

А.Ю. Барышников

ФГБУ «Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов

*За сравнительно короткий срок липосомы превратились из простой модели, имитирующей клеточные мембраны, в объект активных научных исследований и практического применения. Универсальные свойства липосомальной лекарственной формы объясняют широкие возможности ее применения, особенно в химиотерапии рака. В обзоре рассматриваются преимущества использования липосом в качестве носителей лекарственных препаратов для селективного накопления действующих веществ в патологических очагах. Приводится описание основных типов липосом, отличающихся составом и применением *in vivo*: простые, стерически стабилизированные, направленные (иммунолипосомы), катионные, липосомы, чувствительные к физическим и химическим стимулам. Представлена характеристика липосомальных систем доставки противоопухолевых препаратов, разработанных в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.*

Ключевые слова: липосомы, микроциркуляция в опухоли, лиганды для направленного транспорта, гипертермия, противоопухолевые препараты.

Введение

В последние годы быстрыми темпами развиваются наномедицина и нанофармация, которые привлекают всеобщее внимание не только чисто научными достижениями, но и социальной значимостью. Наномедицина и нанофармация тесно связаны с революционными достижениями геномики и протеомики, которые позволили ученым приблизиться к пониманию молекулярных основ болезней. Наномедицина и нанофармация появляются там, где данные геномики и протеомики сочетаются с возможностями, позволяющими создать материалы с новыми свойствами на нанометрическом уровне. Выделяют 5 основных областей применения нанотехнологий в медицине и фармации: доставку лекарственных веществ, новые методы и средства лечения на нанометровом уровне, диагностику *in vivo*, диагностику *in vitro*, медицинские имплантаты.

Более 50% фармацевтических компаний-производителей, которые активно работают в области нано-

медицины, используют нанотехнологии для разработки систем доставки лекарственных веществ к органам и тканям. Эти препараты дают сегодня 80% оборота в мировой наномедицине. Одна из ведущих областей применения таких систем — онкология. Повышение избирательности действия лекарственных веществ является основной задачей химиотерапии опухолей [1].

Важен поиск новых подходов к созданию препаратов направленного действия. Максимальной эффективности действия лекарственных соединений препятствует неспецифичность их распределения в организме после приема. Это происходит из-за того, что лекарства распределяются по физико-химическим свойствам, часто ограничивающим проникновение через физиологические барьеры. Определенная структура ряда веществ также может способствовать ускорению степени деградации. По мере развития нанотехнологий появилась идея о возможности контроля распределения и высвобождения на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях. Один из перспективных спо-

A.Y. Baryshnikov

FSBI Blokhin Russian oncological scientific centre RAMS, Moscow

Nanostructured liposomal systems as transport agents for anticancer drugs

Liposomes quite recently have turned from a model of biological membranes into an object of extensive research and practical use. The versatile traits of liposomal formulation allow its' universal implementation, especially in cancer chemotherapy. The advantages of liposomal use as a carrier of an anticancer drug for its targeted selective accumulation are discussed in this article. This article contains description of new types of liposomes, differing in contents and use, such as: simple, sterically stabilized, targeted (immunoliposomes), cationic, sensitive to physical and chemical stimuli. The characteristics of liposomal systems of anticancer drug delivery designed at Blokhin Russian Oncological Scientific Centre is given in the article.

Key words: liposomes, tumoral microcirculation, ligands for targeted transport, hyperthermia, anticancer drugs.

собов повышения эффективности лекарственных соединений — создание систем доставки на основе наночастиц [2].

Липосомы — универсальные средства доставки лекарственных средств

Наночастицы, используемые для доставки лекарств к органам и тканям, отличаются по размерам, форме и составным материалам. Свойства каждой наночастицы определяются степенью загрузки препаратом, стабильностью, скоростью высвобождения препарата и наличием лиганда для направленного транспорта [3]. В основном наномедицина и нанофармация изучают частицы диаметром 1–100 нм, но размер отдельных частиц для доставки лекарственных веществ и диагностических агентов может колебаться от 2 до 1000 нм. Установлено, что частицы диаметром более 200 нм могут активировать систему комплемента в организме человека и удаляться из кровотока купферовскими клетками. Кроме того, во время фильтрации в селезенке захватываются частицы, превышающие размер 200–250 нм, а во время печеночной фильтрации задерживаются частицы более 150 нм в диаметре. Опухолевые капилляры редко превышают 300 нм в диаметре. В связи с этим в настоящее время исследования в области нанофармации сосредоточены на частицах размером менее 200 нм [4].

Липосомы — полые частицы, содержимое которых ограничено липидной мембраной. Они относятся к обширному семейству везикулярных структур, образуемых амфифильными молекулами. За сравнительно короткий срок липосомы превратились из простой модели, имитирующей клеточные мембраны, в объект активных научных исследований и практического применения [5]. Универсальные свойства липосомальной лекарственной формы объясняют широкие возможности ее применения, особенно в химиотерапии рака. Главная цель использования липосом в качестве носителей лекарственных препаратов заключается в селективном накоплении действующих веществ в патологических очагах (опухолях, воспаленных тканях). Кроме того, для достижения необходимого терапевтического эффекта инкапсулированный в везикулы препарат должен быть доступным для клеток-мишеней. В этом отношении липосомы отличаются от других контролируемых систем доставки, высвобождающих биологически активные соединения либо в плазме, либо непосредственно в месте введения. Захваченный препарат способен избирательно накапливаться в пораженном участке за счет пассивного или активного нацеливания. Пассивное нацеливание — процесс, при котором липосомы благодаря своим физическим свойствам взаимодействуют с анатомическими структурами сосудов ткани-мишени и обеспечивают селективное накопление веществ. Для активного нацеливания на поверхности везикул должен находиться направляющий вектор (антитело, лиганд рецептора и т.д.), чтобы они смогли распознать «больные» клетки и связаться с ними. Далее липосомы интернализируются клетками-мишенями или разрушаются различными способами (ферментативным гидролизом либо воздействием извне, например ультразвуком, температурой) возле поверхности клеток с последующим

высвобождением препарата и его захватом этими клетками [6].

Существует 5 типов липосом, отличающихся составом и применением *in vivo*: простые липосомы; стерически стабилизированные липосомы; направленные липосомы (иммунолипосомы); катионные липосомы; липосомы, чувствительные к физическим и химическим стимулам, таким как температура, свет и изменения значения pH [7, 8].

На протяжении последних 20 лет в практике мировой фармакологии интенсивно используются препараты на основе липосом и липидов различной направленности. Эти препараты нашли широкое применение в диагностике и химиотерапии опухолевых заболеваний, в вакцинологии, офтальмологии, пульмонологии и при лечении других патологических состояний (табл. [7, 9–11]).

Особенности микроциркуляции в опухоли

Эндотелиальные клетки опухолевых сосудов пролиферируют в 30–40 раз быстрее, чем эндотелиальные клетки сосудов нормальных тканей. Из-за высоких потребностей в кислороде, питательных веществах, газовом обмене и удалении продуктов метаболизма растущие опухоли создают хаотически расположенные капилляры с очень высокой проницаемостью. Для капилляров солидных опухолей характерны большие поры между эндотелиальными клетками (от 380–780 нм до 1,2 мкм в зависимости от типа опухоли), что приводит к повышенной проницаемости опухолевых капилляров по сравнению с капиллярами в нормальных тканях. Последние обнаруживают функциональную проницаемость при размере пор около 7 нм. Очевидная разница в проницаемости кровеносных сосудов нормальных тканей и опухолей является положительным фактором, создающим возможность накопления в опухоли микроконтейнеров, например липосом, которые не проникают через эндотелиальный барьер в здоровых тканях, но эффективно проникают в опухоль. Однако разные участки одной и той же опухоли могут различаться по скорости и степени проникновения липосом, что создает барьер для эффективной химиотерапии [12].

Хаотично расположенные опухолевые капилляры с областями низкого кровоснабжения создают другой барьер на пути однородной доставки лекарственных препаратов в опухолевые клетки. Периферия опухоли — самая васкуляризованная область, тогда как центр опухоли вследствие нарушенного кровоснабжения обычно некротизирован. Опухолевые клетки выживают на расстоянии примерно 110 мкм от кровеносного сосуда. Для того чтобы все опухолевые клетки получили достаточное количество препарата, молекулы препарата или нагруженные препаратом липосомы должны пройти через интерстициальное пространство опухоли к отдаленным клеткам. Этот процесс затруднен вследствие высокого интерстициального давления среды, которое гораздо выше в опухолях, чем в окружающих нормальных тканях. Интерстициальное давление среды зависит от размера опухоли и ее расположения, с градиентом от центра опухоли к периферии. Чем больше опухоль, тем выше интерстициальное давление среды [13]. Но давление в опухолевых капиллярах также на 1–2 порядка выше, чем в нормальных тканях [14, 15], что облегчает проник-

Таблица. Липосомальные препараты и препараты на основе липидов, выпускаемые фармацевтической промышленностью

| Лекарственная субстанция | Название препарата | Производитель | Применение |
|--|--|--|--|
| Доксорубин | Doxil | ALZA Corporation (США); Ortho Biotech Products, L.P. (США) | Рак яичников; саркома Капоши; множественная миелома |
| | Caelyx | Schering-Plough (Бельгия) | Рак молочной железы и яичников |
| | Myocet (ранее Evacet, TLC D-99) | Elan Corporation (США) | Рак молочной железы |
| | Липодокс | ЗАО «Биолек» (Украина) | Солитарные опухоли и лейкозы |
| | ThermoDox | Celsion Corporation (США) | Гепатоцеллюлярный рак; рак молочной железы |
| Даунорубин | DaunoXome | Gilead Sciences, Inc. (США) | Саркома Капоши |
| Амфотерицин В | AmBisome | Gilead Sciences, Inc. (США) | Грибковые инфекции; криптококковый менингит у ВИЧ-инфицированных пациентов |
| | Amphotec | Three Rivers Pharmaceuticals (США) | Грибковые инфекции; лейшманиоз |
| | Abelcet | Enzon Pharmaceuticals, Inc. (США) | Грибковые инфекции |
| | Amphocil | Beacon Pharmaceuticals Ltd. (Великобритания) | |
| | Ampholip | Bharat Serums And Vaccines Limited (Индия) | |
| | Fungizone | Bristol-Myers Squibb Company (США) | |
| Цитарабин | Depocyt | Skye Pharma Inc. (США); Enzon Pharmaceuticals, Inc. (США) | Лимфоматозный менингит |
| Морфина сульфат | DepoDur | EKR Therapeutics, Inc. (США) | Анальгетик |
| Третиноин | ATRA-IV | Antigenics Inc. (США) | Острый промиелоцитарный лейкоз |
| Инактивированные вирионы гепатита А | Eraxal Berna Vaccine | Berna Biotech Ltd. (Швейцария) | Гепатит А |
| Фосфатидилхолин и тринариевая соль глицерризиновой кислоты | Фосфоглив | ОАО «Фармстандарт» (Россия); ГУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН (Россия) | Гепатопротекторное средство с иммуномодулирующим, противовирусным и противовоспалительным действием |
| Фосфатидилхолин | Липин | ЗАО «Биолек» (Украина) | Антигипоксическое, антиоксидантное, мембранопротекторное средство |
| Антраль | Лиолив | | Гепатопротекторное средство |
| Кверцетин | Липофлавон, в/в | | Кардиопротекторное, антиоксидантное средство |
| | Липофлавон (глазные капли) | | Ранозаживляющее, ангиопротекторное, противовоспалительное средство |
| Цисплатин | Липоплат | ЗАО «Биолек» (Украина) | Рак яичников |
| Вертепорфин | Visudyne | Novartis Pharmaceuticals Corporation (США); Novartis Pharma, AG (Швейцария); Novartis Pharma, S.A.S. (Франция) | Препарат для фотодинамической терапии в офтальмологии (субфовеолярная хориоидальная неоваскуляризация) |
| Интерферон альфа | Липоферон | Jadran (Хорватия) | Противовирусное, иммуномодулирующее средство (гепатиты В и С, ОРВИ) |
| Антигены вируса гриппа (гемагглютинин и нейраминидаза) | Inflexal V (virosomal influenza vaccine) | Berna Biotech Ltd. (Швейцария) | Противогриппозная вакцина |
| | Invivac (virosomal influenza vaccine) | Solvay Pharmaceuticals SA (Бельгия) | |
| Соевый лецитин | Tears Again (спрей) | BioRevive Pty Ltd. (Австралия) | Синдром сухого глаза |

новение в ткань липосом. Таким образом, липосомы способны преодолевать вышеуказанные барьеры и избирательно накапливаться в опухоли.

Простые липосомы

Простые липосомы состоят только из фосфолипидов (нейтральных и/или отрицательно заряженных) и/или холестерина. Введенные различными путями *in vivo*, они циркулируют в кровотоке в течение довольно короткого периода времени и быстро накапливаются в мононуклеарной фагоцитарной системе, известной как ретикуло-эндотелиальная система (РЭС). Основные места скопления липосом — печень и селезенка. Большое количество фагоцитов и обильное кровоснабжение являются главными причинами захвата везикул преимущественно печенью и селезенкой [8, 16]. Благодаря этому свойству липосомы можно использовать для доставки в макрофаги иммуномодуляторов, цитотоксических и противомикробных соединений путем пассивного нацеливания. Активирующие факторы (цитокины) доставляли в макрофаги, таким образом наделяя их способностью к уничтожению опухолевых клеток, поэтому данный подход был предложен для лечения метастазов после хирургического удаления первичных опухолей [7, 17]. Липосомы также применялись для доставки препаратов против внутриклеточных патогенных микроорганизмов, таких как *Leishmania donovani* [18], системной грибковой инфекции, ВИЧ, микобактериальной инфекции, особенно у пациентов с ослабленным иммунитетом [17]. Способность везикул захватываться РЭС расширила возможности их применения для диагностики, например в качестве носителей радиоизотопов и контрастных средств для визуализации [7, 17]. Обычные липосомы использовались и как носители антигенов [7, 19, 20]. В проведенных исследованиях вакцины на основе везикул оказались эффективными против вирусных, бактериальных и паразитарных инфекций [21], а также опухолей [20].

В относительно малодоступные очаги воспаления (например, в мозг) способны проникать отрицательно заряженные и содержащие последовательность аргинин-глицин-аспарагиновая кислота (RGD) липосомы, которые служат посредниками при доставке препаратов через моноциты/нейтрофилы [22, 23].

Эффект повышенной проницаемости и удерживания как основа нацеливания липосом на опухоль

Стерически стабилизированные липосомы содержат на своей поверхности блоки полиэтиленоксида, которые препятствуют опсонизации липосом, уменьшают их распознавание клетками РЭС и увеличивают время циркуляции в кровотоке [24]. Пролонгированное время циркуляции липосом дает возможность использовать сосудистые дефекты солидных опухолей через феномен, известный как эффект повышенной проницаемости и удерживания (EPR-эффект), впервые сформулированный Н. Маеда и соавт. [25–27]. Из-за дефектности опухолевых сосудов макромолекулярные препараты и загруженные препаратом липосомы избирательно накапливаются в опухоли. Кроме того, низкий лимфатический отток из опухоли пролонгирует время пребывания в ней липосом. Гиперваскуляризация, незавершенная

сосудистая архитектура и секреция опухолью фактора роста эндотелия сосудов составляют основу EPR-эффекта [28, 29]. Использование методов селективного нацеливания липосомальных препаратов на солидные опухоли приводит к повышению терапевтической эффективности вследствие более существенного накопления препарата в опухоли и уменьшения побочных эффектов по сравнению с обычными низкомолекулярными препаратами.

Стерически стабилизированные липосомы

Гибкие молекулы полиэтиленгликоля (ПЭГ) создают в примембранной области липосом избыточное осмотическое давление, и в результате такие длительно циркулирующие или стерически стабилизированные везикулы становятся как бы невидимыми для РЭС (stealth liposomes) [8, 30, 31].

Лизомустин — 2-хлорэтилнитрозоуреидопроизводное аминокислоты лизин — относится к группе нитроалкилмочевин (НАМ) и представляет собой смесь двух изомеров (активного и малоактивного). Препарат получен в Институте органического синтеза Уральского отделения РАН; лиофилизированная лекарственная форма для внутривенного введения разработана в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Клиническое изучение препарата показало его эффективность при мелкоклеточном раке легкого и меланоме кожи [32]. С целью увеличения селективности и пролонгирования противоопухолевого эффекта Лизомустина в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН получена стерически стабилизированная липосомальная лекарственная форма препарата с диаметром везикул 155 ± 23 нм. На экспериментальных моделях опухолевого роста — лейкозе L-1210 и карциноме легкого Льюиса показано, что стерически стабилизированная липосомальная лекарственная форма Лизомустина повышает биодоступность действующего вещества, расширяет диапазон терапевтических доз с эффектом 100% излечения (125–225 мг/кг) и снижает токсичность [33–35].

Иммунолипосомы

ПЭГ-модифицированные везикулы, разработанные для ускользания от распознавания РЭС, нашли применение при лигандопосредованной направленной доставке препаратов в опухоль [7, 36]. Конъюгация с соответствующими

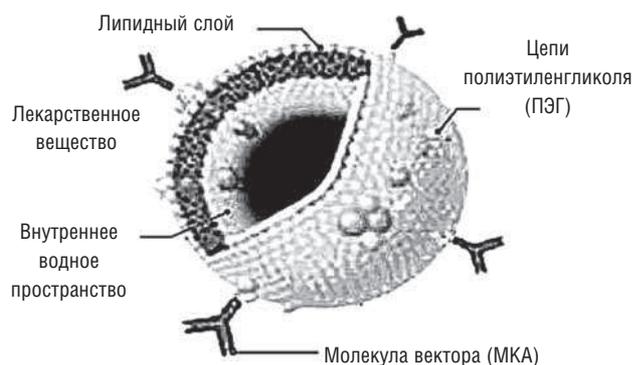


Рис. 1. Строение иммунолипосомы

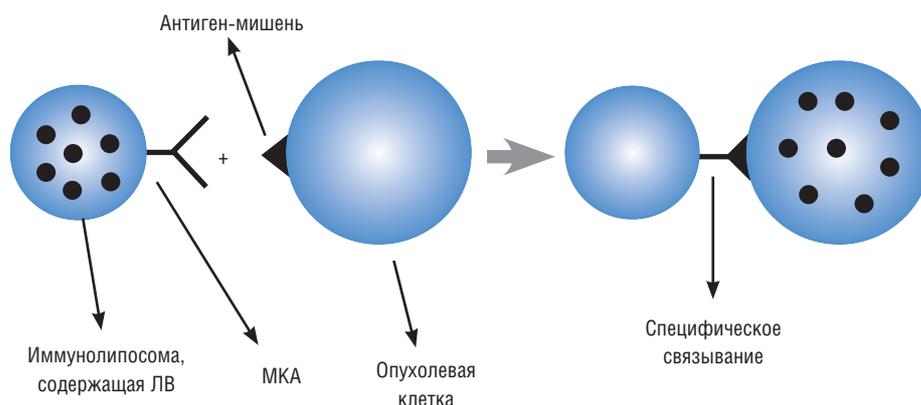


Рис. 2. Принцип направленного транспорта лекарственных веществ посредством иммунолипосом

ющим вектором (моноклональными антителами [МКА] или их фрагментами, пептидами, факторами роста, углеводами, гликопротеинами и др.) позволяет модулировать распределение липосом в органах и тканях. Липосомы, к поверхности которых присоединены молекулы МКА или их фрагменты, называются иммунолипосомами (рис. 1). С помощью таких «адресных» липосом можно не только оптимизировать терапевтические свойства лекарственных веществ, но и в ряде случаев корректировать действующую дозу.

Принцип направленного транспорта иммунолипосом реализуется за счет молекул векторных МКА, обладающих специфичностью к опухолевым антигенам-мишеням (рис. 2).

К антителам, используемым в конструкции иммунолипосом, предъявляют определенные требования. МКА должны сохранять свою специфичность при конъюгации с липосомами, иметь аффинность, достаточную для связывания низкой концентрации иммунолипосом, обладать низкой иммуногенностью. Антитела должны эффективно интернализываться клетками-мишенями путем эндоцитоза, обладать биологической активностью и усиливать противоопухолевый ответ. Кроме того, МКА должны быть технологичны в производстве и иметь достаточный срок хранения [37, 38].

Мышиные МКА, полученные с помощью гибридомной технологии, являются ценными направляющими векторами в системе адресной доставки противоопухолевых препаратов в исследованиях *in vivo*. Однако в клинической практике применение мышиных МКА может вызывать активацию и ответ иммунной системы пациента. Мышиные МКА при введении больному распознаются как чужеродные, что приводит к выработке антимышинных антител и снижению эффективности адресной доставки [39]. Тем не менее, при однократном введении иммунолипосом иммунный ответ, вероятно, не оказывает влияния на эффективность направленного транспорта, так как доставка в основном протекает намного быстрее, чем успевают развиваться иммунные реакции организма.

В настоящее время разработан ряд стратегий, направленных на снижение иммуногенности иммунолипосомальных препаратов: совместное введение иммуносупрессоров (например, циклоспорина), использование химерных (гуманизированных) антител, полученных путем слияния вариабельного региона мышиных МКА и константной части человеческих иммуноглобулинов,

а также малых фрагментов антител (например, одноцепочечных антител).

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН располагает большой коллекцией собственных гибридом, продуцирующих МКА к различным опухоле-ассоциированным антигенам, что позволяет проводить работы по использованию последних в качестве векторных молекул для создания препаратов направленного действия против широкого спектра онкологических заболеваний.

Создана также новая оригинальная отечественная технология производства рекомбинантных терапевтических антител (наноплантисом), основанная на их продукции в транзитивно-трансфицированных растениях. Трансфекция растительного материала производится специально сконструированными вирусоподобными генетическими векторами с особо высокой трансфекционной активностью. Применение специальных генетических вспомогательных элементов, обеспечивающих высокий уровень экспрессии, позволяет получать до 1 г целевого продукта с 1 кг зеленой массы. На данный момент с использованием данной технологии получены гуманизированные анти-Her2/neu МКА (аналог препарата Герцептин). Проведенные исследования показали, что активность полученных рекомбинантных МКА полностью совпадает с импортным аналогом. На стадии разработки находятся гуманизированные моноклональные антитела к MUC1 и CD20 антигенам [40].

В РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН разработаны иммунолипосомальные конструкции противоопухолевых препаратов различных классов и механизмов действия: антибиотика антрациклинового ряда доксорубинина, производного антрацендиона митоксантрона, производного НАМ Лизомустина и фотосенсибилизатора тиосенса [37, 41–44]. В качестве молекулярных мишеней выступают антигены CD5, CD20 и MUC1.

Антиген CD5 является мономерным гликопротеидом с молекулярной массой 67 кД, экспрессированным на всех этапах дифференцировки Т-лимфоцитов [37], также он найден и на субпопуляции В-клеток. Известно, что антиген CD5 интернализуется после связывания с антителом. Это может способствовать проникновению липосомы в клетку и доставке лекарственного средства во внутриклеточное пространство. Следовательно, анти-CD5 иммунолипосомы, нагруженные лекарственным препаратом, могут быть использованы при лечении хронического В-лимфоцитарного лейкоза и острого Т-клеточного лейкоза.

Антиген CD20 представляет собой негликозилированный белок, высокофосфорилированный в активированных и злокачественно трансформированных клетках. Экспрессия CD20 наблюдается на мембране ранних и зрелых В-лимфоцитов, но не стволовых, ранних пре-В, дендритных и плазматических клеток. Поэтому их истощение не отменяет регенерацию пула В-лимфоцитов и не влияет на синтез иммуноглобулинов плазматическими клетками. Кроме того, CD20 не высвобождается с мембраны В-лимфоцитов в кровяное русло и поэтому не блокирует взаимодействие анти-CD20 иммунолипосом с В-клетками, что увеличивает эффективность терапии [45]. Таким образом, иммунолипосомы, направленные против данной молекулярной мишени, могут применяться при лечении больных с диагнозом неходжкинской лимфомы низкой степени злокачественности, диффузной крупноклеточной лимфомы и лимфомы из клеток зоны мантии.

Муциноподобный антиген MUC1 является высокомолекулярным трансмембранным гликопротеидом, состоящим из двух нековалентно связанных субъединиц 265–400 и 14–28 кД. В норме при дисплазиях и доброкачественных опухолях он локализуется в апикальной части мембраны эпителиальной клетки. При раковом процессе гиперэкспрессия MUC1, как правило, свидетельствует о плохом прогнозе. Возможно, это обусловлено тем, что гликопротеид проявляет антиадгезивные свойства и способствует метастазированию опухолей [32, 46]. Анти-MUC1 иммунолипосомальные лекарственные формы могут использоваться в терапии рака молочной и щитовидной желез, яичников, матки, легкого, пищевода, желудка, толстой и прямой кишки, почки.

Разработанные в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН иммунолипосомальные конструкции характеризуются высокой степенью включения действующего вещества (70–95%), эффективной конъюгацией с векторными моноклональными антителами (95–98%), выраженной антигенспецифичностью (эффективность связывания с мишенью до 98%) и цитотоксической активностью *in vitro* [37, 43, 44, 47].

Таким образом, лекарственные препараты на основе иммунолипосом являются весьма перспективными как в России, так и за рубежом. В настоящее время японские ученые проводят клинические испытания иммунолипосомальной формы доксорубина, представляющей собой пегилированные липосомы с прикрепленными F(ab')₂-фрагментами человеческих МКА, которые способны распознавать опухолевые клетки при раке желудка, толстой кишки и молочной железы [48].

Катионные липосомы

Липосомы также активно изучаются в качестве потенциальных средств направленной доставки генов в определенные клетки тела. Для доставки генетического материала в клетку используют катионные липосомы [49–51]. Катионные липиды взаимодействуют с отрицательно заряженной молекулой ДНК, нейтрализуют ее и сжимают в более компактную структуру. Комплекс липид-ДНК обеспечивает защиту, клеточную интернализацию и экспрессию сжатой плазмиды [8]. Комплексы катионных липосом с полианионной плазмидной ДНК, формирующие очень компактные наноструктуры с общим положительным зарядом, называются липоплексами (lipoplexes)

[31, 52, 53]. Подобная невирусная система, полученная конъюгацией галактолипидов с липоплексами, разработана для доставки генов в печень [17].

Липосомы, чувствительные к физическим и химическим стимулам

Действие препарата можно локализовать в определенной ткани-мишени за счет местного нагревания. Для этой цели применяются термочувствительные липосомы, состоящие из фосфолипидов с температурой фазового перехода выше, чем температура тела. Такие липосомальные формы обладают повышенной проницаемостью при температуре, близкой к температуре фазового перехода, и в сочетании с локальным нагреванием используются для доставки лекарственных соединений в опухоль [54, 55].

Применение нагрева или гипертермии для высвобождения содержимого везикул возможно по нескольким причинам. Во-первых, гипертермия увеличивает кровотоки и проницаемость капилляров в опухоли. Кроме того, гипертермия увеличивает выход липосом из сосудов в ткани и их накопление в прогреваемой опухоли [56, 57]. Во-вторых, гипертермия используется как адъювантная терапия к хирургическому методу лечения, лучевой терапии и химиотерапии. Гипертермия обладает прямым цитотоксическим действием по отношению к опухолевым клеткам [58, 59]. В третьих, можно достичь супрааддитивного цитотоксического эффекта, если использовать гипертермию в комбинации с несколькими химиотерапевтическими агентами, инкапсулированными в липосомы [60]. Таким образом, гипертермия способна увеличивать доставку везикул в опухоль и усиливать экспозицию опухолевых клеток к препарату, высвобождаемому из липосом.

Новый препарат ThermoDox, созданный компанией «Celsion Corporation» совместно с Университетом Дьюка (Duke University, США), в сочетании с высокочастотной абляцией проходит III фазу клинических испытаний при гепатоцеллюлярном раке, а с нагревом токами сверхвысокой частоты — I–II фазы клинических испытаний при рецидивирующем раке молочной железы [61].

В РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН разработана лиофилизированная термочувствительная липосомальная лекарственная форма доксорубина с размером частиц 170 ± 20 нм и эффективностью инкапсулирования препарата в везикулы 87–94% [62, 63]. В доклинических испытаниях, проведенных на меланоме В16 и солидной карциноме Эрлиха линии ELD, показано, что термоллипосомальный доксорубин в комбинации с локальной гипертермией (43 °C) обладает большей избирательностью действия по сравнению со свободным доксорубицином [62, 64, 65].

Фоточувствительные липосомы высвобождают внутреннее содержимое при воздействии УФ-света. Принцип фоточувствительности основан на включении в состав везикул фотоизомеризуемой липидной молекулы (1,2-(4'-н-бутилфенил)азо-4'-(γ-фенилбутирил))-глицеро-3-фосфохолина (Bis-Azo PC) в низких концентрациях. В термодинамически выгодной *транс* (E)-форме Bis-Azo PC представляет собой компактную молекулу, легко встраивающуюся в двойной слой липидов. Во время фотоизомеризации фотохромный липид переходит в фотостабильное состояние, в котором доминирует

цис (Z)-изомер, взаимодействующий с бислоем и способствующий быстрому высвобождению захваченного препарата [66].

В связи с разнообразием pH-градиентов в нормальном и патофизиологическом состояниях можно сконструировать липосомы, чувствительные к таким изменениям pH [49, 53]. Известно, что внеклеточное значение pH в опухолях немного ниже, чем в нормальных тканях, и составляет в среднем 7,0 по сравнению с pH 7,4 для крови и здоровых тканей. Эндцитоз начинается при pH 7,4; в эндосомах это значение снижается до 5,5–6,0, а в лизосомах достигает величины 5,0 [51]. Таким образом, pH-чувствительные липосомы способны селективно высвобождать биологически активные соединения в опухоли или внутри опухолевых клеток [31, 54, 67].

Заключение

Липосомальные системы доставки лекарственных веществ постоянно развиваются. Такие свойства липосом, как биосовместимость, защита включенных веществ от захвата клетками ретикулоэндотелиальной системы и метаболической деградации, возможность доставки гидрофобных и гидрофильных соединений к различным органам и тканям организма и, более того, способность доставлять эти соединения в цитоплазму клетки-мишени, делают их привлекательными для использования в медицине и фармации. Достижения молекулярной биологии, обеспечившие большой выбор лигандов, и углубление понимания молекулярных механизмов заболевания помогают определить подходящие мишени для направленной доставки липосом.

REFERENCES

1. Pal'cev M.A. Nanotehnologii v medicine i farmacii. *Remedium*. 2008; 9: 6–11.
2. Alekseev K.V., Alyautdin R.N., Blynskaya E.V., Kvinnh B.T. Nanorazmernye sistemy dostavki lekarstvennyh veschestv. *Vestnik novykh medicinskih tehnologii*. 2009; 16 (2): 17–20.
3. Haley B., Frenkel E. Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. 2008; 26: 57–64.
4. Bawarski W.E., Chidlowsky E., Bharali D.J. et al. Emerging nanopharmaceuticals. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2008; 4: 273–282.
5. Barsukov L.I. Liposomy. *Sorosovskii obrazovatel'nyi jurnal*. 1998; 10: 2–9.
6. Barenholz Y. Liposome application: problems and prospects. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2001; 6: 66–77.
7. Immordino M.L., Dosio F., Cattell L. Stealth liposomes: review of the basic science, rationale and clinical applications, existing and potential. *International Journal of Nanomedicine*. 2006; 1 (3): 297–315.
8. Storm G., Crommelin D.J.A. Liposomes: quo vadis. *PSTT*. 1998; 1 (1): 19–31.
9. Shvec V.I., Krasnopol'skii Yu.M. Liposomy v farmacii. *Produkty nanobiotehnologii. Provizor*. 2008; 3: 18–24.
10. Branco M.C., Schneider J.P. Self-assembling materials for therapeutic delivery. *Acta Biomaterialia*. 2009; 5: 817–831.
11. Goyal P., Goyal K., Kumar S.G.V. et al. Liposomal drug delivery systems — clinical applications. *Acta Pharm.* 2005; 55: 1–25.
12. Hobbs S.K., Monsky W., Yuan F. et al. Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1998; 95: 4607–4612.
13. Boucher Y., Kirkwood J., Opacic D. et al. Interstitial hypertension in superficial metastatic melanomas in humans. *Cancer Res*. 1991; 51: 6691–6694.
14. Campbell R. Tumor physiology and delivery of nanopharmaceuticals. *Anticancer Agents Med. Chem.* 2006; 6: 503–512.
15. Tong R., Boucher Y., Kozin S. et al. Vascular normalization by vascular endothelial growth factor receptor 2 blockade induces a pressure gradient across the vasculature and improves drug penetration in tumors. *Cancer Res*. 2004; 64: 3731–3736.
16. Nassander U.K., Storm G., Peeters P.A.M., Crommelin D.J.A. Liposomes. In: M. Chasin, R. Langer eds. *Biodegradable polymers as drug delivery systems*. New York: Marcel Dekker. 1990. P. 261–338.
17. Vasir J.K., Reddy M.K., Labhasetwar V.D. Nanosystems in drug targeting: opportunities and challenges. *Current Nanoscience*. 2005; 1 (1): 47–64.
18. Basu M.K. Liposomal delivery of antileishmanial agents. *Journal of Applied Research*. 2005; 5 (1): 221–236.
19. Frezard F. Liposomes: from biophysics to the design of peptide vaccines. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1999; 32 (2): 181–189.
20. Zurbriggen R., Amacker M., Krammer A.R. Immunopotentiating reconstituted influenza virosomes. In: G. Gregoriadis eds. *Liposome technology*. 3rd edn. Vol. I. Liposome preparation and related techniques. New York: Informa Healthcare USA, Inc. 2007. P. 85–96.
21. Felnerova D., Viret J.-F., Gluck R., Moser C. Liposomes and virosomes as delivery systems for antigens, nucleic acids and drugs. *Current Opinion in Biotechnology*. 2004; 15: 518–529.
22. Jain S., Mishra V., Singh P. et al. RGD-anchored magnetic liposomes for monocytes/neutrophils-mediated brain targeting. *Int. J. Pharm.* 2003; 261 (1–2): 43–55.
23. Qin J., Chen D., Hu H. et al. Surface modification of RGD-liposomes for selective drug delivery to monocytes/Neutrophils in brain. *Chem. Pharm. Bull.* 2007; 55 (8): 1192–1197.
24. Moghimi S., Hunter A., Murray J. Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. *Pharmacol. Rev.* 2001; 53: 283–318.
25. Fang J., Sawa T., Maeda H. Factors and mechanism of «epr» effect and the enhanced antitumor effects of macromolecular drugs including smancs. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003; 519: 29–49.
26. Greish K., Fang J., Inutsuka T. et al. Macromolecular therapeutics: advantages and prospects with special emphasis on solid tumor targeting. *Clin. Pharmacokinet.* 2003; 42: 1089–1105.
27. Maeda H. The enhanced permeability and retention (epr) effect in tumor vasculature: the key role of tumor-selective macromolecular drug targeting. *Adv. Enzyme Regul.* 2001; 41: 189–207.
28. Dvorak H.F., Nagy J.A., Dvorak J.T., Dvorak A.M. Identification and characterization of the blood vessels of solid tumors that are leaky to circulating macromolecules. *Am. J. Pathol.* 1988; 133: 95–109.
29. Jain R.K., Gerlowski L.E. Extravascular transport in normal and tumor tissue. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 1986; 5: 115–170.
30. Storm G., Belliot S.O., Daemen T., Lasic D.D. Surface modification of nanoparticles to oppose uptake by the mononuclear phagocyte system. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1995; 17: 31–48.
31. Ulrich A.S. Biophysical aspects of using liposomes as delivery vehicles. *Bioscience Reports*. 2002; 22 (2): 129–150.
32. Davydov M.I. Eksperimental'naya onkologiya na rubeje vekov / pod red. M.I. Davydova, A.Yu. Baryshnikova. *M.: Izd. gruppa RONC im. N.N. Blohina RAMN*. 2003. 552 s.
33. Lancova A.V. Sozdanie i biofarmaceuticheskoe izuchenie liposomal'nyh lekarstvennyh form protivopuholevyh preparatov

- proizvodnyh nitrozomocheviny. *Avtoref. dis. kand. farm. nauk. Moskva*. 2006. 173 s.
34. Lancova A.V., Oborotova N.A., Peretolchina N.M. i dr. Razrabotka i izuchenie stericheski stabilizirovannoi liposomal'noi formy lizo-mustina. *M.: Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal*. 2004; 4: 19–23.
 35. Lancova A.V., Oborotova N.A., Peretolchina N.M. i dr. Sravnitel'noe izuchenie protivopuholevoi aktivnosti liposomal'nyh lekarstvennyh form preparatov proizvodnyh nitrozoalkimocheviny. *Tomsk: Sibirskii onkologicheskii jurnal*. 2005; 2 (14): 25–29.
 36. Allen T.M. Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy. *Nat. Rev. Cancer*. 2002; 2 (10): 750–763.
 37. Tolcheva E.V. Sozdanie konstrukcii immunoliposomy i izuchenie immunoliposomal'noi formy protivopuholevogo preparata doksorubicin. *Avtoref. dis. kand. biol. nauk. Moskva*. 2007. 109 s.
 38. Gao H. et al. Mechanics of receptor-mediated endocytosis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2005. 102 p.
 39. Torchilin V.P. Antibody-modified liposomes for cancer chemotherapy. *Expert Opin. Drug Deliv*. 2008; 5: 1003–1025.
 40. Baryshnikov A.Y., Kosorukov V.S., Sokolova D.V. et al. Monoclonal antibodies as a tool for direct drug delivery system. *Abstracts of the second nanotechnology international forum participants. October 6–8. 2009*. P. 524–525.
 41. Sokolova D.V., Tazina E.V., Kortava M.A. i dr. Anti-CD20 i anti-HLA-DR immunoliposomal'nye formy doksorubicina: tehnologiya polucheniya i antigenspecifichnost' in vivo. *Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal*. 2010; 9 (2): 90.
 42. Sokolova D.V., Tazina E.V., Kortava M.A. i dr. Anti-MUC1 immunoliposomal'naya forma doksorubicina: tehnologiya polucheniya i antigenspecifichnost' in vitro. *Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal*. 2010; 9 (3): 21.
 43. Hugaeva O.V., Kortava M.A., Sokolova D.V. i dr. Poluchenie immunoliposomal'nogo mitoksantrona / Materialy IX Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferencii «Otechestvennye protivopuholevye preparaty». *Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal*. 2010; 9 (2): 91.
 44. Baryshnikov A.Yu., Volkov N.N., Ivanov A.V. i dr. Patent na izobretenie «Immunoliposomal'naya forma fotosensibilizatora». № 2009125618. Rossiiskii patent ot 06 iyulya 2009.
 45. Nasonov E.L. Perspektivy primeneniya rituksimaba pri autoim-munnyh zabolovaniyah cheloveka. *Russkii medicinskii jurnal*. 2007; 15 (26): 1–6.
 46. Hanson J.M. et al. MUC1 expression in primary breast cancer: the effect of tamoxifen treatment. *Breast Cancer Res. Treat.* 2001; 67: 215–222.
 47. Sokolova D.V. Immunoliposomal'nye konstrukcii doksorubicina i modeli dlya ih doklinicheskogo issledovaniya. *Avtoref. dis. kand. biol. nauk. Moskva*. 2011. 122 s.
 48. Matsumura Y., Gotoh M., Muro K. et al. Phase I and pharmacokinetic study of MCC-465, a doxorubicin (DXR) encapsulated in PEG immunoliposome, in patients with metastatic stomach cancer. *Ann. Oncol.* 2004; 15: 517–525.
 49. Duzgunes N., Simoes S., Lopez-Mesas M., Pedrosa de Lima M.C. Intracellular delivery of therapeutic oligonucleotides in pH-sensitive and cationic liposomes. In: G. Gregoriadis eds. *Liposome technology*. 3rd ed. Vol. III. Interactions of liposomes with the biological milieu. *New York: Informa Healthcare USA, Inc.* 2007. P. 253–275.
 50. Lasic D.D., Templeton N.S. Liposomes in gene therapy. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 1996; 20: 221–266.
 51. Ropert C. Liposomes as a gene delivery system. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1999; 32 (2): 163–169.
 52. Garidel P., Peschka-Suss R. Lipoplexes in gene therapy under the considerations of scaling up, stability issues, and pharmaceutical requirements. In: G. Gregoriadis eds. *Liposome technology*. 3rd ed. Vol. I. Liposome preparation and related techniques. *New York: Informa Healthcare USA, Inc.* 2007. P. 97–138.
 53. Garinot M., Masson C., Mignet N. et al. Synthesis and advantages of acid-labile formulations for lipoplexes. In: G. Gregoriadis eds. *Liposome technology*. 3rd ed. Vol. I. Liposome preparation and related techniques. *New York: Informa Healthcare USA, Inc.* 2007. P. 139–163.
 54. Ponce A.M., Wright A., Dewhirst M.W., Needham D. Targeted bioavailability of drugs by triggered release from liposomes. *Future Lipidol.* 2006; 1 (1): 25–34.
 55. Kong G., Dewhirst M.W. Hyperthermia and liposomes. *Int. J. Hypertherm.* 1999; 15: 345–370.
 56. Kong G., Braun R.D., Dewhirst M.W. Characterization of the effect of hyperthermia on nanoparticle extravasation from tumor vasculature. *Cancer Res.* 2001; 61: 3027–3032.
 57. Kong G., Braun R.D., Dewhirst M.W. Hyperthermia enables tumor-specific nanoparticle delivery: effect of particle size. *Cancer Res.* 2000; 60: 4440–4445.
 58. Dewhirst M.W., Prosnitz L., Thrall D. et al. Hyperthermic treatment of malignant diseases: current status and a view toward the future. *Semin. Oncol.* 1997; 24: 616–625.
 59. Kong G., Anyarambhatla G., Petros W.P. et al. Efficacy of liposomes and hyperthermia in a human tumor xenograft model: importance of triggered drug release. *Cancer Res.* 2000; 60: 6950–6957.
 60. Wiedemann G.J., Robins H.I., Katschinski D.M. et al. Systemic hyperthermia and ICE chemotherapy for sarcoma patients: rationale and clinical status. *Anticancer Res.* 1997; 17: 2899–2902.
 61. Hauck M.L., LaRue S.M., Petros W.P. et al. Phase I trial of doxorubicin-containing low temperature sensitive liposomes in spontaneous canine tumors. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12 (13): 4004–4010.
 62. Tazina E.V. Sozdanie i biofarmaceuticheskoe obosnovanie termochuvstvitel'noi liposomal'noi lekarstvennoi formy doksorubicina. *Avtoref. dis. kand. farm. nauk. Moskva*. 2010. 244 s.
 63. Tazina E.V., Ignat'eva E.V., Polozkova A.P. i dr. Tehnologiya polucheniya i analiz termozavisimoi liposomal'noi lekarstvennoi formy doksorubicina. *Himiko-farmaceuticheskii jurnal*. 2008; 42 (12): 30–35.
 64. Tazina E.V., Mescherikova V.V., Ignat'eva E.V. i dr. Biofarmaceuticheskie issledovaniya termochuvstvitel'noi liposomal'noi lekarstvennoi formy doksorubicina. *Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal*. 2009; 1 (8): 40–47.
 65. Tazina E.V., Polozkova A.P., Orlova O.L. et al. Preparation and investigation of biological activity of thermosensitive liposomes loaded with doxorubicin. *Technical Proceedings of the 2008 Nanotechnology Conference and Trade Show (June 1–5, Boston, Massachusetts, USA)*. 2008; 2: 53–56.
 66. Bisby R.H., Mead C., Morgan C.G. Active uptake of drugs into photosensitive liposomes and rapid release on UV photolysis. *Photochemistry and Photobiology*. 2000; 72 (1): 57–61.
 67. Huang Z., Szoka F.C. Bioresponsive liposomes and their use for macromolecular delivery. In: G. Gregoriadis eds. *Liposome technology*. 3rd edn. Vol. I. Liposome preparation and related techniques. *New York: Informa Healthcare USA, Inc.* 2007. P. 165–196.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Барышников Анатолий Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, зам. директора РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН по научной части, директор НИИ ЭДиТО РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

Адрес: 115448, Москва, Каширское шоссе, д. 24

Тел.: (499) 324-22-74

E-mail: baryshnikov_anat@mail.ru

Тазина Елизавета Владимировна, кандидат фармацевтических наук, научный сотрудник лаборатории разработки лекарственных форм НИИ ЭДиТО РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

E-mail: ltazina@yandex.ru

Соколова Дарина Вадимовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей НИИ ЭДиТО РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

Тел.: (499) 324-10-65

E-mail: d.v.sokolova@gmail.com

Оборотова Наталья Александровна, доктор фармацевтических наук, профессор, зав. лабораторией разработки лекарственных форм НИИ ЭДиТО РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

Тел.: (499) 324-18-14

E-mail: oborotova@mail.ru