

Л.А. Налєскіна
Н.В. Бородай
В.Ф. Чехун

Інститут експериментальної
патології, онкології
і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького
НАН України, Київ, Україна

СЬОГОДЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ НАНОСИСТЕМ СПРЯМОВАНОЇ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ ДО ПУХЛИННИХ КЛІТИН

Ключові слова: лікарська
резистентність пухлин,
нанокомпозити,
ферромагнетиків, магнітне поле,
ліпосоми, спрямована доставка
лікарських препаратів.

Резюме. Необхідність пошуку нових підходів до лікування онкологічних хворих зумовлена високою токсичністю протипухлинних препаратів та резистентністю пухлин до їх дії. Перспективним є створення нанокомпозитів спрямованої доставки лікарських засобів до пухлинних клітин з використанням наноферромагнетиків та ліпосомальних носіїв. Обговорюються вимоги до керування зовнішнім магнітним полем наносистем та труднощі, які виникають при конструюванні їх складових: ферромагнетиків і ліпосомальних наносистем. Висвітлено роль і перші досягнення фундаментальних досліджень як важливий крок на шляху до створення лікарських наноконструкцій. Окреслено коло перспективних напрямків удосконалення наносистем спрямованої доставки протипухлинних препаратів до мішені та очікувані переваги при їх впровадженні.

Пухлина, як і тканина органу, з якого вона походить, підтримує своє існування завдяки різним за своїм походженням високомолекулярним органічним сполукам — біополімерам. У нормальних тканинах внаслідок кооперативних зв'язків між функціональними групами у межах конкретних біополімерів та утворення інтерполімерних комплексів здійснюються біосинтетичні процеси, регулювання обміну речовин та реакції імунітету [1]. Але при злоякісній трансформації клітин генетичні зміни, які лежать в основі пухлинного росту, викликають порушення координованої взаємодії функціональних груп клітинних біополімерів — нуклеїнових кислот, білків (у тому числі ферментів), полісахаридів, фосфоліпідів, біологічних мембран. Зазначені ефекти призводять до зміни біологічних властивостей клітин і виникнення пухлинного процесу [2]. Тому основні зусилля експериментаторів та клініцистів-онкологів мають бути зосереджені на пошуках ефективних лікарських засобів гальмування росту пухлин за рахунок дії на біополімери клітин.

На сьогодні одне з провідних місць серед існуючих методів лікування онкологічних хворих займає хіміотерапія [3]. Водночас призначення хіміотерапевтичних засобів пов'язане із рядом суттєвих проблем. Одна з них полягає у неспецифічності дії протипухлинних препаратів та високій токсичності щодо органів і тканин, не уражених пухлиною, зокрема кардіо-, нефро- та нейротоксичності [4]. Іншою перешкодою на шляху до ефективного лікування онкологічних хворих, яку в усьому світі вважають найбільш серйозною проблемою сучасної онкології, є природна та набута резистентність злоякісних новоутворень до цитостатиків [5].

Встановлено існування декількох різних механізмів, які беруть участь у формуванні стійкості пухлин-

них клітин до поліхіміотерапії, зокрема підвищення експресії генів трансмембранних транспортних білків (Pgp, MRP, LRP, BCRP), підвищення рівня системи детоксикації, зниження експресії гена та активності топоізомерази II, зміна експресії генів, що контролюють апоптоз. Вирішальне значення у низці цих змін надається ампліфікації гена множинної лікарської резистентності (MDR), що кодує Pgp, який функціонує як мембранна помпа для викиду із клітин токсичних сполук [6]. Тому першочерговим завданням на шляху до оптимізації лікування хворих на рак є створення новітніх форм біополімерних систем, які, з одного боку, будуть здатні протистояти мембранній помпі клітин, з другого — володітимуть якостями спрямованого надходження безпосередньо у пухлинну тканину, що забезпечить їх селективні властивості та безпечність дії на організм.

Відтепер вирішення цих завдань набуває реальності завдяки впровадженню у медико-біологічні дослідження одного з найбільш пріоритетних напрямків науки та техніки — нанотехнологій [7]. Народження цього напрямку базується на відкритті можливостей конструювання об'єктів із нано (карликових — грецькою мовою) частинок, менших за 100 нм. Спочатку розробка та застосування нанотехнологій були спрямовані на забезпечення науково-технічних та промислових потреб, але з часом виникла необхідність та можливість використання їх у біології та медицині, зокрема в онкології [8]. Інтерес до наночастинок зумовлений тим, що вони займають проміжне положення між атомно-молекулярним та конденсованим станом речовин і завдяки цьому володіють здатністю проникати у будь-які біологічні об'єкти [9, 10]. Крім того, малі розміри частинок призводять до появи унікальних

фізичних, хімічних, механічних та інших властивостей, що привертає увагу широкого кола спеціалістів різних галузей знань, у тому числі онкологів, для використання їх з метою цілеспрямованої доставки лікарських засобів безпосередньо у пухлину [11, 12]. Зокрема, наночастинки металів набувають фізичних та хімічних властивостей, які відрізняються від характеристик більших за розміром об'єктів із цього ж матеріалу, а також проявляють потужні каталітичні властивості [13]. Так, спостерігаються температурні відмінності майже до сотень градусів у температурах за Кюрі або Нееля, а також такі незвичайні особливості як гігантський магнітний опір та аномально великий магнітокалориметричний ефект [14]. Невеликі розміри наночастинок та зазначена вище специфічність їх якостей відкривають великі перспективи для конструювання наносистем спрямованого транспорту [15].

На сучасному етапі розвитку науки найбільш поширеними наносистемами при створенні біополімерних композитів є ліпосоми (Лс), міцели, наномембрани, полімери, керамічні, металеві та вуглецеві наноматеріали та квантові точки. Перспективність використання цих систем полягає у можливості створення різноманітних наноконструкцій, оскільки особливості їх структури дозволяють встроювати в них протипухлинні препарати без зниження ефективності дії і зовні здійснювати спрямований транспорт до пухлини [16].

При створенні систем доставки лікарських речовин з використанням біополімерів особливе значення приділяють сполукам наноматеріали-наносистеми. Такі конструкції за даними V. Mohanraj et al. [17] мають лише їм притаманні властивості, а саме: можливість здійснювати міжклітинний та внутрішньоклітинний транспорт препарату завдяки малим розмірам частинок та розгалуженості їх поверхні; контрольоване вивільнення субстанції з лікарської форми та цілеспрямована дія препарату; стабільність субстанції в технологічній схемі приготування лікарської форми; доставка лікарського засобу до біомішені при використанні магнітних або термічних чинників; можливість різних способів введення. За формою, способом розміщення та вивільнення діючої речовини виділяють два види носіїв [18]: наноутворення, що мають монолітні сферичні форми, які містять субстанцію по всій масі наночастинки або тільки на її поверхні; наноматеріали, що мають порожнисті сферичні контейнери, які наповнені рідиною з розчинними субстанціями.

У медицині започатковані дослідження наноконструкцій, створених на основі феромагнетиків (ФМ). Показана їх низька токсичність і можливість транспорту у певне місце за допомогою магніту [19]. Концепція магнітної мішені [20] була представлена K.J. Widder et al. ще у 1978 р. [21]. ФМ складають особливий клас магнетиків, що володіють намагніченістю без впливу зовнішнього магнітного поля, тобто мають спонтанну намагніченість,

яка значно змінюється під впливом зовнішнього магнітного поля [22]. При застосуванні магнітних матеріалів для конструювання наноконструкцій з використанням біополімерів з метою проведення медико-біологічних досліджень їх частинки мають відповідати наступним умовам [7]: розміри частинок не повинні перевищувати 60 нм, інакше вони не будуть вільно проходити через капіляри, не викликаючи емболізації; частинки повинні мати доволі великий сумарний магнітний момент для утримання їх у кровотоці при його певних фізіологічних параметрах; носії мають бути здатними перенести необхідний набір хіміотерапевтичних агентів, при цьому лікарська речовина повинна займати значну частину об'єму наноконструкції; поверхневі властивості носіїв повинні забезпечувати максимум біосумісності та мінімум антигенності; магнітні носії після виконання своїх функцій мають бути біодеградуєчими, а продукти їх розпаду повинні швидко виводитись із організму та бути мінімально токсичними.

Встановлено, що існує певна величина напруженості магнітного поля для кожного феромагнітного матеріалу носіїв, після досягнення якої подальше її збільшення не призводить до зміни сили. До речі, як для слабких, так і сильних магнітних полів магнітна сила пропорційна об'єму ядра, який займає магнітна речовина окремої наночастинки, і суттєво залежить від її форми [22]. Показано, що у конкретних випадках при розрахунку конфігурації магнітних полів необхідно враховувати тип магнітного носія та розміщення біологічної мішені, а конструювання носіїв проводиться з урахуванням типу біологічної мішені, лікарського засобу і механізму його терапевтичної дії [23].

Як вже було зазначено вище, існують доволі жорсткі вимоги до магнітних носіїв, насамперед до розмірів частинок ФМ. Водночас за законами фізики сила, що зумовлена діючим зовнішнім магнітним полем і утримує носій у кровотоці, пропорційна розміру частинки у третьому ступені та кількості магнітного компонента у ній. Проте протидіюча гідродинамічна сила, що намагається винести носій з органу-мішені, пропорційна його розміру лише у другому ступені. Тому при створенні магнітних носіїв для ефективного їх утримання необхідно збільшувати як розміри частинок, так і вміст магнітного матеріалу. Крім того, слід враховувати і такі фактори як зменшення часу затримки носіїв (як чужерідних тіл) та зниження впливу зовнішнього магнітного поля на організм [24, 25].

Слід зауважити, що велике значення у загальному обсязі знань про вимоги до створення наноконструкцій з використанням магнітних матеріалів, зокрема магнетиту, надається властивостям магнітних доменів наночастинок (нано-ФМ). Магнітні домени — це ділянки магнітного матеріалу, всередині яких намагніченість однорідна та всюди односпрямована. Спрямованість намагніченості різних доменів може бути неоднаковою. Намагніченість доме-

нів, які спрямовані у протилежні боки, компенсує одна одну і таким чином остаточно намагніченість багатодоменної частинки може дорівнювати нулю, водночас як однодоменна частинка завжди намагнічена до насиченості [26, 27].

За структурою нано-ФМ — це колоїдні дисперсні магнітні матеріали, які необхідно стабілізувати у полярному (водному або спиртовому) та неполярному (вуглеводному та силіконовому) середовищах за допомогою поверхнево-активних молекул та біополімерів [28]. Для стабілізації наночастинок використовують органічні (сурфактанти, полімери) [29] та неорганічні покриття (кремнезем, вуглець, благородні метали) [30]. Найбільш поширеними серед органічних стабілізаторів є декстран, поліетиленгліколь, полівінілетанол, гепарин та ін. [31, 32]. Вважають, що утворення іонних зв'язків між наночастинками та протипухлинними препаратами може бути досягнуто в результаті нанесення другого шару полімерів [29], зокрема полі-D,L-молочно-ко-гліколієвої кислоти (PLGA) або дендримерів [33]. Покриття, з одного боку, захищає наночастинки від агрегації, окислення, кислотної та лужної корозії, з другого — відіграє роль спейсера для приєднання до магнітних носіїв біомолекул або фармакологічних агентів, тобто для модифікації поверхні наночастинок різними функціональними групами [34]. Крім того, покриття наночастинок сприяє підвищенню їх біосумісності. Так, декстран перешкоджає опсонізації магнітних наночастинок та виведенню їх з кров'яного русла клітинами ретикулоендотеліальної системи [29]. Модифікація поверхні поліетиленгліколем зменшує поглинання наночастинок макрофагами і (завдяки наявності полярних та неполярних угруповань) покращує проникнення їх через базальну мембрану [35]. Стабілізовані ФМ характеризуються плинністю, магнітними властивостями та стійкістю протягом 2–5 років [36].

При створенні нанокомпозитів як вихідний магнітний матеріал для отримання ФМ, як правило, використовують магнетит. Найбільш перспективною формою заліза для конструювання нанокомпозитів вважаються феромагнітні рідини, які містять наночастинок магнетиту — оксиду заліза (Fe_3O_4 або $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), із розмірами від 15 до 75 нм [37]. За останні роки розроблено багато методів створення ФМ, які можуть бути використані у медицині для конструювання нанокомпозитів, хоча всі вони характеризуються певними недоліками стосовно стандартизації їх чистоти. Для синтезу матеріалів з розмірами магнітних доменів порядку кількох нанометрів використовують ряд фізичних і хімічних методів: випарювання, відновлення солей металів боргідридними похідними, лазерний піроліз, термальний розклад [38]. У промислових масштабах переважно синтезують магнітні рідини шляхом тривалого (протягом тижнів) подрібнення магнетиту в присутності сурфактантів, у результаті чого утворюються рідини з широким діапазоном розмірів частинок [39].

Для отримання колоїдів феромагнітних матеріалів активно застосовують хімічні методи, зокрема розклад органометалічних сполук і випарювання металів [38]. Ще одним методом отримання стабільних феромагнітних колоїдів є використання високоінтенсивного ультразвуку [40]. Отримані таким чином колоїди характеризуються вузьким діапазоном розмірів частинок (порядку декількох нанометрів) і мають суперпарамагнітні властивості.

У результаті досліджень, проведених співробітниками ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького та Інституту електрозварювання ім. Є.О. Патона НАН України, доведено, що найбільш ефективним та економічно доцільним методом отримання ФМ є квантово-променева технологія. Спільно з авторами зазначеної розробки (керівник — академік Б.О. Мовчан) запропонована методологія переведення наночастинок у колоїдний стан, яка забезпечує високу чистоту Fe_3O_4 відносно до інших форм оксидів заліза і тривале збереження магнітного матеріалу без зміни його хімічних та магнітних властивостей. Отриманий таким чином ФМ є надійним компонентом при створенні керованих нанокомпозитів для адресної доставки лікарських препаратів у органи-мішені за допомогою зовнішнього магнітного поля [41]. Це засвідчено результатами власних досліджень, у яких до складу створеного на основі ФМ керованого нанокомпозита входив доксорубіцин — лікарський препарат, що інгібує у пухлинних клітинах синтез нуклеїнових кислот [42].

Застосування зовнішнього магнітного поля (МП) щодо феромагнітних носіїв розраховане на спрямований рух ФМ та на попередження вимивання магніточутливих носіїв з органа-мішені [25]. Зовнішнє кероване управління нанокомпозитами, створеними на основі феромагнетиків та біополімерів, може здійснюватися постійним, мінливим, імпульсним та комбінованим МП, яке забезпечує не тільки спрямовану доставку лікарського засобу, але і пролонговану його дію з повільним виведенням із пухлини [43]. Проте особливості, переваги, недоліки зазначених фізичних факторів та механізми, що забезпечують ефективність дії кожного з них на пухлину при керованому транспорті нанокомпозита, в літературі широко не обговорюються.

На сьогодні є певні відомості про те, що МП викликає різні біологічні ефекти в організмі, які проявляються на системному та органному рівні. Аналіз літератури свідчить про вплив МП на активність показників системи коагуляції та фібринолізу. Зокрема, дія МП на організм експериментальних тварин призводила до наступних змін процесу коагуляції: подовження протромбінового часу, зниження активності фактора Ха та зниження рівня тромбоцитів [44]. Іншими дослідниками [45] на тваринах з пухлиною показано зворотну залежність між силою і тривалістю експозиції МП та швидкістю капілярного кровотоку і руху тромбоцитів, а саме: під дією сильного статичного МП спостерігали пригні-

чення руху тромбоцитів у капілярах. На думку авторів, зазначені зміни впливають на мікроциркуляцію у пухлинах. В експериментах на кролях встановлено, що щоденна експозиція статичного МП з індукцією 0,005 Т, 0,12 Т і 0,3 Т протягом 1 год упродовж 2 і 4 тиж призводить до значного прискорення тромболітичного процесу, а саме — скорочення часу лізису згустку та підвищення рівня продуктів деградації фібриногену в сироватці крові [46, 47]. Автори підкреслюють, що діапазон таких змін залежить від тривалості експозиції МП. Отримані дані щодо суттєвого впливу ФМ на функціональні властивості гемопоетичних і стромальних клітин. Так, встановлено залежність колонієформуючої здатності попередників гранулоцитів і моноцитів при дії ФМ від розміру та магнітних характеристик наночастинок, від способу отримання порошку, дози, наявності зовнішнього МП [48].

У літературі з питань експериментальної та клінічної онкології недостатньо відомостей щодо використання наноконструктивів на основі ФМ для з'ясування їх ролі як векторних систем та засобів протипухлинної терапії. Тому заслуговують особливої уваги роботи по створенню магнітних носіїв з феромагнітними частинками усередині, що мають вектори та активуються при дії магнітного поля [49]. Водночас активація магнітних частинок може здійснюватися й іншими шляхами, наприклад електричними полями, рентгенівськими променями та світлом [50].

Експериментальні дослідження магнітних властивостей парамагнітних наночастинок з використанням МП з метою покращання доставки та концентрації протипухлинних препаратів у пухлинах показали, що внутрішньоартеріальне введення метотрексат-кон'югованих наночастинок у стегову артерію кролів з використанням зовнішнього МП призводило до пригнічення пухлинного росту при застосуванні дози препарату, що була вдвічі нижчою за терапевтичну. Водночас системне введення кон'югату у тій же дозі без впливу МП не виявило ефекту порівняно з контролем [51]. Аналогічна система доставки зазначеного лікарського препарату (метотрексат-кон'юговані наночастинок у поєднанні з дією МП) була апробована у 1-й фазі клінічних досліджень. Отримані результати показали толерантність пацієнтів до призначеної терапії, а також значне накопичення наночастинок у пухлинній тканині [52]. Іншими дослідниками була доведена можливість управляти ферорідинами та комплексом цитостатик — ферорідина при дії МП *in vitro* та *in vivo*. В експериментах *in vivo* спостерігали повну регресію пухлини при поєднаній дії ферорідини та епірубіцину під впливом МП з експозицією протягом 20 хв [11]. Крім того, в експериментальних дослідженнях також встановлено, що введення ліпосомальної форми доксорубіцину із ФМ при застосуванні зовнішнього електромагнітного поля призводить до зменшення розмірів солідних пухлин

та до пригнічення розвитку легеневих метастазів порівняно з аналогічними показниками у тварин, яким вводили вільний доксорубіцин без застосування зовнішнього магнітного опромінення [53].

Стосовно таких мікроелементів, як метали (особливо з мінливою валентністю), що широко розповсюджені в органах і тканинах живих істот, за допомогою сучасних методів дослідження доведено біогенне походження, зокрема для десяти залізовмісних біоелементів: оксидів, сульфатів, сульфідів та фосфатів заліза [54]. Відомо, що в організмі дорослої людини вміст біогенного заліза становить 3,5–5,0 г, з яких 65,5% знаходиться у гемоглобіні, 31,0% — у депо у вигляді залізо-білкових комплексів феритину та гемосидерину і незначна частина (3,5%) — у міоглобіні, гемвмісних ферментах та у плазмі крові [55]. Тобто залізо є невід'ємною функціонально активною частиною кожної живої клітини, що зумовлює його важливу роль у відтворенні багатьох процесів життєдіяльності в організмі людини та тварин [56]. За участю заліза здійснюються окисно-відновні та ферментативні процеси, які регулюють дихальну та метаболічну активність клітин і тканин, транспорт O_2 , активність синтезу ядерного хроматину, апоптоз [57]. Достатній вміст заліза в організмі сприяє підтримці належного рівня імунної резистентності, повноцінного функціонування неспецифічного захисту, клітинного та гуморального імунітету. Отже, біоелементи заліза розглядаються як фізіологічно активні внутрішньоклітинні регулятори [58]. Водночас зміни обміну заліза можуть стати причиною виникнення патологічних процесів [55]. Тому визначення змін з боку біогенних залізовмісних комплексів органів та тканин організму у відповідь на введення екзогенного заліза у складі біополімерних наноконструктивів та механізмів, що лежать у їх основі, є важливим питанням, оскільки відкривається перспектива спрямованої модифікації цієї відповіді у бажаному напрямку.

Існують лише поодинокі дослідження, які свідчать про можливу участь ФМ у обміні заліза біогенного походження. У експериментах *in vivo* на моделі анемії було показано, що внутрішньовенне введення суперпарамагнетичних частинок заліза призводило до відновлення показників гемоглобіну та гематокриту крові тварин. Радіоізотопне дослідження підтвердило включення ФМ у процес синтезу гемоглобіну [59].

Як вже зазначалося вище, при конструюванні лікарських наноконструктивів для спрямованої взаємодії з біополімерами пухлинних клітин велике значення набувають транспортні засоби для адресної доставки їх біологічно активних компонентів. Одним з найбільш надійних контейнерів для керованого транспорту наноконструктивів за допомогою зовнішнього МП вважаються Лс.

Існують окремі спостереження, в яких доведено, що внесення магнітних наночастинок у порожнину Лс створює умови, достатні для руху Лс проти

течії крові за рахунок зовнішнього МП, і швидкість їх руху у кровоносному руслі дорівнює швидкості крові у капілярах [60]. У поодиноких клінічних дослідженнях, у яких при лікуванні онкологічних хворих використовували ліпосомальну форму нано-ФМ у комбінації з протипухлинним препаратом та керованим зовнішнім МП, показано позитивний терапевтичний ефект. Так, встановлено, що концентрація доксорубіцину в остеосаркомі людини при введенні його у нанокompозиті у 4 рази перевищувала таку при використанні вільної форми цитостатика. Крім того, спостерігали значне зниження побічних ефектів доксорубіцину [61, 62]. Отже, вивчення ліпосомальної форми нанокompозитів із керованим транспортом за допомогою МП, до складу яких входять ФМ та цитостатик, є перспективним, оскільки Лс завдяки своїй спорідненості з ліпідними компонентами плазматичних мембран клітин забезпечують безперешкодне перенесення активних агентів до мішені їх дії та акумулюються у пухлинній тканині, а МП виступає як вектор, що підсилює ці ефекти [63–65].

Перший опис утворення у водній фазі рідиннокристалічних ліпідних структур, які пізніше отримали назву «ліпосоми», відноситься до 1965 р. [66]. Численними дослідженнями було показано, що Лс отримують при дії ультразвуку на розчин фосфоліпідів [67–69]. Лс — це сферичні ліпідні везикули, до складу яких входять різні ліцетини (фосфатидилхоліні, фосфатидилсерини та фосфатидилетаноламіни), специфічні глікопептиди, а також холестерин, який є стероїдним компонентом практично всіх клітинних мембран. Залежно від розміру та ламілярності (кількість шарів) Лс поділяють на малі оліголамілярні, великі одношарові та багатошарові везикули. Захисною «парасолькою» Лс, що забезпечує їх стабільність і тривалу циркуляцію в крові, найчастіше є поліетиленгліколь та його похідні. Взаємодія Лс з клітинами здійснюється за чотири основні механізми [63]: обмін матеріалом з клітинною мембраною; абсорбція і зв'язування Лс з клітиною; ендо- або фагоцитоз Лс; злиття Лс з плазматичною мембраною.

Переважає кількість сучасних досліджень присвячена вдосконаленню та розробці ліпосомального носія, який може бути гарантією адресної доставки та контрольованого вивільнення інкапсульованого лікарського препарату у пухлинній тканині [70, 71]. З цією метою розробляють ряд спеціалізованих Лс: імуно-Лс, до складу яких входить вектор у вигляді специфічних МкАТ; катіонні Лс із зарядженим ліпідом, який тропний до ендотелію судин; рН-чутливі Лс, які вивільняють лікарський засіб у тканинах із зниженим значенням рН; термочутливі Лс, з яких лікарський препарат вивільняється при нагріванні тканин.

Використання Лс як транспортного засобу для доставки цитостатиків у пухлину дозволяє не тільки позбавитися небажаних реакцій, пов'язаних із дією

лікарського засобу на нормальні тканини, але й запобігти його втраті та інактивації [72]. Структура та хімічні особливості Лс визначають їх розподіл у органах та тканинах, швидкість виведення з організму [73]. Зіркоподібні ретикулоендотеліоцити (купферовські клітини) печінки та макрофаги селезінки є основними місцями концентрації Лс. Найбільш надійним методом візуалізації Лс у тканині є метод заморожування — сканування, який здійснюється за допомогою електронної мікроскопії [74]. На проникність ліпосомального носія лікарського засобу у органи та тканини організму у великій мірі впливають розміри та склад Лс [75].

Вважається, що максимальний фармакологічний ефект ліпосомального нанокompозита із лікарським засобом може бути досягнутий тільки у разі значного вмісту його у Лс [76]. Слід зауважити, що на процес взаємодії нанокompозита із біополімерами пухлинної клітини істотно впливає склад Лс, морфологічний тип клітини, наявність у ній специфічних рецепторів та інші чинники [77]. У Лс може бути включено практично будь-яку активну сполуку. При цьому водорозчинні препарати потрапляють до їх внутрішньої фази, а ліофільні сполуки включаються у біслоюну мембрану. Як транспортний засіб для лікарських препаратів Лс мають ряд переваг [78]. Це, насамперед, можливість включення в них малорозчинних і токсичних речовин; біологічна сумісність з ферментами та імунною системою організму; особлива сукупність біологічних властивостей, характерних для функцій клітинної мембрани; адгезивність; стимуляція фагоцитозу; імуностимулювальний або імуносупресивний (залежно від складу Лс) ефекти. Доведено, що стабільність та плинність Лс визначається співвідношенням у їх складі фосфоліпідів та холестерину. Через низький вміст холестерину стабільність Лс у крові знижується [79].

Крім того, доведено, що Лс притаманні антиоксидантні властивості. При вивченні біологічних ефектів Лс в умовах тканинної гіпоксії було встановлено, що при їх застосуванні підвищується резистентність організму до гіпоксичного ушкодження за рахунок інгібування процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Цей ефект Лс може бути зумовлений прямим неферментним інгібуванням ПОЛ за рахунок фосфатидилхоліну завдяки його антиоксидантним властивостям або за рахунок опосередкованої антиоксидантної дії Лс внаслідок використання надлишку нікотинаміддинуклеотиду [80]. Отже, зазначені механізми дії Лс та їх ефекти роблять ці біополімерні системи досить перспективними для використання у будь-якій галузі медицини, особливо в онкології.

Як вже було зазначено, хіміотерапевтичні препарати мають високу загальну токсичність, що суттєво обмежує ефективність лікування онкологічних хворих. Включення їх до складу Лс дозволить знизити токсичну дію цих препаратів на організм у цілому, в першу чергу за рахунок зниження концент-

рації вільного препарату у кровотоці. Поряд з цим Лс, які мають діаметр, менший за 100–150 нм, здатні накопичуватись у пухлинах та вогнищах запалення завдяки ефекту пасивного транспорту, який зумовлений підвищеною проникністю дефектних стінок капілярів [81]. Крім того, інтерес до Лс як до систем доставки ліків в останні роки зріс у зв'язку з розробкою нових методів отримання Лс, захищених від опсонізації та швидкого виведення із кровотоку клітинами ретикулоендотеліальної системи. Цей недолік усувається за рахунок екранування поверхні Лс високогідрофільними залишками поліетиленгліколю, які ковалентно зв'язані з молекулами ліпідів, що входять до складу мембрани. У результаті утворюються так звані Stealth-Лс (Лс-невидимки), тобто Лс, які не розпізнаються клітинами імунної системи [82]. Такий захист Лс є першим кроком на шляху до спрямованого їх транспорту. Другим, вирішальним кроком на шляху до створення наноконструкцій з використанням біополімерів, є ковалентне приєднання до поверхні Лс специфічних лігандів. Як ліганди для спрямованого транспорту ліпосомальних нанобіополімерних систем можуть бути використані МкАТ або Fab'-фрагменти МкАТ [83]. Крім того, для покращання терапевтичного ефекту ліпосомальної форми лікарських засобів, зокрема доксорубіцину, застосовується фолат-опосередкований транспорт Лс, який забезпечується шляхом їх модифікації фоліевою кислотою [84].

Для підвищення ефективності дії хіміопрепаратів, які є складовою нанобіополімерного комплексу, запропоновано застосування гіпертермії, завдяки якій при локальному нагріванні пухлини до 41–45 °С сконцентровані у пухлині Лс набувають термочутливості і здатності руйнуватись із звільненням лікарського засобу у цитоплазму клітин [85, 86]. Показано, що швидкість термозалежного (40–42 °С) розриву Лс та вихід лікарського препарату в оточуюче середовище залежить від осмотичного тиску водної фази Лс по відношенню до тиску оточуючого розчину [87]. З метою посилення гіпертермічного ефекту може використовуватись електромагнітне поле [88, 89].

Таким чином, існуючі фундаментальні розробки у галузі нанотехнологій відкривають перед дослідниками-онкологами великі можливості для створення керованих зовнішнім МП біополімерних наносистем, до складу яких будуть входити Лс, стабілізовані наночастинки ФМ та лікарські препарати для цілеспрямованої доставки у пухлинні клітини. Водночас широкому застосуванню таких систем у клінічній практиці повинні передувати багатопланові експериментальні дослідження для з'ясування особливостей та механізмів взаємодії між наноконструкціями, ферментними та білково-нуклеїновими комплексами пухлинних клітин, оскільки така взаємодія, безперечно, має призвести до модифікації молекулярної сітки внутрішньоклітинних сигнальних каскадів і тим самим сприяти забезпечен-

ню вибіркової дії нового покоління лікарських форм протипухлинних препаратів. Зазначений напрямок експериментальних досліджень може стати вирішальним кроком на шляху до подолання лікарської резистентності злоякісних новоутворень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Глик Б, Пастернак Дж. ДНК, РНК и синтез белка. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Москва: Мир, 2002: 29–49.
2. Осинский СП, Глузман ДФ, Клифф Й и др. Молекулярная диагностика опухолей: фундаментальные основы и практическое применение / Под ред ВФ Чехуна / Киев: ДИА, 2007. 246 с.
3. Переводчикова НИ. Современные возможности химиотерапии. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. Москва: Практ мед, 2005: 26–32.
4. Nygren P, Larsson R. Overview of the clinical efficacy of investigational anticancer drugs. *J Int Med* 2003; **53** (2): 46–75.
5. Чехун ВФ, Шишова ЮВ. Современные взгляды на механизмы формирования лекарственной устойчивости опухоли. *Онкология* 2000; **2** (1–2): 11–5.
6. Baum C, Hegewisch-Becker S, Sckert NG, et al. Novel retroviral vectors for efficient expression of the multidrug resistance (mdr-1) gene in early hematopoietic cells. *J Virol* 1995; **69** (6): 7541–7.
7. Шпак АП, Горбик ПП, Чехун ВФ и др. Наноконструкты медико-биологического назначения на основе ультрадисперсного магнетита. В: Физико-химия наноконструктов и супрамолекулярных структур: Сб трудов / Под ред АП Шпака, ПП Горбика / Киев: Наук думка, 2007; **1**: 45–87.
8. Чехун ВФ. Роль інноваційних технологій у розв'язанні проблем онкології. *Вісн НАН України* 2008; **9**: 38–42.
9. Delie F. Evaluation of nano- and micro-particle uptake by the gastrointestinal tract. *Adv Drug Deliv Rev* 1998; **34** (3–4): 544–7.
10. Maxwell DJ, Taylor JR, Nie S. Self-assembled nanoparticle probes for recognition and detection of biomolecules. *J Am Chem Soc* 2002; **124** (32): 9606–12.
11. Lübbe AS, Bergemann Ch, Riess H, et al. Clinical Experiences with Magnetic Drug Targeting: A Phase I Study with 4'-Epidoxorubicin in 14 Patients with Advanced Solid Tumors. *Cancer Res* 1996; **56**: 4686–93.
12. Cuenca AG, Jiang H, Hochwald S, et al. Emerging Implications of Nanotechnology on Cancer Diagnostics and Therapeutics. *Cancer* 2006; **107** (3): 446–59.
13. Pankhurst QA, Connolly J, Jones SK, et al. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *J Phys D Appl Phys* 2003; **36**: 167–81.
14. Губин СП, Кокшаров ЮА, Хомутов ГБ и др. Магнитные наночастицы: методы получения, строение и свойства. *Успехи химии* 2005; **74** (4): 539–74.
15. Wickline SA, Lanza GM. Nanotechnology for Molecular Imaging and Targeted Therapy. *Circulation* 2003; **107**: 1092–5.
16. Levy L, Sahoo Y, Kim K-S, et al. Nanochemistry: Synthesis and Characterization of Multifunctional Nanomaterials for biological Applications. *Chem Mater* 2002; **14** (9): 3715–21.
17. Mohanraj V, Chen Y. Nanoparticles. *Trop J Pharm Res* 2005; **5** (1): 501–73.
18. Романовский БВ, Макшина ЕВ. Наноконструкты как функциональные материалы. *Сорос образ журн* 2004; **8** (2): 50–5.
19. Головенко МЯ. Наномедицина: досягнення та перспективи розвитку новітніх технологій у діагностиці та лікуванні (огляд літератури). *Журн АМН України* 2007; **13** (4): 617–35.
20. Widder KJ, Morris RM, Poore G, et al. Tumor remission in Yoshida sarcoma-bearing rats by selective targeting of magnetic

albumin microspheres containing doxorubicin. Proc Natl Acad Sci USA 1981; **78**: 579–81.

21. Fortin-Ripoche J-P, Martina MS, Gazeau F, *et al.* Magnetic Targeting of Magnetoliposomes to Solid Tumors with MR Imaging Monitoring in Mice: Feasibility. Radiology 2006; **239** (2): 415–24.

22. Coper S. Nanoparticle sizing: a comparative study using atomic force microscopy, transmission electron microscopy, and ferromagnetic resonance. J Magn Magn Mater 2001; **225**: 79–83.

23. Беликов ВГ, Курегян АГ. Получение и медико-биологическое использование магнитных полей и носителей. Хим-фарм журн 2001; **35** (2): 27–34.

24. Babincova M, Cicmanec P, Altanerova V, *et al.* AC-magnetic field controlled drug release from magnetoliposomes: design of a method for site-specific chemotherapy. Bioelectrochemistry 2002; **55**: 17–9.

25. Горбик ПП, Гречко ЛГ, Чуйко ОО. Деякі питання магнітонаправленого транспорту ліків в кровоносних судинах. Вісн Київ ун-ту. Сер фіз-мат наук 2003; **3**: 234–7.

26. Гречко ЛГ, Лерман ЛБ, Шкода НГ. Багаточастотний еліпсоїд в електростатичному полі. Вісн Київ ун-ту. Сер фіз-мат науки 2004; **1**: 386–93.

27. McNeil SE. Nanotechnology for the biologist. J Leukocyte Biol 2005; **78**: 585–92.

28. Zhang H, Moore LR, Zborowski M, *et al.* Establishment and implications of a characterization method for magnetic nanoparticle using cell tracking velocimetry and magnetic susceptibility modified solutions. Analyst 2005; **130** (4): 514–27.

29. Berry C, Curtis A. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. J Phys D Appl Phys 2003; **36**.

30. Hong J, Gong P, Xu D, *et al.* Stabilization of chymotrypsin by covalent immobilization on amine-functionalized superparamagnetic nanogel. J Biotechnol 2007; **128** (3): 597–605.

31. Koneracká M, Korčanský P, Timko M, *et al.* Direct binding procedure of proteins and enzymes to fine magnetic particles. J Magn Magn Mater 2002; **252**: 409.

32. Lacava LM, Lacava ZG, Da Silva MF, *et al.* Magnetic resonance of a dextran-coated magnetic fluid intravenously administered in mice. Biophys J 2001; **80** (5) 2483–6.

33. Yoo HS, Lee KH, Oh JE, *et al.* *In vitro* and *in vivo* antitumor activities of nanoparticles based on doxorubicin-PLGA conjugates. J Control Release 2000; **68** (3): 419–31.

34. Bruce IJ, Sen T. Surface Modification of magnetic nanoparticles with alkoxysilanes and their application in magnetic bioseparations. Langmuir 2005; **21**: 7029–35.

35. Zhang Y, Kohler N, Zhang M. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake. Biomaterials 2002; **23**: 1553–61.

36. Mac Kenzie EL, Iwazaki K, Tsuji Y. Intracellular mechanisms to health implications. Antioxid Redox Signal 2008; **10** (6): 997–1030.

37. Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC. Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. Pharmacol Rev 2001; **53**: 283–318.

38. Ткачев А, Золотухин И. Аппаратура и методы синтеза твердотельных наноструктур. Москва: Машиностроение-1, 2007. 315 с.

39. Gonsalves KE, Li H, Santiago P. Synthesis of acicular iron oxide nanoparticles and their dispersion in a polymer matrix. J Mater Sci 2001; **36** (10): 2461–71.

40. Arruebo M, Fernandez-Pacheco R, Ibarra R, *et al.* Magnetic nanoparticles for drug delivery. Nano Today 2007; **2** (3) 22–32.

41. Мовчан БА. Електронно-лучевая нанотехнология и новые материалы в медицине — первые шаги. Вісн фармакол фармації 2007; **12** (5): 5–13.

42. Chekhun VF, Kulik GI, Todor IN, *et al.* The influence of ferromagnetic nanoparticles on antitumor effects of doxorubicin in Ehrlich ascitic carcinoma-bearing mice German-Ukrainian Symp

Nanosci Nanotechnol. Abstracts of German-Ukrainian Symposium on Nanoscience and Nanotechnology. Essen, 2008: 72.

43. Goldberg M, Langer R, Jia X. Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering. J Biomater Sci Polym Ed 2007; **3** (18): 241–68.

44. Ciejka E, Goraca A, Michalska M, *et al.* The effect of low magnetic field on select parameters of blood coagulation. Pol Merkuri Lekarski 2005; **19** (110): 148–51.

45. Strieth S, Strelczyk D, Eichhorn ME, *et al.* Static magnetic fields induce blood flow decrease and platelet adherence in tumor microvessels. Cancer Biol Ther 2008; **7** (6): 814–9.

46. Gorczyńska E. The effect of static magnetic field on fibrinogen degradation products level in rabbits with thrombosis. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol 1986; **30** (3): 269–73.

47. Gorczyńska E. Dynamics of the thrombolytic process under conditions of a constant magnetic field. Phys Physiol Meas 1986; **7** (3): 225–35.

48. Khlusov IA, Zagrebin LV, Shestov SS, *et al.* Colony-forming activity of unipotent hemopoietic precursors under the effect of nanosized ferrites in a constant magnetic field *in vitro*. Bull Exp Biol Med 2008; **145** (1): 151–7.

49. Брусенцов НА, Брусенцова ТН, Филинова ЕЮ. Принципы магнитогидродинамической термохимиотерапии злокачественных опухолей (Обзор). Хим-фарм журн 2007; **41** (9): 3–8.

50. Рымарчук ВИ, Маленков АГ, Радкевич ЛА и др. Физические основы применения ферромагнетиков, введенных в организм. Биофизика 1990; **35** (1): 145–54.

51. Alexiou C, Arnold W, Klein RI, *et al.* Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting. Cancer Res 2000; **60**: 6641–8.

52. Lübke AS, Alexiou C, Bergemann C. Clinical applications of magnetic drug targeting. J Surg Res 2001; **95**: 200–6.

53. Nabuto H, Sugita T, Kubo T, *et al.* Evaluation of systemic chemotherapy with magnetic liposomal doxorubicin and a dipole external electromagnet. Int J Cancer 2004; **109** (4): 627–35.

54. Биогенный магнетит и магниторецепция. Новое о биомagnetизме / Под ред Дж Киришвинка, ДДжонса, Б МакФаддена / Москва: Мир, 1989; **1**: 352 с.

55. Березов ТТ, Коровкин БФ. Биологическая химия. Издание второе, переработанное и дополненное. Москва: Медицина, 1990: 394–8.

56. Горбачев ВВ, Горбачева ВН. Витамины. Микро- и макроэлементы (Справочник). Минск: Книжный дом. Интерпрессервис, 2002: 352–79.

57. Aisen P, Enns C, Wessling-Resnick M. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. Int J Biochem Cell Biol 2001; **33** (10): 940–59.

58. Белоус АМ, Конник КТ. Физиологическая роль железа. Киев: Наук думка, 1991. 104 с.

59. Weissleder R, Stark DD, Engelstad BL, *et al.* Superparamagnetic iron oxide: Pharmacokinetics and toxicity. AJR 1989; **152**: 167–73.

60. Ito A, Shhinkai M, Honda H, *et al.* Medical Application of Functionalized Magnetic Nanoparticles. J Biosci Bioengin 2005; **100** (1): 1–11.

61. Kubo T, Sugita T, Shimose S, *et al.* Targeted systemic chemotherapy using magnetic liposomes with incorporated adriamycin for osteosarcoma in hamsters. Int J Oncol 2001; **18** (1): 121–5.

62. Babincová M, Altanerová V, Altaner C, *et al.* *In vivo* heating of magnetic nanoparticles in alternating magnetic field. Med Phys 2004; **8** (31): 2219–21.

63. Березов ТТ, Яглова НВ, Дмитриева ТБ и др. Направленный транспорт лекарственных средств с помощью липосом. Вестн Рос акад мед наук 2004; **3**: 42–6.

64. Fenske DB, Cullis PR. Liposomal nanomedicinas. Expert Opin Drug Deliv 2008; **5** (5): 25–44.

65. Häfeli UO. Magnetically modulated therapeutic systems. Int J Pharm 2004; **277** (1–2): 19–24.

66. **Bangham AD, Standist MM, Watkins JC.** Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J Mol Biol* 1985; **13** (4): 238–52.
67. **Фендлер ДжХ.** Оптимізація включення лікарських препаратів в ліпосоми. Хімічні та біофізичні підходи. В кн *Ліпосоми в біологічних системах* / Под ред Г Григоріадіса, А Аллісона / Москва: Медицина, 1983: 94–106.
68. **Стефанов АВ, Ляшко ВК, Шевченко АВ і др.** Стабільність і всасування ліпосом з включеним інсуліном в тонкому кишечнику. *Укр біохім журн* 1986; **58** (2): 64–9.
69. **Голубчикова НА.** Вплив підкожного введення ліпосом на функціональне стан органів і систем експериментальних тварин. *Вістн акад мед наук СССР* 1990; **6**: 32–6.
70. **Барышников АЮ, Оборотова НА.** Імуно-ліпосоми — нові засоби доставки лікарських препаратів. *Совр онкол* 2001; **3** (2): 44–6.
71. **Dass CR, Walker TL, Burton MA, et al.** Enhanced anticancer therapy mediated by specialized liposomes. *J Pharmacol* 1997; **49**: 972–5.
72. **Managit C, Kawakami S, Nishikawa M, et al.** Targeted and sustained drug delivery using PEGylated galactosylated liposomes. *Int J Pharm* 2003; **266** (1–2): 77–84.
73. **Jang SH, Wientjes Mg, Lu D, et al.** Drug delivery and transport to solid tumors. *Pharm Res* 2003; **20**: 1337–50.
74. **Водовозова ЕЛ, Моисеева ЕВ, Гаєнко ГП і др.** Застосування ліпідних похідних хіміотерапевтичних засобів в ліпосомальних формах — метод посилення протипухлинного ефекту препаратів. *Рос біотер журн* 2008; **7** (2): 24–33.
75. **Medina C, Santos-Martinez MJ, Radomski A, et al.** Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. *Br J Pharmacol* 2007; **150**: 552–8.
76. **Couvreux P, Vauthier C.** Nanotechnology: intelligent design to treat complex disease. *Pharm Res* 2006; **23** (7): 1417–50.
77. **Чекман ІС, Савченкова ЛВ, Горчакова НО і др.** Ліпосомальні форми лікарських засобів: від експерименту до клініки. *Журн АМН України* 2006; **12** (4): 653–67.
78. **Harich MP.** Liposomes as controlled-release system. *Biochem Soc Trans* 1985; **13** (2): 513–6.
79. **Марголіс ЛБ, Бергельсон ЛД.** Ліпосоми і їх взаємодія з клітками. Москва: Наука, 1986. 240 с.
80. **Астахов ВМ, Былым ГВ, Касьянова ЗФ.** Сучасні уявлення про ліпосоми та перспективи їх застосування в акушерстві та гінекології. *Буковинський мед вісн* 2001; **4**: 169–72.
81. **Wang X, Yang L, Chen Z, et al.** Application of Nanotechnology in Cancer Therapy and Imaging. *CA Cancer J Clin* 2008; **58** (2): 97–110.
82. **Gabizon A, Schmeeda H, Barenholz Y.** Pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin: a review of animal and human studies. *Clin Pharmacokinet* 2003; **42** (5): 419–36.
83. **Okamoto OK, Perez JF.** Targeting cancer stem cells with monoclonal antibodies: a new perspective in cancer therapy and diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2008; **8** (4): 387–93.
84. **Schroeder JE, Shweky I, Shmeeda H, et al.** Folate-mediated tumor cell uptake of quantum dots entrapped in lipid nanoparticles. *J Control Release* 2007; **124** (1–2): 28–34.
85. **Iga K, Hamaguchi N, Igari Y, et al.** Heat-specific drug release of large unilamellar vesicle as hyperthermia-mediated targeted delivery. *Int J Pharmacol* 1989; **57** (3): 241–51.
86. **Kong G, Dewhirst M.** Hyperthermia and liposomes. *Int J Hypertherm* 1999; **15**: 345–70.
87. **Gaber MH, Hong K, Huang SK, et al.** Thermosensitive sterically stabilized liposomes: formulation and *in vivo* studies of mechanisms of doxorubicin release by bovine serum and human plasma. *Pharmac Res* 1995; **12**: 1407–16.
88. **Shinkai M, Suzuki M, Iijima S, et al.** Antibody-conjugated magnetoliposomes for targeting cancer cells and their application in hyperthermia. *Biotech Applied Biochem* 1995; **21**: 125–37.
89. **Shinkai M, Yanase M, Honda H, et al.** Intracellular hyperthermia for cancer using magnetic cationic liposomes: *in vitro* study. *Jap J Cancer Res* 1996; **87** (1): 1179–83.

REALITIES AND PROSPECTS OF DEVELOPING NANOSYSTEMS FOR TARGETED DELIVERY OF DRUGS TO CANCER CELLS

L.A. Naleskina, N.V. Borodai, V.F. Chekhun

Summary. *The search for the new approaches in cancer therapy is of high importance taking into account the high toxicity of the existing cancer treatment modalities and the resistance of cancer cells to chemotherapeutic agents. The nanocompositions based on nanoferrromagnetics and liposomal carriers may be advantageous for the targeted delivery of drugs to cancer cells. The requirements for the nanosystems managed by the external magnetic field and the problems pertaining to the design of nanosystems comprising nanoferrromagnetics and liposomal carriers are discussed. The role and the first achievements of the fundamental research as the important step towards the development of the novel medicinal nanoconstructs are elucidated. The outlooks of the improvement of the nanosystems for the targeted delivery of drugs to cancer cells as well as the advantages of their use are considered.*

Key Words: tumor, drug resistance, nanosystems, ferromagnetics, liposomes, magnetic field, targeted delivery of drugs.

Адреса для листування:

Налескіна Л.А.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України