 4T1 мышей [21].

На клетках РМЖ линии BT-474 показано, что после интернализации тройной наносборки трастузамаба, камптотецина и доксорубина, трастузамаб локализуется в плазматической мембране, камптотин в перинуклеарной области, а доксорубин в ядре. Таким образом, наносборка обеспечивает одновременное воздействие на три разные внутриклеточные мишени. Наносборка этих ПП оказала более выраженный цитотоксический эффект по сравнению с их применением отдельно. Следует отметить, что синергетический эффект отмечался на клетках РМЖ с гиперэкспрессией Her2 и не регистрировался на клетках трижды негативного РМЖ линии MDA-MB-231, что, очевидно, обусловлено наличием в тройной наносборке трастузамаба, обеспечивающего, помимо цитостатического эффекта, направленную доставку НЧ к клеткам [16].

Методом обмена растворителями была реализована самосборка сферических НЧ, содержащих метотрексат и урсоловую кислоту (лиганд для рецепторов фолатов). Загрузка препаратов в НЧ составила 91.7 и 96.9% соответственно. НЧ обладали более высокой растворимостью в воде по сравнению со свободными препаратами, синергетическим цитотоксическим эффектом на клетках A549 и MCF-7 и противоопухолевым эффектом на ксенографтах этих опухолей, при этом эффект был более значительным на клетках MCF-7 по

сравнению с клетками A549, что связывают с гиперэкспрессией рецепторов фолатов на клетках MCF-7 [22].

Еще одним методом получения НЧ «чистого» лекарственного средства является получение нанокристаллов, полностью состоящих из лекарственного средства и покрытых модификатором поверхности для придания физической стабильности. Наиболее целесообразно получение нанокристаллов для плохо растворимых препаратов, которые в обычной форме не могут полностью раскрыть свой потенциал. Подсчитано, что ~ 40% лекарств, представленных на фармацевтическом рынке, и 70% соединений, проходящих изучение, практически нерастворимы в воде [23, 24].

Разработано несколько технологий получения нанокристаллов методом «сверху-вниз» лекарственных субстанций – измельчение жемчужными мельницами, гомогенизация под высоким давлением, процесс осаждения и ряд других методов. Получаемые нанокристаллы пригодны как для перорального приема (нанокристаллы легко проникают через слизистую кишечника), так и для парентерального введения в виде суспензий. С использованием этих технологий разработаны лекарственные формы в виде нанокристаллов более 40 известных лекарственных препаратов, которые уже применяются для лечения разных заболеваний. ПП в форме нанокристаллов в клинике пока не применяются [4, 11, 25–28].

В качестве еще одного способа получения наноразмерных ПП предлагается получать конъюгаты «препарат–препарат». Считается, что такое «пролекарство» объединяет преимущества малых молекул и НЧ, образующихся в результате супрамолекулярной самосборки препаратов, и имеющих однородную сферическую форму, четко определенную структуру, высокую степень загрузки лекарств в НЧ и регулируемое высвобождение препаратов. На экспериментальных моделях показано преимущество подобных «пролекарств» в комбинированной терапии опухолей по сравнению с традиционным совместным применением препаратов [18, 29–31].

Разработан амфифильный конъюгат гидрофобного дазатиниба и гидрофильного производного цисплатина, соединенных эфирной связью. В водном растворе эти конъюгаты самособирались в стабильные НЧ диаметром 100 нм. После попадания в клетку в результате гидролиза эфирной связи конъюгаты распадались, высвобождая дазатиниб и цисплатину. Цитотоксичность этого конъюгата показана на клетках HepG2, а противоопухолевая активность на трансплантатах гепатомы H22 [31].

Аналогичные результаты зарегистрированы для конъюгатов «доксорубин—куркумин» [29, 32], «доксорубин—10-гидроксикамптотетин» [18], «доксорубин—дазатиниб» [30].

Предложено загружать НЧ лекарственной субстанции в термочувствительные гидрогели, в которых могут происходить золь-гелевые фазовые изменения при изменении температуры окружающей среды. При низкой температуре гидрогель представляет собой жидкий коллоид, который можно применять локально; при температуре, близкой к температуре человеческого тела, гидрогель становится полутвердым с определенной адгезией. Нагрузка гидрогеля ПП не требует сшивающих агентов, органических растворителей или химического синтеза и происходит путем смешивания гидрогелей с лекарственным средством. Предлагается использовать гидрогели с загруженными в них НЧ ПП для локального применения с целью профилактики рецидивов опухоли после хирургического удаления и лечения поверхностных неоперабельных опухолей. Предполагается, что такая лекарственная форма обеспечивает длительный контакт опухолевых клеток с ПП при непрерывном его высвобождении из гидрогеля [11].

Весьма успешным оказалось применение паклитаксела в виде оригинальной лекарственной формы, в которой нанокристаллы паклитаксела были загружены в гидрогель, построенный из трех термочувствительных гелей. Использованная композиция включала три геля — полксамер 407, полксамер 188 и карбомер 974Р — и имела строение трехмерной сетчатой структуры, образующейся в результате взаимодействия карбоксильной группы карбомера с эфирной связью полксамера. Установлена отчетливая зависимость цитотоксичности препарата от длительности экспозиции. Местное применение НЧ паклитаксела в гидрогеле полностью предотвратило развитие рецидива после нерадикального удаления РМЖ 4Т1 мышей, тогда как при применении стандартного паклитаксела в гидрогеле рецидив опухоли зарегистрирован в 90% случаев [11].

Особый интерес представляет получение в виде НЧ новых агентов, которые обладают антипролиферативной активностью по данным исследований *in vitro*, но не могут быть исследованы *in vivo* и бесперспективны для клинического изучения из-за очень низкой растворимости в воде. Примером может служить растительный продукт урсоловая кислота, нерастворимая в воде. Показано, что НЧ урсоловой кислоты, полученные путем самосборки, способны ингибировать рост опухолей *in vivo* [19].

Подводя итог имеющимся результатам по этому направлению создания наноразмерных ПП, следует констатировать, что, несмотря на значительный прогресс в разработке и исследовании таких препаратов, и их несомненную перспективность с точки зрения возможностей практического применения, до перехода к клиническим испытаниям предстоит еще длительный процесс исследовательской работы [9].

## НАНОЧАСТИЦЫ КАК НОСИТЕЛИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Данное направление исследований фактически связано с разработкой с помощью нанотехнологий новых типов лекарственных форм, принципиально отличающихся от традиционных, в которых низкомолекулярное действующее вещество вводится в организм в виде раствора, суспензии, порошка, экстракта и прочих форм.

Предполагается, что создание наноразмерных лекарственных форм ПП («инженерные» НЧ), играющих роль определенных «контейнеров» для адресной доставки действующих агентов, может улучшить терапевтические свойства ПП как в результате усиления эффективности за счет направленного (таргетного) транспорта препарата к опухолевой клетке-мишени, лучшего проникновения в клетку и создания в ней более высокой концентрации действующего агента, так и за счет снижения токсичности из-за повышения селективности действия лекарственного средства. Важное значение придается возможности введения в организм плохо растворимых препаратов.

Интенсивные исследования в данном направлении подтверждают реальность этих предположений. Ряд ПП в виде наноструктурированных лекарственных форм уже введены в клиническую практику. В то же время в настоящее время общепризнано, что пока ключевым преимуществом нанопрепаратов является уменьшение побочных явлений, а не повышение эффективности по сравнению с традиционными формами применения этих лекарств [33].

В качестве наноносителей лекарственных препаратов, используют специально синтезированные НЧ органической и неорганической природы (оксиды железа, углерода, фосфаты кальция и другие). В настоящем обзоре рассматриваются НЧ первого типа.

По некоторым оценкам взрыв исследований в области доставки лекарств, связанных с НЧ, опередил исследования генной терапии и терапии на основе эмбриональных стволовых клеток [34]. С 1960 года опубликовано более 59000 оригинальных исследовательских работ по разработке, изу-

чению и использованию наноструктурированных форм лекарственных препаратов [33].

Различают три стратегии нацеливания (таргетинга) НЧ к опухоли [23, 34–36].

*Пассивное таргетирование* подразумевает селективное накопление НЧ диаметром до 250 нм в опухоли в результате аномального строения эндотелия сосудов опухоли, характеризующегося большими порами, а также их длительное сохранение в опухоли (EPR-эффект, характерный для опухолей). В результате достигается длительная высокая интрацеллюлярная концентрация действующего вещества. Для эффективного пассивного таргетинга необходимо также длительное циркулирование НЧ в кровотоке [3].

*Активное таргетирование* реализуется в результате модификации НЧ функциональными векторными молекулами, специфически связывающимися с опухолевыми клетками.

*Триггерное высвобождение* подразумевает пространственно-временное контролируемое высвобождение в опухоли активной субстанции из наноносителя под действием различных эндогенных и экзогенных факторов [23, 34–36].

Состав «инженерных» НЧ может быть различным. Исходные материалы могут иметь биологическое происхождение или быть синтетическими. При создании НЧ биологической природы используются в основном фосфолипиды, липиды, молочная кислота, декстран, хитозан. При разработке синтетических НЧ применяются в первую очередь различные полимеры, имеющие большие возможности для варьирования химического состава НЧ.

Эффективность применения наночастиц (НЧ) во многом зависит от физических и химических свойств наночастиц, таких как размер и химические свойства поверхности НЧ. Известно, что НЧ, имеющие размер менее 5 нм, быстро выводятся почками, а НЧ размером более 200 нм быстро поглощаются макрофагами [1, 2, 33, 35–37].

Основные типы НЧ, для которых доказана эффективность использования в качестве наноразмерных носителей ПП, представлены в табл. 1.

Использование наночастиц способствует улучшению фармакокинетики лекарств, повышает селективность доставки действующего агента к опухоли, увеличивает концентрацию действующих агентов в месте опухоли и, тем самым, повышает терапевтическую эффективность.

Однако загрузка активных агентов в наночастицах доставки довольно низкая, так как носители обычно являются основной частью этой лекарственной формы с весом, намного превышающим вес субстанции (как правило, более 80%).

Носители лекарств, как правило, инертны, но их присутствие может увеличить системную токсичность лекарства, а продукты их деградации могут создать дополнительную нагрузку на организм [5, 17].

Главной причиной неэффективной доставки ПП с помощью наночастиц считается захват НЧ фагоцитарной системой, состоящей из моноцитов и макрофагов, которые избирательно захватывают любые НЧ и накапливают их в разных органах (печень, селезенка, легкие) в различных пропорциях в зависимости от размера НЧ, формы поверхности, заряда.

Для уменьшения этого эффекта часто используется пегелирование НЧ, то есть сопряжение с ними цепей полиэтиленгликоля. Были предприняты попытки преодолеть эти проблемы, стабилизируя частицы стерически, а не электростатически, покрывая наночастицы клеточными мембранами, извлеченными из эритроцитов или лейкоцитов, или белками, конъюгируя их с экзосомами и прочими биоматериалами [34, 36, 38].

С момента регистрации Агентством Министерства здравоохранения и социальных служб США в 1995 г. первого наноструктурированного ПП доксила (липосомальной пегелированной формы доксорубина) для практического применения было разрешено более 10 стандартных ПП в наноструктурированных лекарственных формах (табл. 2) [34, 39, 40].

Следует заметить, что клинический опыт показал, что наиболее широко применяемые нанопрепараты доксил и абраксан, представляющий собой конъюгат паклитаксела с альбумином (зарегистрирован в 2005 г.), не привели к значительному повышению эффективности лечения, хотя терапевтический индекс препаратов улучшился [34].

Надо признать, что использование наноструктурированных носителей (НСН) известных ПП хотя и может в определенной степени улучшить результаты лечения, но вряд ли способно привести к принципиально новому эффекту, поскольку действие ПП, доставленного в опухоль с помощью НСН, в конечном итоге по-прежнему обусловлено взаимодействием исходных активных молекул с соответствующими молекулярными мишенями, ведущему к гибели опухолевой клетки.

На клинических испытаниях находится около 40 различных наноструктурированных ПП, в которых в различные наночастицы инкорпорированы разные известные и вновь разрабатываемые ПП [39].

В качестве НСН ПП используют липосомы, солидные липидные частицы, конъюгаты «поли-

**Таблица 1.** Основные типы наночастиц противораковых препаратов [4]

Тип наноразмерного носителя	Описание	Особенности действия
Липосомы	Синтетические везикулы, образованные из липидных бислоев, которые делятся на две группы: одноламеллярные и многослойные, способные переносить одновременно как водорастворимые, так и липидорастворимые препараты	Пассивное нацеливание на клетку за счет EPR-эффекта. Высокоэффективная доставка различных препаратов : микромолекул (лекарственные субстанции) и макромолекул (белки, ферменты, гормоны, ДНК). Снижение токсичности препаратов
Полимерные наночастицы	Могут быть получены в виде наносфер или нанокапсул различными методами – нано-преципитация, двойное эмульгирование, полимерное покрытие, эмульгирование, диффузия	Могут вводиться парентерально путем инфузии, различных типов инъекций и перорально. Настраиваемые характеристики. Способность переносить многофункциональные агенты. Улучшенная термодинамическая стабильность. Глубокое проникновение в клетки и ткани
Мицеллы	Сферические амфифильные сополимерные наночастицы, образованные супрамолекулярной сборкой. Имеют структуру «ядро–оболочка» с гидрофобной внутренней частью, отделенной от водной наружной	Высокий уровень загрузки препаратов. Хорошая стабильность в кровотоке. Длительное время циркуляции. Низкое количество побочных эффектов
Дендримеры	Синтетические древовидные макромолекулы, имеющие 3D монодисперсную структуру с ответвлениями, протянутыми от центральной молекулы, имеющие предсказуемый размер по номеру генерации	Определенный, прогнозируемый молекулярный вес. Однородность по форме. Способность высокой загрузки препарата (свойство захвата «хозяин–гость»). Чрезвычайно низкая полидисперсность

мер–лекарственное средство», «белок–лекарственное средство», дендримеры, полимерные мицеллы (блок-сополимерные мицеллы); нанокристаллы, наносuspensions, наноэмульсии и другие материалы. Многие НСН могут инкапсулировать как одну лекарственную субстанцию, так и несколько агентов, и одновременно доставлять их в раковые клетки, что можно расценивать как новый подход к комбинированной терапии рака [17, 37].

Так, например, сообщается о разработке липосомального носителя, в который были включены паклитаксел и ресвератрол. Показано в опытах с ксенографтами РМЖ MCF-7, чувствительными и резистентными к доксорубину, что эффективность липосом с двумя препаратами была существенно выше эффективности липосом, включающих эти препараты по отдельности, как для чувствительных, так и для резистентных опухолей [41].

**Липосомы** – сферические липидные везикулы, состоящие из мембраны, построенной из фосфолипидного бислоя, и водного ядра – являются одним из наиболее распространенных типов НСН, используемых для доставки лекарственных средств.

Важной особенностью липосом является способность служить носителем как гидрофильных, так и гидрофобных препаратов – гидрофильные препараты могут быть инкапсулированы в ядро липосом, а гидрофобные – в липидную мембрану. Амфифильные препараты могут локализоваться как в водном ядре, так и в мембранах [37].

Для получения липосом наиболее часто используется тонкослойный метод гидратации (метод Бангама), основными этапами которого являются растворение липидов в органической фазе, удаление органического растворителя с образованием липидной пленки, которую диспергируют в водной среде, содержащей препарат. При энер-

гичном перемешивании образуются сферические структуры — липосомы, в ядре которых оказывается препарат [6].

Инкапсуляция ПП внутрь липосом увеличивает время циркуляции его в кровотоке после внутривенного введения и увеличивает селективность попадания в опухоль вследствие эффекта EPR. При этом следует отметить, что экстравазация липосом с препаратом является процессом, ограничивающим скорость попадания ПП в опухоль, в связи с чем для обеспечения достаточно высокой концентрации препарата в опухоли липосомы с препаратом должны длительно циркулировать в кровотоке. Однако за это время значительное число липосом элиминируется клетками ретикуло-эндотелиальной системы и поэтому лишь часть введенного препарата оказывается в опухоли. Например, при введении доксила в опухоль накапливается менее 10% введенной дозы [42].

На эффективность доставки липосомальных ПП влияют характеристики липосом (размер, пластинчатость, поверхностный заряд, текучесть мембраны и другие факторы), которые могут быть модифицированы варьированием состава липидной композиции и/или способа ее получения.

Модификация поверхностей липосом различными функциональными лигандами, например, полиэтиленгликолем, уменьшает взаимодействие между поверхностью липосом и компонентами крови, что обеспечивает более длительное пребывание липосом в кровотоке. Поверхностная модификация липосом специфическими лигандами усиливает активное таргетирование препарата. Поскольку в качестве основных компонентов липосомальной мембраны используются природные молекулы, такие как фосфолипиды и холестерин, липосомы обычно классифицируются как биосовместимые [33, 42].

Примером таргетной доставки липосом могут, например, быть липосомы, в ядро которых инкорпорированы доксорубин или паклитаксел, а поверхность модифицирована трастузумабом — моноклональным антителом к рецептору эпидермального фактора роста (HER2), гиперэкспрессия которого характерна для ряда опухолей. В предклинических исследованиях показано, что при HER2-положительном РМЖ эти НЧ более эффективны и менее токсичны по сравнению с применением этих ПП в стандартной лекарственной форме [2].

Как видно из данных, приведенных в табл. 2, практически все НСН ПП, разрешенные для

практического применения, представляют собой липосомы. Значительное число новых липосомальных ПП находятся на разных этапах доклинического и клинического изучения.

Ведутся исследования по разработке липосом со встроенными в липидный бислой веществами, которые выступают в роли молекулярных переключателей, реагирующих на внутриопухолевые (рН, температура, ферменты, ионы) или внешние (тепло, свет, ультразвук, магнитные поля и др.) стимулы. В результате этих воздействий происходит изменение конформации молекулярного переключателя, что приводит к разрыву липидного бислоя и высвобождению инкапсулированного вещества. Одним из преимуществ такой системы доставки считается возможность повысить селективность доставки лекарственного агента в опухоль и увеличить его внутриопухолевую концентрацию за счет высвобождения препарата уже в сосудистой сети опухоли, что ведет к быстрому и более значительному попаданию препарата в опухолевую клетку и увеличению глубины его проникновения в опухоль [4, 33, 42–44].

Большое внимание уделяется разработке термочувствительных липосом (ТЧЛ), свойства которых меняются при нагревании. При температуре фазового перехода структура липидного бислоя таких липосом из твердой гелевой фазы переходит в жидкокристаллическую и мембрана становится более проницаема для воды и гидрофильных препаратов [33].

В большинстве ТЧЛ в качестве основного компонента используется 1,2-пальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин, температура фазового перехода для которого составляет 41.4°C. Варьировать эту температуру можно, смешивая данный фосфолипид с другими фосфолипидами; состав смешиваемых фосфолипидов будет определять температуру фазового перехода мембраны липосомы. Помимо фосфолипидной композиции, высвобождение лекарственного средства из ТЧЛ в некоторой степени зависит от инкапсулированной молекулы лекарственного средства, размера липосомы, способа создания в опухоли гипертермии.

ТЧЛ могут быть получены включением в липидный бислой термочувствительных полимеров. Показана, в частности, высокая цитотоксичность паклитаксела, включенного в такие липосомы [45].

Преимуществом ТЧЛ перед обычными считается быстрое внутрисосудистое высвобождение ПП под действием гипертермии в отличие от интерстициального высвобождения из традицион-

**Таблица 2.** Наноструктурированные противоопухолевые препараты, разрешенные для практического применения [34, 39, 40]

Наименование лекарственной формы препарата	Препарат	Наноноситель активного препарата	Показания к применению
Doxil/Kelix	Доксорубицин	Пегелированные липосомы	РМЖ, рак, яичников, меланома
DaunoXome	Даунорубомицин	Липосомы	Саркома Капоши
Myocet	Доксорубицин	Липосомы	РМЖ
Lipusu	Паклитаксел	Липосомы	РМЖ, немелкоклеточный рак легкого
AbraXane	Паклитаксел	Конъюгат с альбумином	РМЖ, рак поджелудочной железы, немелкоклеточный рак легкого
Genexol-PM	Паклитаксел	Полимерные мицеллы	Немелкоклеточный рак легкого
MEPACT	Мифамуртид	Липосомы	Остеосаркома
Marqibo	Винкристин	Липосомы	Острый лимфобластный лейкоз
PICN	Паклитаксел	Полимер/липидные наночастицы	РМЖ
Onivyde (MM-398)	Иринотекан	Пегелированные липосомы	Рак поджелудочной железы
VYXEOS	Циторабин/даунорубицин	Липосомы	Острый миелобластный лейкоз
Paclical	Паклитаксел	Полимерные мицеллы	Рак яичников
DHP107	Паклитаксел	Липидные наночастицы	Рак желудка
Nanoxel	Паклитаксел	Полимерные мицеллы	РМЖ, рак яичников
Depocyt	Цитарабин	Липосомы	Острый нелимфоцитарный лейкоз, менингеальный лейкоз, лимфоматозный менингит
Lipoplatin	Цисплатин	Липосомы	Рак поджелудочной железы, аденокарцинома легких
CPX-351	Дауномицин/циторабин	Липосомы	Острый миелобластный лейкоз

ных липосом. В результате создаются высокие внутрисосудистые концентрации ПП, что ведет к усилению проникновения ПП в клетку, так как при этом удается избежать ограничений, обусловленных гетерогенностью сосудистой сети опухоли и, тем самым, ограничения в реализации эффекта EPR [33, 43].

Влияние инкапсуляции в ТЧЛ разных композиций исследовано для ряда ПП – доксорубицина, гемцитабина, паклитаксела, цисплатины, оксалиплатина, метотрексата, идарубицина [7, 33, 42, 46].

Например, внутривенное введение мышам с ксенографтами гипофарингиального рака человека линии FaDu ТЧЛ с доксорубицином после

предварительного локального нагревания опухоли до 40–42°C привело к увеличению содержания доксорубицина в опухоли в 30 раз по сравнению с применением свободного доксорубицина и в 3–5 раз по сравнению со стандартной липосомальной формой доксорубицина (доксилон). Это коррелировало со значительным увеличением эффекта. О роли нагревания свидетельствовали результаты экспериментов с фибросаркомой крыс, в которых показано, что эффективность введения ТЧЛ с доксорубицином после гипертермии в два раза превосходила эффективность при введении ТЧЛ до нагревания [43]. При сочетании гипертермии с введением ТЧЛ с гемцитабином эффект был достоверно больше, чем при применении липосомального гемцитабина без гипертермии [47].

ПП, включенные в ТЧЛ, быстро выделяются из них. Например, при нагревании высокосфокусированным ультразвуком при температуре  $\sim 42^\circ\text{C}$  ТЧЛ, с мембраной которых был связан SN-38, а в ядро инкапсулирован карбоплатин, цитостатики выделялись менее чем за 3 мин [40]).

Определенным ограничением для практического использования ТЧЛ является необходимость применения довольно высоких температур ( $\geq 40^\circ\text{C}$ ), что обусловило попытки разработать низкотемпературные термочувствительные липосомы (НТ-ТЧЛ), работающие при меньшем нагревании [33, 46].

В качестве одного из подходов к решению этой задачи можно привести пример разработки НТ-ТЧЛ путем включения в мембранный бислой ТЧЛ лизолипидов – фосфолипидов, у которых один из жирнокислотных остатков замещен атомом водорода, что меняет структуру мембран из-за образования лизофосфотидилхолинов. В результате усиливается высвобождение лекарственного средства при меньшем нагревании из-за образования лизолипид-стабилизированных мембранных пор. Например, высвобождение доксорубина из НТ-ТЧЛ при  $41.3^\circ\text{C}$  за 20 с составило 80%, а из обычных ТЧЛ за 30 мин нагревания при  $42^\circ\text{C}$  – только 40% [42, 46, 48].

Показано, что внутривенное введение доксорубина в составе НТ-ТЧЛ в сочетании с гипертермией привело к достижению более высоких концентраций доксорубина в опухоли, чем введение такой же дозы свободного доксорубина, также в сочетании с гипертермией [46].

Противоопухолевая эффективность системного введения цитостатика, инкапсулированного в НТ-ТЧЛ, в сочетании с гипертермией изучена в экспериментах *in vivo* на перевиваемых опухолях животных и ксенографтах опухолей человека. Применение такого рода комплексного воздействия вызывало более значительное торможение роста опухолей и частоту их полных регрессий, чем использование доксорубина в стандартной лекарственной форме [42, 46, 48, 49, 50].

Однако результаты клинических испытаний оказались разочаровывающими.

Эффективность терапии с применением НТ-ТЧЛ была оценена в семи клинических исследованиях, в которые было включено более 1000 больных. В двух наиболее крупных исследованиях (ОРТИМА – 550 пациентов и HEAT – 700 пациентов) изучалась эффективность сочетания «НТ-ТЧЛ – доксорубин» с радиочастотным нагреванием опухоли у больных с первичным и метастатическим раком печени. Установлено, что по основным критериям эффективности – время до прогрессирования

опухолевого процесса и общая выживаемость – группы больных, получавших комбинированное лечение или только радиочастотную абляцию опухоли, практически не различались [48].

**СOLIDНЫЕ ЛИПИДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ** предлагается использовать в качестве НСН для липофильных ПП. Сolidные липидные наночастицы представляют собой смесь наноструктурированных твердых и жидких липидов, которые позволяют увеличивать загрузку лекарственного средства и замедлять его высвобождение в ткани-мишени. В отличие от липосом липидные наночастицы имеют мицеллеобразную структуру с неводным ядром, куда инкорпорируется препарат.

Более высокая эффективность по сравнению со стандартными лекарственными формами показана для липидных наночастиц, нагруженных митоксантроном, доксорубицином или идарубицином на клетках лимфолейкоза мышей P388, в том числе резистентных к доксорубину [2, 51], для липидных наночастиц с включенными в них этопозидом и куркумином, на клетках рака желудка человека линии SGC7901 [52], для липидных наночастиц, содержащих этопозид и цисплатину – на клетках A549 [53].

**ПРИРОДНЫЕ ЭКЗОСОМЫ**, имеющие биполярную мембрану, сходную с плазматической мембраной, исследуются в качестве НСН ПП липидной природы.

Природные экзосомы обладают высокой биосовместимостью, способны избегать иммунные клетки и быстро метаболизироваться в опухолевых клетках, высвобождая включенный в них цитостатик.

На клетках остеосаркомы человека линии MG63 была показана более высокая цитотоксичность экзосом, нагруженных доксорубицином, по сравнению со свободным доксорубицином.

Однако сложности с получением экзосом, которые наиболее часто выделяют из мезенхимальных стволовых клеток, и их очисткой пока не позволяют провести широкое изучение этих липидных носителей [2, 38, 54].

**КОНЬЮГАТЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ СУБСТАНЦИИ С ПОЛИМЕРАМИ И БЕЛКАМИ** также исследуются в качестве НСН ПП. В этих системах обычно используются хорошо растворимые белки и полимеры, что ведет к улучшению растворимости липофильных лекарственных средств. Конъюгирование с макромолекулярными носителями изменяет скорость выведения препарата из организма, обеспечивает возможность его высвобождения в течение длительного времени [55].

Лекарственное средство может быть ковалентно связано с полимером (конъюгаты полимера с

лекарственным веществом), либо нековалентно (дендримеры, полимерные мицеллы, полимерные липосомы и др.).

Разработано и изучено большое число конъюгатов разнообразных полимеров с рядом цитостатиков (доксорубин, цисплатина, карбоплатин, оксалиплатин, камптотecin, иринотекан) [23, 55].

Наиболее широко изучены конъюгаты «полимер–цитостатик», основанные на полиэтиленгликоле, что обусловлено рядом уникальных свойств этого разрешенного для медицинского применения полимера (отсутствие иммуногенности, антигенности и токсичности, высокая растворимость в воде).

Для ряда конъюгатов полиэтиленгликоль с ПП (камптотecin, SN38, иринотекан) в предклинических исследованиях зарегистрированы существенные преимущества перед стандартными лекарственными формами ПП. Эти конъюгаты прошли вторую фазу клинических испытаний, однако в клиническую практику не вошли, вероятно из-за недостаточной эффективности при лечении пациентов с разными опухолями (РМЖ, рак желудка, яичников, шейки матки, колоректальный рак [23].

Большое внимание уделяется использованию в качестве полимерных носителей ПП разных сополимеров. Получены, например, конъюгаты N-(2-гидроксипропил) метакриламида с доксорубицином, паклитакселом, цисплатином; поли(1-глутаминовой кислоты) с паклитакселом, камптотечином и некоторыми другими цитостатиками [2, 23].

Особое внимание привлекает сополимер полимолочной и гликолевой кислот (PLGA), поскольку это вещество уже применяется в различных лекарственных средствах, в том числе для парентерального введения [56]. Для PLGA, представляющего собой синтетический полиэфир, характерны хорошая биосовместимость и биodeградация; в водной среде *in vivo* под действием эстеразы сополимер распадается на молочную и гликолевую кислоты, которые окончательно метаболизируются в цикле Кребса до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  [57, 58]. Получены и изучаются в предклинических и клинических исследованиях НЧ PLGA, несущие разные ПП (цисплатин, карбоплатин, доцетаксел, камптотecin). Применение этих ПП в составе НЧ PLGA привело к увеличению их цитотоксичности и противоопухолевой активности по сравнению со стандартными лекарственными формами [23, 58–62].

Эффективность включения цитостатика в PLGA зависит от строения препарата. При изучении цитотоксичности четырех производных кар-

боплатина (клетки A549, H69, MCF-7) обнаружена зависимость между химической структурой лиганда в этих производных и их цитотоксичностью. Для двух производных инкорпорация в PLGA привела к усилению цитотоксичности, а для двух других не повлияла на их эффективность [58].

С поверхностью PLGA легко можно конъюгировать различные лиганды, в том числе способствующие таргетной доставке НЧ из сополимера с включенным в них цитостатиком к опухолевой клетке. Например, к НЧ PLGA с инкорпорированным паклитакселом конъюгировали рекомбинантный третий домен альфа-фетопротейна в качестве вектора для таргетной доставки НЧ к опухолевым клеткам с гиперэкспрессией рецептора альфа-фетопротейна. На ксенографтах рака яичников человека линии SKOV-3 и на перевиваемом РМЖ 4T1 мышей зарегистрирована более высокая эффективность этих НЧ по сравнению с применением «чистого» паклитаксела и НЧ с паклитакселом без альфа-фетопротейна [63].

Более высокий цитостатический эффект НЧ PLGA, конъюгированных с фолатом и с инкорпорированными доцетакселом и куркумином, по сравнению с наночастицами PLGA с этими цитостатиками, но без фолата, зарегистрирован на клетках A549, а более значительный противоопухолевый эффект – на перевиваемой саркоме S180 мышей [64].

Инкорпорирование в ядро PLGA цисплатина и каталазы привело к усилению цитотоксичности за счет одновременного действия цитостатика и оксидативного стресса. После попадания НЧ в клетку в нее проникает  $\text{H}_2\text{O}_2$ , под действием каталазы образуется  $\text{O}_2$ , повышается давление в НЧ, она лопается, высвобождая цисплатин и  $\text{O}_2$ , который инициирует оксидативное повреждение клетки [65].

НЧ из сополимера поли(ε-капролактон)-поли(этиленгликоль), конъюгированные с трастузумабом и анти-миРНК-21, оказывали более значительное цитостатическое и противоопухолевое действие на клетки рака желудка с гиперэкспрессией HER2 линии NUGC4 по сравнению с действием «чистых» трастузумаба и анти-миРНК-21. На клетках SGC7901 без экспрессии HER2 подобного эффекта не регистрировали [66].

В качестве наноразмерных систем доставки лекарственных препаратов предложено использовать трехблочные сополимеры поли-оксидиэтилена и поли-оксидипропилена. Эти НЧ с включенным в них доксорубицином (препарат SP1049C) в рамках клинических испытаний применили у 21 больного раком пищевода и зарегистрировали у 9 пациентов (43%) частичную ре-

грессию опухоли со средней длительностью ремиссии 6.6 месяца [67].

**Мицеллярные наноразмерные лекарственные средства** являются одной из форм НСН на основе сополимеров, которые в основном состоят из блок-сополимеров с гидрофильными и гидрофобными блоками, обладающих способностью к самосборке в НЧ с гидрофобным ядром, окруженном гидрофильной оболочкой. Мицеллярная инкапсуляция помогает солиubilизировать, стабилизировать и доставить гидрофобный ПП к цели. При попадании в целевую ткань мицеллы способны распадаться на более низкомолекулярные структуры, что позволяет удалять составляющие мицеллу поверхностно-активные вещества из организма.

Получены и исследованы мицеллы с включенными доксорубицином, паклитакселом, цисплатином.

Интрацеллюлярное распределение доксорубицина в составе мицелл различалось в чувствительных и резистентных клетках – в чувствительных клетках доксорубицин обнаруживался преимущественно в ядре, в резистентных – в митохондриях. Для некоторых из этих препаратов начаты клинические испытания [4, 23, 55].

Сообщается о результатах второй фазы клинического изучения препарата Genexol-PM, представляющего собой паклитаксел, включенный в мицеллы. Применение такой мицеллярной формы препарата позволило избежать премедикации, обязательной при лечении паклитакселом. Полные ремиссии зарегистрированы у пяти, частичные у 19 из 41 больной распространенным РМЖ, получивших в среднем восемь циклов лечения этим препаратом [68].

**Конъюгаты «цитостатик–белок»** являются еще одной формой НСН для ПП.

Наиболее изученным ПП с такой структурой является абраксан, представляющий собой нанодисперсный паклитаксел, стабилизированный альбумином, с размером НЧ 130 нм, в составе которых паклитаксел находится в некристаллическом (аморфном) состоянии. После внутривенного введения НЧ быстро диссоциируют с образованием растворимых комплексов паклитаксела, связанного с альбумином. Показано, что присутствие альбумина стимулирует транспорт паклитаксела через слой клеток эндотелия, поскольку альбумин регулирует процессы трансэндотелиального переноса компонентов плазмы [36].

Сообщается о разработке нанокристаллического паклитаксела, покрытого альбумином сыворотки крови человека. Полученные НЧ имели форму стержня и содержали  $88.7 \pm 2.5\%$  пакли-

таксела. При сравнении с абраксаном выявлены меньшее поглощение макрофагами, более длительный период диссоциации НЧ в сыворотке, что предполагает более длительную циркуляцию НЧ в кровотоке. Зарегистрирована сопоставимая цитотоксичность обеих наноформ препарата *in vitro* на клетках меланомы мышей B16F10 и более высокая противоопухолевая активность нанокристаллического паклитаксела по сравнению с абраксаном на трансплантированной меланоме B16F10 мышей *in vivo* [69].

Усиления таргетной доставки НЧ с ПП можно добиться путем образования конъюгата НЧ, содержащих цитостатик, с моноклональным антителом, специфичным к рецепторам на поверхности опухолевых клеток. Получено несколько разных НЧ, в состав которых инкорпорированы доксорубицин или паклитаксел, а поверхность модифицирована трастузумабом – моноклональным антителом к рецептору HER2. Показано, что при РМЖ с гиперэкспрессией HER2 эти конъюгаты более эффективны и менее токсичны, чем ПП в стандартной лекарственной форме [2].

**Дендримеры** также относящиеся к полимерным НСН лекарственных препаратов, представляют собой трехмерные глобулярные полимерные макромолекулы с определенной, сильно разветвленной, структурой, обладающие центральным ядром, из которого берут начало многочисленные ветви с обширным разветвлением. На концевых участках разветвлений могут располагаться амино- ( $-\text{NH}_2$ ), гидроксильные ( $-\text{OH}$ ), карбоксильные ( $-\text{COOH}$ ) группы. К концевым участкам разветвлений могут быть ковалентно или нековалентно присоединены биологически активные молекулы, лекарственные соединения, контрастные вещества и прочие субстанции [70, 71].

Синтез дендримеров основан на повторяющейся последовательности нескольких реакций. Каждое дублирование приводит к синтезу все более высокой генерации дендритной структуры и удвоению количества активных групп на поверхности молекулы. В результате обеспечивается однородное и равномерное разветвление молекул, образование специфических групп на поверхности, низкий индекс поли дисперсности и уникальный размер молекул [70, 71].

Структурная универсальность и легко контролируемые характеристики дендримеров (контролируемый и регулируемый размер, форма, длина ветвей, функциональность поверхности, синтез целевых дендритных каркасов, взаимодействие с клеточными мембранами и молекулами разных лекарств, наличие внутренних полостей) делают дендримеры идеальными носителями ПП. Денд-

примеры обладают рядом преимуществ перед другими наносителями — высокая загрузочная способность из-за наличия многочисленных функциональных групп и внутренних полостей, повышение биодоступности ПП, способность проникать через биологические барьеры и мембраны [70, 72].

Существует два основных подхода к синтезу дендримеров, использующих соответственно дивергентные и конвергентные методы.

В дивергентном варианте к исходному центру ветвления (имеет несколько концевых групп) присоединяется базовый реагент (который также имеет несколько концевых групп) и образуется дендример первой генерации. Дендримеры следующих генераций получают путем присоединения либо исходного ветвящегося центра, либо базового реагента.

В конвергентном методе сначала синтезируются и затем соединяются плечи дендримера. С возрастанием числа генераций плотность упаковки молекул в поверхностной области дендримера увеличивается, что тормозит их дальнейший рост. В результате молекулы дендримеров могут синтезироваться только до десятого поколения [2, 6, 71, 79].

Создано более 100 семейств дендримеров различных типов — фосфорные (P-дендримеры), полиамидаминные (РАМАМ), полиаминные, полиамидные, полипептидные, полиэфирные (PGLSA-OH), карбосиликатные, дендримеры поли-L-лизина и другие [70, 72].

Наиболее широко используемыми дендримерами в настоящее время являются коммерчески доступные РАМАМ-дендримеры, характерной особенностью которых является структура, состоящая из ядра в виде аммиака или этилендиамина и присоединенных молекул метилакрилата и этилендиамина. Благодаря специфическому, характерному строению с областями свободных пространств (полостей) эти дендримеры можно использовать в качестве носителей для ПП, при этом они могут быть размещены либо на поверхности дендримера в результате ковалентной связи с группами на концевых участках разветвлений, либо внутри его в результате инкапсуляции в полостях дендримера [70, 73].

Размер дендримеров зависит от их генерации и плотности упаковки молекул на поверхности — диаметр РАМАМ-дендримеров первой генерации (G1) составляет 1.1 нм, последующих генераций: G2 — 2.0 нм, G3 — 3.1 нм, G4 — 4.0 нм, G5 — 5.3 нм, G6 — 6.7 нм, G7 — 8.0 нм, G10 — 12.4 нм [71, 73].

Описаны и изучены конъюгаты разных дендримеров с различными ПП (доксорубицином, па-

клитакселом, трастузумабом, метотрексатом, цисплатиной, 5-фторурацилом, темозолоамидом, цетуксимабом, мелфаланом, иматинибом, сунитинибом) [70–72, 74].

Эффективность ПП, загруженных в дендримеры, зависит от генерации этих дендримеров. При инкубации клеток MCF-7 с полипропилениминовыми дендримерами, модифицированными фолиевой кислотой и загруженными мелфаланом, коэффициент цитотоксичности  $IC_{50}$  для дендримеров G3 составил  $8.00 \pm 0.15$  мкм, для дендримеров G4 —  $0.90 \pm 0.02$  мкм, для дендримеров G5 —  $0.20 \pm 0.01$  мкм, для свободного мелфалана —  $10.00 \pm 0.17$  мкм. Медиана жизни мышей с ксенотрансплантатами MCF-7, получавших эти дендримеры разных генераций, составила 23, 59, 62 и 25 суток соответственно [75].

Большое внимание уделяется разработке дендримеров, содержащих помимо ПП молекулы, обеспечивающие таргетную доставку этих дендримеров.

РАМАМ-дендримеры G4, к которым присоединен паклитаксел с помощью пептидного линкера, *in vivo* расщепляющегося ферментом катепсином В, более эффективно ингибировали рост ксенотрансплантатов РМЖ линии MDA-MB-231 по сравнению с «чистым» паклитакселом [74].

РАМАМ-дендримеры с загруженным доксорубицином конъюгировали с трастузумабом и после четырехчасового культивирования в клетках HER2 положительного РМЖ MDA-MB-453 зарегистрировали 70%-е увеличение поглощение дендримеров по сравнению с вариантом без трастузумаба. В клетках HER2 отрицательного РМЖ линии MDA-MB-231 подобной разницы не наблюдали. Цитотоксичность дендримеров с доксорубицином и трастузумабом в отношении клеток MDA-MB-453 более чем в три раза превышала цитотоксичность варианта с доксорубицином без трастузумаба, тогда как на клетках MDA-MB-231 цитотоксичность этих дендримеров оказалась одинаковой [74]. Аналогичные результаты получены при изучении РАМАМ-дендримеров, конъюгированных с трастузумабом и загруженных доцетакселом или цисплатином [76, 77].

Инкубация клеток рака назофарингиального рака человека линии KB, экспрессирующих рецепторы фолиевой кислоты, с РАМАМ-дендримерами G5, модифицированными фолиевой кислотой и конъюгированными с доксорубицином с помощью pH-чувствительного линкера, привела к гибели 87.6% клеток. Гибель KB-клеток без гиперэкспрессии рецепторов составила 78.1%. При исследовании кинетики высвобождения доксорубицина из этих дендримеров установлено, что после их 48-часовой инкубации в среде с pH 5.0

обнаружено 95.6% свободного доксорубина, в среде с pH 7.4% – 20% [78].

Попадание PAMAM-дендримеров G4, модифицированных биотином и конъюгированных с паклитакселом, в клетки рака яичников человека линии OVCAR-3 было достоверно больше по сравнению с нормальными клетками почек эмбриона человека (HEK293T). Цитотоксичность и противоопухолевая эффективность в отношении клеток OVCAR-3 (с гиперэкспрессией мезотелина) полипропилениминовых дендримеров G4,5, загруженных паклитакселом и модифицированных моноклональным антителом к мезотелину (mAbK1), была достоверно выше цитотоксичности этих дендримеров с паклитакселом, но без mAbK1, и свободного паклитаксела [79].

При инкубации клеток MCF-7 в безглюкозной среде с PAMAM-дендримерами, модифицированными глюкозой и конъюгированными с доксорубином, гибель клеток была значительно больше по сравнению с действием дендримеров без глюкозы и липосомного доксорубина. Авторы считают, что использование дендримеров, конъюгированных с глюкозой, может способствовать селективной доставке цитостатиков в опухолевые клетки, для которых характерен, в соответствии с эффектом Варбурга, дефицит глюкозы [80].

Сообщается о создании наноструктуры, в которой с поверхностью PAMAM-дендримеров G4 конъюгированы одновременно два пептида в качестве векторных молекул для селективной доставки дендримеров в опухолевые клетки: пептид, связывающийся с V-селектином, продуцируемым эндотелиальными клетками, гиперэкспрессия которого характерна для опухолевой ткани, и пептид, связывающийся с рецептором  $\alpha$ -фетопротеина. В экспериментах с клетками рака яичников SCOV-3 показана высокая степень интернализации этого дендримера, в опытах *in vivo* установлена селективность накопления дендримеров в опухоли [81].

Способность дендримеров к восприятию загрузки одновременно несколькими цитостатиками указывает на потенциальную возможность использования такого рода наноструктур в комбинированной терапии опухолей.

В PAMAM-дендримеры G4, модифицированные гиалуроновой кислотой, с помощью ковалентной конъюгации ввели цисплатин и доксорубин в состав адресной системы доставки и показали более высокую противоопухолевую активность дендримеров при раке РМЖ MDA-MB-231 по сравнению с комбинированным применением этих препаратов в стандартной лекарственной форме [82].

Высокая противоопухолевая эффективность комплекса доксорубина с полипропилениминовыми дендримерами G6, обладающего антиангиогенной активностью, обнаружена в опытах со сфероидами рака предстательной железы DU145 *in vitro*, а также с ксенографтами рака легкого Calu-6 и трансплантатами меланомы B16F10 *in vivo* [83].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В истории лекарственного лечения злокачественных опухолей можно выделить несколько этапов. Каждый следующий этап начинается с появления новых подходов к лечению и новых классов ПП, что поднимает эффективность лечения на принципиально новую, более высокую, ступень. Так происходило при появлении вначале алкилирующих препаратов и антимаболитов, затем производных нитрозомочевины и антрациклинов, далее препаратов цисплатины и таксанов, при возникновении современного этапа таргетной терапии и иммунотерапии.

Возможно, появление наноструктурированных препаратов свидетельствует о появлении нового этапа в истории развития лекарственного лечения опухолевых заболеваний.

Можно полагать, что использование нанотехнологий позволит получать лекарственные препараты, взаимодействующие с иными мишенями и имеющие иные механизмы действия, что может привести к появлению принципиально новых ПП. Важно отметить, что применение ПП в форме НЧ может привести к появлению лекарств, эффективных при опухолях, рефрактерных или малочувствительных к традиционным средствам, что является одной из главных задач современной противоопухолевой терапии.

Очевидно, что уже накопленный опыт клинического применения десятка наноструктурированных ПП указывает на реальность этих предположений.

В то же время результаты огромного числа исследований в этой области указывают на значительные технологические и биологические трудности, которые могут возникнуть при разработке наноструктурированных препаратов, имея в виду не только их получение (синтез) и масштабирование производства, но и стабильность и длительность сохранности, а также оценку терапевтической ценности с точки зрения соотношения эффективности и токсичности, в том числе обусловленной специфическими особенностями наноматериалов, и стоимости лечения такими препаратами.

Дальнейшее развитие нанотехнологий, как можно полагать, будет способствовать преодолению этих трудностей и наноструктурированные ПП войдут в арсенал лекарственных средств, применяемых в практической медицине для лечения больных опухолевыми заболеваниями.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. H. DeYong and P. J. Borm, *Int. J. Nanomedicine*, **3**, 133 (2008). DOI: 10.2147/ijn. S596
2. S. Cavas, S. Quazi, and T. M. Karpinski, **16**, 173 (2021). DOI: 10.1186/s11671-021-03628-6
3. J. Fang, H. Makamura, and H. Maeda, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **63**, 136 (2011). DOI: 10.1016/j.addr.2010.04.009
4. F. Farjadian, A. Ghasemi, O. Gohari, et al., *Nanomedicine (Lond.)*, **14**, 93 (2019). DOI: 10.2217/nnm-2018-0120
5. S. Fu, G. Li, W. Zang, et al., *Acta Pharmaceut. Sinica B*, **12**, 92 (2022). DOI 10.1016/j.apab.2021.08.012
6. V. V. Veselov, A. E. Nosyrev, L. Jicsnszky, et al., *Cancers (Basel)*, **14**, 622 (2022). DOI: 10.3390/cancers14030622
7. F. Farjadian, S. Ghasemi, M. Akbarian, et al., *Front. Chem.*, **10**, 952675 (2022). DOI: 10.3389/fchem.2022.952675
8. M. Y. Yang, R. R. Zhao, Y. F. Fang, et al., *Int. J. Pharm.*, **570**, 118663 (2019). DOI: 10.106/jij-pharm.2019.118663
9. H. Mei, S. Cai, D. Huang, et al., *Bioact. Mater.*, **8**, 220 (2022). DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.06.035
10. S. Jiang, Y. Fu, X. Zhag, et al., *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **9**, 799806 (2021). DOI: 10.3389/fbioe.2021.799806
11. R. Fan, W. Sun, T. Zhang, et al., *Biomed. Pharmacother.*, **150**, 113017 (2022). DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113017
12. J. Zhang, S. Li, F. F. An, et al., *Nanoscale*, **7**, 13503 (2015). DOI: 10.1039/c5nr03259h
13. R. Zhang, Z. Zhu, H. Ly, et al., *Small*, **49**, e1903881 (2019), DOI: 10.1002/smll.201903881
14. N. Yu, J. Li, Y. Zhang, et al., *RSC Adv.* **10**, 12999 (2020). DOI: 10.1039/d0ra01117g
15. J. Zhang, W. Nie, R. Chen, et al., *ACS Nano Lett.*, **19**, 658 (2019). DOI: 10.1021/acs.nanolett.8603043
16. S. Barua and S. Mitragtris, *ACS Nano*, **7**, 9558 (2013). DOI: 10.1021/nn403913k
17. M. Zhou, X. Zhang, Y. Yang, et al., *Biomaterials*, **34**, 8960 (2013). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.07.080
18. Y. Zhao, F. Chen, Y. Pan, et al., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **7**, 19295 (2015). DOI: 10.1021/acsmi.5b05347
19. L. Fan, B. Zhang, A. Xu, et al., *Mol. Pharm.*, **15**, 2466 (2018). DOI: 10.1021.acs.molpharmaceut.8b00444
20. Z. Zhang, L. Xhi, C. Wu, et al., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **9**, 29505 (2017). DOI: 10.1021/acsmi.760756s
21. Y. Zheng, Y. Zhao, Y. Jia, et al., *Biomaterials*, **271**, 120716 (2021). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.120716
22. J.S. Lan, Y.H. Qin, L. Liu, et al., *Int. J. Nanomed.*, **16**, 1775 (2021). DOI: 10.2147/IJM.S287806
23. S. Parveen, F. Arjmand, and S. Tabassum, *RSC Adv.*, **9**, 24699 (2019). DOI: 10.1039/c9ra04358f
24. M. Bai, M. Yang, J. Gong, et al., *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **23**, 41 (2021). DOI: 10.1208/s12249-021-02200-w
25. E. Merisko-Liversidge, G. Liversidge, and E. R. Cooper, *Eur. J. Pharmaceut. Sci.*, **18**, 113 (2003). DOI: 10.1016/S0928-0987(0)00257-8
26. J. U. Junghanns and R. N. Muller, *Int. J. Nanomedicine*, **3**, 295 (2008). DOI: 10.2147/ijn. s595
27. R. N. Muller, S. Gohia, and C. M. Keck, *Eur. J. Pharmaceut. Biopharmaceut.*, **78**, 1 (2011). DOI: 10.1016/j.ejpb.2011.01.07
28. V. P. Pardhi, T. Verma, S. A. Flora, et al., *Curr. Pharmaceut. Design*, **24**, 5129 (2018). DOI: 10.2174/1381612825666190215121148
29. Y. Zhang, C. Yang, W. Wang, et al., *Sci. Rep.*, **6**, 21225 (2016). DOI: 10.1038/srep.21225
30. J. Gao, Z. Qiao, S. Liu, et al., *Eur. J. Pharmaceut. Biopharmaceut.*, **163**, 188 (2021). DOI: 10.1016/j.ejpb.2021.04.008
31. L. Yang, J. Xu, Z. Xie, et al., *Asian J. Pharm. Sci.*, **16**, 762 (2021). DOI: 10.1016/j.ajps.2021.08.001
32. Y. Hong, S. Che, B. Hui, et al., *Biomed. Pharmacother.* **118**, 108614 (2019). DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108614
33. M. Amin, A. L. Seynhaeve, M. Sharif, et al., *Pharmaceutics*, **14**, 2165 (2022). DOI: 10.3390/pharmaceutics14102165
34. B. Zhao, S. Chen, Y. Hong, et al., *Pharmaceutics*, **14**, 1522 (2022). doi: DOI: 10.3390/pharmaceutics14071522
35. A. G. Attanja, V. Pathak, T. Lammers, et al., *Pharmacol. Res.* **115**, 87 (2017). DOI: 10.1016/j.phrs.2016.11.014

36. M. Ramachandran, Z. Ma, K. Lin, et al., *Nanoscale Adv.*, **4**, 4470 (2022). DOI: 10.1039/d2na004885b
37. B. Li, H. Shao, L. Gao, et al., *Drug Deliv.*, **29**, 213 (2022). DOI: 10.1080/10717544.2022.2094498
38. R. Tenchov, J. M. Sasso, X. Weng, et al., *ACS Nano*, **16**, 17802 (2022)
39. A. C. Anselmo and S. Mitragotri, *Bioeng. Translation Med.*, **1**, 10 (2016), DOI: 10.1002/btm2.10003
40. R. Cressey, V. Amrahli, and P. W. So, *Biomaterials*, **271**, 120758 (2021). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.120758
41. J. Meng, F. Guo, H. Xu, et al., *Sci. Rep.*, **6**, 22390 (2016). DOI: 10.1038/srep22390
42. B. Kneidl, M. Peller, G. Winter, et al., *Int. J. Nanomedicine*, **9**, 4387 (2014). DOI: 10.2147/IJN.S49297
43. A. A. Manzoor, L. H. Lindner, C. D. Landon, et al., *Cancer Res.*, **72**, 5566 (2012). DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1683
44. S. H. Pham, Y. Choi, and J. Choi, *Pharmaceutics*, **12**, 630 (2020). DOI: 10.3390/pharmaceutics12070630
45. L. Xi, C. Li, Y. Wang, et al., *J. Pharm. Sci.*, **109**, 2544 (2020). DOI: 10.1016/j.xphs.2020.05.006
46. C. D. Landon, J. Y. Park, D. Needham, and M. W. Dewhirst, *Open Nanomed. J.*, **3**, 38 (2011). DOI: 10.2174/18759335011030100038
47. S. Limmer, J. Hahn, R. Schmidt, et al., *Pharm. Res.*, **31**, 2276 (2014). DOI: 10.1007/s11095-014-1322-6
48. N. Boris and M. W. Dewhirst, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **178**, 113985 (2021). DOI: 10.1016/j.addr.2021.113985
49. P. S. Yarmolenko, Y. Zhao, C. Landon, et al., *Int. J. Heperthemia*, **26**, 485 (2010). DOI: 10.3109/12656731003789284
50. S. Wang, X. G. Mei, S. N. Goldberg, et al., *Radiology*, **279**, 762 (2016). DOI: 10.1148/radiol.2015150787
51. K. Chandana, N. Gupta, and S. Kanna, *Asian J. Pharmaceut. Clin. Res.*, **12**, 8, 2019. DOI: 10.2215/ajpcr.2019/v12i7.33595
52. H. Jiang, D. Geng, H. Liu, et al., *Drug Delivery*, **23**, 3665 (2016). DOI: 10.1080/10717544.2016.1217954
53. M. Du and J. Jin, *Drug Des. Devel. Ther.*, **16**, 4139 (2022). DOI: 10.2147/DDDT.S386100
54. H. Wei, J. Chen, S. Wang, et al., *Int. J. Nanomed.*, **14**, 8603 (2019). DOI: 10.2147/IJN.S218988
55. X. Xiao, F. Terng, C. Shi, et al., *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **10**, 1024143 (2022). DOI: 10.3389/fbio.2022.1024143
56. Y. Wang, B. Qin, G. Xia, and S. Choi, *AAPS J.*, **23**, 92 (2021). DOI: 10.1208/S12248-021-00611-y
57. M. R. Mollaeva, E. D. Nikolskaya, V. Beganovskaya, et al., *Antioxidants*, **10**, 1985 (2021). DOI: 10.3390/antiox10121985
58. M. V. Sokol, M. V. Chirkina, N. G. Yabbarov, et al., *Pharmaceutics*, **14**, 2333 (2022). DOI: 10.3390/pharmaceutic.s14112333
59. Е. Д. Никольская, О. А. Жунина, Н. Г. Яббаров и др., *Биоорг. химия*, **43**, 274 (2017).
60. Е. Д. Никольская, О. А. Жунина, Е. А. Василенко и др., *Биоорг. химия*, **43**, 532 (2017).
61. Е. Д. Никольская, О. А. Жунина, Н. Г. Яббаров и др., *Изв. РАН, сер. хим.*, № 10, 1867 (2017).
62. M. V. Sokol, E. Nikolskaya, N. G. Yabbarov, et al., *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.*, **107**, 1150 (2018). DOI: 10.1002/jbm.b.34208
63. M. V. Sokol, N. G. Yabbarov, M. R. Mollaeva, et al., *Nanomed. (Lond.)*, **17**, 1217 (2022). DOI: 10.2217/nmm-2022-0097
64. L. Hu, S. Pang, Q. Hu, et al., *Biomed. Pharmacother.*, **75**, 26 (2015). DOI: 10.1016/j.biopha.2015.08.036
65. H. Chen, W. He, and Z. Guo, *Chem. Commun. (Camb)*, **50**, 9714 (2014). DOI: 10.1030/c4co03385
66. F. L. Wu, J. Zhang, W. Li, et al., *Oncotarget*, **8**, 67189 (2017). DOI: 10.18632/oncotarget.18066
67. J. W. Valle, S. T. Armstrong, C. Newman, et al., *Invest. New Drugs*, **29**, 1029 (2011). DOI: 10.1007/S10637-919-9399-1
68. K. S. Lee, Y. C. Chung, S. A. Im, et al., *Breast Cancer Res. Threat.*, **108**, 241 (2008). DOI: 10.1007/S10549-007-9591-y
69. J. Park, B. Sun, and Y. Yeo, *J. Control Release*, **263**, 90 (2017). DOI: 10.1016/J.Jconrel.2016.12.040
70. A. P. Dias, S. da Silva Santos, J. V. da Silva, et al., *Int. J. Pharmaceut.*, **673**, 118814 (2020). DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.118814
71. Z. Baber, D. Bartusir-Aebisher, and D. Aerbisher, *Molecules*, **27**, 3237 (2022). DOI: 10.3390/molecules27103237
72. A. A. Chis, C. Dobrea, O. Morgovan, et al., *Molecules*, **25**, 3982 (2020). DOI: 10.3390/molecules25173982
73. Н. Г. Яббаров, Е. Д. Никольская, О. А. Жунина и др., *Биоорганическая химия*, **43**, 180 (2017). DOI: 10.7868/S013234231702021X
74. M. W. Amjad, *Pharmacy, Pharmacology*, **9**, 4 (2021). DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-1-4-16
75. P. Kesharwan, R. K. Tekade, and N. K. Jain, *Pharm. Res.*, **32**, 1438 (2015). DOI: 10.1007/s11095-014-1549-2
76. A. Kesevan, P. Ilaiyaraja, W. S. Beaula, et al., *Eur. J. Pharmaceut., Biopharmaceut.*, **96**, 255 (2015). DOI: 10.1016/j.ejpb.2015.08.001
77. H. Kulhari, D. Pooja, and S. Shrivastava, *Sci. Rep.*, **6**, 23179 (2016). DOI: 10.1038/srep23179
78. M. Zhang, J. Zhu, Y. Zheng, et al., *Pharmaceutics*, **10**, 162 (2018). DOI: 10.3390/pharmaceutics10030162

79. N. K. Jain, M. S. Tare, V. Mishra, et al., *Nanomed: Nanotechnology, Biology, Medicine*, **11**, 207 (2015). DOI: 10.1016/j.nano.2014.09.006
80. K. Sztandera, P. Dzialak, M. Marcinko-Wska, et al., *Pharm. Res.*, **36**, 140 (2019). DOI: 10.1007/s11095-019-2673-9
81. N. Yabbarov, E. Nikolskaya, M. Sokol, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 3119 (2022). DOI: 10.33390/ijms23063119
82. X. L. Guo, X. X. Kang, Y. Q. Wang, et al., *Acta Biomater.* **84**, 367 (2019). DOI: 10.1016/J.actbio.2018.12.007
83. K. T. Al-Jamal, W. T. Al-Jamal, J. T. Wang, et al., *ACS Nano*, **7**, 1905 (2013). DOI: 10.1021/nn305860k

## Nanotechnologies for Drug Therapy of Malignant Tumors

**D.B. Korman\***, **L.A. Ostrovskaya\***, **N.V. Bluhterova\***, **V.A. Rikova\***, and **M.M. Fomina\***

*\*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia*

The review brings together experimental data from studies aimed to uncover the opportunities for application of nanotechnology in drug therapy of malignant tumors.

*Keywords: nanoparticles, liposomes, polymers, micelles, dendrimers, cytotoxicity, antitumor activity, cell cultures of tumors, transplantable tumors*