

## ЛИПОСОМЫ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

А.О. Райков<sup>1</sup>, А. Хашем<sup>1</sup>, М.А. Барышникова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России; Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

<sup>2</sup>ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Мария Анатольевна Барышникова [ma\\_ba@mail.ru](mailto:ma_ba@mail.ru)

*Направленная доставка противоопухолевых препаратов к опухолевым клеткам-мишеням кажется весьма многообещающим способом терапии злокачественных новообразований. Исследования по применению иммунолипосом в качестве наноконтейнеров для лекарств начались еще в 90-е гг. XX в. Иммунолипосомальная лекарственная форма противоопухолевых лекарств имеет преимущества перед традиционными лекарственными формами: благодаря липидной оболочке снижается токсичность препарата, за счет селективной доставки в опухолевую ткань повышается его биодоступность. Однако, несмотря на эти преимущества, на сегодняшний день иммунолипосомальные препараты не используются в клинике.*

*В обзоре рассматриваются современные исследования в области разработки и изучения иммунолипосомальных противоопухолевых препаратов и мишеней для направленной доставки.*

**Ключевые слова:** липосомы, иммунолипосомы, направленная доставка, противоопухолевая лекарственная терапия

DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-2-90-96

### LIPOSOMES AS TARGET DELIVERY OF ANTITUMOR DRUGS

A.O. Raikov<sup>1</sup>, A. Hashem<sup>1</sup>, M.A. Baryshnikova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>I. M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8/2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia;

<sup>2</sup>N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashyrskoe shosse, Moscow, 115478, Russia

*Target delivery of antitumor drugs to cancer cells seems to be the very promising way of cancer therapy. The study on the application of immunoliposomes as nanocontainers for anticancer drugs started in the 90-ies. Immunoliposomal drug formulations of antitumor preparations have some advantages over traditional forms of drugs: lipid capsule reduces toxicity of drug due to the selective delivery to tumor and improves its bioavailability. However, despite these benefits, at present immunoliposomal drugs application is limited in the clinic.*

*This review discusses current research status in field of development immunoliposomes and the possible targets for anticancer immunoliposomes.*

**Key words:** liposomes, immunoliposomes, target delivery, antitumor drug therapy

#### Введение

Одной из ключевых проблем лечения злокачественных новообразований является обеспечение доставки противоопухолевых лекарств непосредственно в опухолевую ткань больного для повышения терапевтической активности лекарственных препаратов и минимизации неспецифических побочных эффектов. Таргетная доставка лекарственных веществ — один из способов решения этой проблемы. С начала XX в. мировая наука размышляет о создании лекарственных средств, которые оказывали бы направленное действие на определенные мишени в организме человека. Идея «волшебной пули», предложенная Paul Ehrlich в начале XX в., заключалась в том, что одна

часть лекарства должна опознавать мишень в организме и связываться с ней, в то время как другая часть должна проявлять терапевтическую активность относительно этой мишени. С открытием антител направленная доставка и действие препарата в организме человека стали возможными.

Одновременно с развитием идеи направленной доставки лекарственных веществ происходила эволюция научного знания в сфере молекулярной структуры биологических мембран. В 1917 г. I. Langmuir описывал биологические мембраны как слой, толщиной в 1 молекулу [1]. Спустя 8 лет, в 1925 г., E. Gorter и F. Grendel в своих исследованиях сделали вывод о том, что мембраны представлены липидным би-

слоем [2], а позже J.F. Danielli и H. Davson предложили модель, в которой липидный бислой зажат между двумя слоями развернутых белков, так называемую бутербродную модель [3]. Существующая в настоящее время жидкостно-мозаичная модель была предложена S.J. Singer и G.L. Nicolson в 1972 г. [4]. Открытие липосом, сделанное A.D. Bangham в середине 60-х гг., и их сходство с клеточными мембранами предоставило клеточным биологам уникальный инструмент для исследования функций клеточных мембран [5]. Однако в то время липосомы как структура считались главным образом удобной биологической моделью, их потенциал в качестве лекарственной формы был впервые показан G. Gregoriadis и соавт. в работах по включению ферментов в липосомальные структуры для лечения болезней обмена [6–8]. В дальнейшем G. Gregoriadis подчеркнул значимость липосом для биологии и медицины [9]. С биомедицинской точки зрения липосомы обладают рядом полезных свойств: биосовместимостью, малой активностью в отношении антигенных, пирогенных, аллергических и токсических реакций, простой биodeградацией, защитой внутреннего содержимого от инактивирующих воздействий физиологических жидкостей и способностью доставки лекарственных веществ внутрь клеток.

### Строение липосом

Липосомы представляют собой наноразмерные коллоидные сферы из липидного слоя, окружающего активное лекарственное вещество [10–12]. Липосомальные лекарственные формы, как правило, состоят из фосфолипидов, амфифильных по своей природе благодаря тому, что имеют гидрофильную полярную головку, обладающую сродством к молекулам воды, и неполярные углеводородные цепи, имеющие гидрофобный характер. Свойства фосфолипидных молекул позволяют им самопроизвольно образовывать в воде бислоиные липидные мембраны [10, 13]. Форма и размер образующихся в воде липосом зависят от множества факторов (кислотности среды, присутствия солей и т. д.). Липосомы не всегда принимают глобулярную форму, часто они могут иметь вид длинных и тонких трубок (тубулярные липосомы) или уплощенных дискообразных структур (дискомы) [14]. Тем не менее липосомы практически всегда содержат внутри себя полость, заполненную водой, так называемое гидрофильное ядро. Основным преимуществом липосом является способность включать в себя различные вещества, практически без каких-либо ограничений в отношении их химической природы, размеров молекул и свойств, что дает уникальный инструмент для решения многих медицинских проблем [15]. Спектр веществ, которые могут быть включены в состав липосомальных форм,

весьма широк – от неорганических ионов и низкомолекулярных органических соединений до крупных белков и нуклеиновых кислот. Липосомы могут быть заполнены антибиотиками, гормонами, ферментами, иммуномодуляторами, цитостатиками, противовирусными и противогрибковыми препаратами, витаминами, вакцинами, веществами метаболического действия и даже генетическим материалом [16–20].

Эволюционным продолжением концепции доставки лекарственных веществ с помощью липосом стала идея модификации липосомальной мембраны: присоединения к поверхности липосом определенных лигандов с целью повышения специфичности действия и направленной доставки к тканям-мишеням. Данный подход широко распространен в настоящее время [21–23].

После введения *in vivo* обычные липосомы (ОЛ) адсорбируют на своей поверхности молекулы опсопинов в ходе процесса, называемого опсонизацией, в результате чего происходят распознавание и захват липосом клетками ретикуло-эндотелиальной системы и быстрое удаление их из кровеносного русла [24, 25]. Модификация поверхности липосом гидрофильными полимерами, например полиэтиленгликолем (ПЭГ), снижает взаимодействие с опсонинами сыворотки крови и увеличивает время циркуляции липосом в кровеносном русле [26]. Разработка таких, покрытых ПЭГ липосом, также известных как стерически стабилизированные липосомы (ССЛ), показала, что они имеют серьезный потенциал для дальнейшего использования и клинического применения [12]. ПЭГ оказался наиболее удобным полимером для защиты липосомальных частиц благодаря своим качествам: простоте изготовления, относительно низкой цене, возможности контроля молекулярной массы и способности связывания с липидами или белками, включая антитела [27].

Капиллярные аномалии и наличие прерывистого эндотелия в опухолевой ткани способствуют накоплению липосом во внутритканевом пространстве солидных опухолей. Данное явление описано в зарубежной литературе как EPR-эффект – «эффект повышенной проницаемости сосудов» [28]. Было показано, что включение противоопухолевых препаратов в ССЛ увеличивает их накопление в опухолевой ткани, где липосомальные структуры имеют возможность непрерывно высвобождать лекарственное вещество [12].

### Модификация липосом для направленной доставки

Одной из стратегий повышения терапевтической эффективности противоопухолевых препаратов является «активный» или так называемый лиганд-опосредованный транспорт липосомальных препаратов [29–31]. Для обеспечения направленного транспорта липосом к клеткам-мишеням было предложено мо-

дифицировать поверхность липосом лигандами, специфически связывающимися с антигенами на поверхности клетки. Такая структура получила название иммунолипосомы.

Процесс направленной доставки препарата с помощью иммунолипосом можно разделить на 2 фазы: транспортную, во время которой липосомы от места введения перемещаются к клеткам-мишеням, и эффекторную, во время которой происходят специфическое связывание иммунолипосом с клетками-мишенями и последующая внутриклеточная доставка препарата, загруженного в липосомы [32].

Существует множество различных методов, позволяющих использовать антитела, их фрагменты, гликопротеины, углеводы и факторы роста для таргетной доставки липосом к опухолевым клеткам [33]. Широкие возможности для развития направленной доставки лекарств открыла гибридная технология, предложенная G. Kohler и C. Milstein в 1975 г. [34]. В настоящее время разработано и производится множество антител к различным мишеням, представленным на поверхности опухолевых клеток [31, 35].

Разработанные ранее иммунолипосомальные конструкции можно разделить на 3 типа:

- А: моноклональные антитела (МКА) ковалентно связаны с поверхностью ОЛ;
- В: МКА ковалентно связаны с поверхностью ССЛ;
- С: МКА связаны с цепями ПЭГ на поверхности ССЛ [29].

Самым эффективным и распространенным в настоящее время стал 3-й тип (С), ввиду того что он сочетает в себе сохранение эффективности закрепленных МКА и максимальную защиту от захвата ретикуло-эндотелиальной системой [35–38].

Существует множество методов присоединения МКА к дистальному концу ПЭГ-липидных конъюгатов [39]. Наибольшее распространение получили методы, основанные на ковалентном связывании антител с использованием 3 химических реакций: реакции между активированными карбоксильными группами, приводящей к образованию амидной связи; реакции между пиридилдитиолами и тиолами, результатом которой является образование дисульфидных связей; реакции между малеимидными производными и тиолами, с образованием тиоэфирных связей [40]. Широкое распространение получил постинсерционный метод, суть которого состоит в конъюгации векторных лигандов к пегилированным мицеллам, которые затем встраивают в предварительно полученные липосомы путем простой инкубации [41]. Плюсом данного подхода является возможность изменять условия изготовления липосом независимо от условий присоединения лигандов. Однако большинство методов, указанных выше, требуют пред-

варительной модификации антител и предполагают использование токсичных промежуточных продуктов. В связи с этим для упрощения процедуры присоединения лигандов, содержащих аминогруппы, и минимизации использования токсичных соединений было предложено использование амфифильного производного *p*-нитрофенилкарбонил-ПЭГ-ФЭА (pNP-PEG-PE) [42]. Особенностью применения данного соединения является то, что реакция между pNP-группой и лигандом протекает легко и количественно в растворе с pH 8,0, при этом свободные pNP-группы элиминируются посредством гидролиза.

Имунолипосомальные лекарственные формы сохраняют положительные качества липосомальных лекарственных форм: снижение токсичности препаратов, повышение биодоступности, биосовместимость, легкую биodeградацию и транспорт препарата в клетки. В то же время модификация липосомальных конструкций посредством антител теоретически позволяет повысить их эффективность и селективность по отношению к клеткам злокачественных новообразований.

#### **Мишени для направленной доставки иммунолипосомальных препаратов**

Лечение онкологических заболеваний с помощью традиционных лекарственных форм химиопрепаратов не всегда успешно, так как в результате не удается устранить агрессивные клоны опухолевых клеток, которые отвечают за формирование лекарственной устойчивости, рецидив опухоли и прогрессирование заболевания. Включение химиотерапевтических агентов в иммунолипосомы позволяет с помощью МКА нацеливать химиопрепараты именно на химиорезистентные опухолевые клетки. E. Fernandes и соавт. провели обзор доклинических и клинических испытаний иммунолипосомальных препаратов для лечения онкологических заболеваний органов желудочно-кишечного тракта. Анализ 47 исследований показал, что использование направляющих лигандов повышает эффективность нанопрепаратов при одновременном снижении побочных эффектов [43].

В настоящее время в качестве мишеней для направленной доставки липосомальных препаратов в опухоль рассматриваются рецепторы трансферрина, VEGF, VEGFR, EGFR, HER2 и др.

M. L. Kreiger и соавт. показали, что цисплатин, заключенный в иммунолипосомы, направленные к рецептору трансферрина, преодолевает лекарственную резистентность, индуцированную свободным цисплатином [44]. Это связано с тем, что механизм действия иммунолипосомального цисплатина отличается от свободного препарата [45]. Провели транскриптомный анализ устойчивых к цисплатину клеток после воздействия свободным и иммунолипосомальным цисплатином, в результате чего было обнаружено,

что иммунолипосомальный цисплатин индуцировал повреждение ДНК и экспрессию генов сигнальных путей внешнего апоптоза (*TNFRSF10B-DR5*, *CD70-TNFSF7*, *CD95/Fas*), тогда как свободный цисплатин индуцировал экспрессию генов митохондриального пути апоптоза (*BAX*, *BID*, *CASP9*). В последующих экспериментах с применением ингибиторов каспаз-8 и -9 показано, что иммунолипосомальный цисплатин действительно индуцировал каспаза-8-зависимый сигнальный путь внешнего апоптоза [46].

M. Gregori и соавт. в своей работе показали, что антитела к рецептору трансферрина улучшают способность наночастиц преодолевать гематоэнцефалический барьер и переносить лекарства из крови в мозг [47].

Группа исследователей [48] разработала новые иммунолипосомы, конъюгированные с антителами к VEGF, загруженные паклитакселом — химиотерапевтическим агентом с антиангиогенной активностью. Пегилированные липосомы были приготовлены с использованием метода тонкопленочной гидратации из соответствующих количеств соевого фосфатидилхолина, холестерина, mPEG2000-DSPE в молярном соотношении 90:10:5. Затем полученные липосомы конъюгировали с моноклональными антителами к VEGF в соотношении 6,65 мг анти-VEGF / 1 мкмоль Mal-PEG2000-DSPE, получив полностью стабильные анти-VEGF-иммунолипосомы. Противоопухолевую активность полученного препарата оценивали на мышинной модели BALB/c nude с ксенографтами SGC-7901. Анти-VEGF-иммунолипосомы визуализировали внутри опухоли, и также был показан их захват опухолевыми клетками. Противоопухолевый эффект анти-VEGF-иммунолипосомального паклитаксела был выше, чем у коммерческого препарата Таксол и немодифицированных антителами липосом. Иммуногистохимический анализ опухолевой ткани показал более слабые сигналы VEGF и CD31 после лечения анти-VEGF-иммунолипосомальным паклитакселом в сравнении с обычным липосомальным паклитакселом. Также были отмечены более низкая концентрация Ki67-меченых клеток и большее количество TUNEL-положительных клеток. Таким образом, анти-VEGF-иммунолипосомы эффективно доставляют лекарство в опухоль и ингибируют ее рост [48].

Цетуксимаб — МКА к рецептору эпидермального фактора роста EGFR, можно использовать для направленной доставки липосомальных препаратов к EGFR, который экспрессируется во многих видах солидных опухолей. Y.D. Limasale и соавт. разработали анти-EGFR-иммунолипосомы, нагруженные целекоксибом, селективным ингибитором COX-2 сигнального пути. Циклооксигеназа-2 высоко экспрессируется многими опухолями, и ее ингибирование является одной из стратегий терапии рака. Было показано, что липосомальные системы доставки увеличивают тера-

певтическую эффективность целекоксиба и снижают его побочные эффекты. Анти-EGFR-иммунолипосомы имели размер 120 нм, включение целекоксиба 40 %. Исследования на клеточных линиях показали, что иммунолипосомы, в отличие от обычных липосом, захватывались EGFR-положительными клетками и были гораздо более токсичными для этих клеток, однако не действовали на EGFR-отрицательные клетки. Селективная доставка целекоксиба анти-EGFR-иммунолипосомами — многообещающая стратегия лечения EGFR-положительных опухолей [49]. Однако для анти-EGFR-иммунолипосом с доксорубицином получен противоположный эффект. На клеточных линиях карциномы яичников SKOV-3 и SKOV3. ip1. показано, что иммунолипосомы связывались с клетками *in vitro*, однако разницы в цитотоксичности между таргетными и нетаргетными липосомами не наблюдалось [50]. Авторы предположили, что это связано с плохим высвобождением доксорубина из липосом. Обеспечение высвобождения препарата из наноносителей после доставки к клеткам-мишеням является важным фактором для успешной терапии.

Для подтверждения возможности использования анти-EGFR-иммунолипосом в терапии глиобластомы человека синтезировали анти-EGFR-иммунолипосомы с квантовыми точками для конвенционной доставки в опухоли мозга [51]. Захват *in vitro* измеряли с помощью проточной цитометрии, а внутриклеточную локализацию визуализировали с применением конфокальной микроскопии. В исследовании *in vivo* оценили конвенционную доставку иммунолипосом с квантовыми точками в интракраниальные ксенографты и неинвазивно мониторировали флуоресценцию в реальном времени. Показаны специфический и эффективный захват иммунолипосом *in vitro* и гораздо более высокая общая флуоресценция по сравнению с нетаргетными липосомами в интракраниальных ксенографтах опухоли мозга *in vivo*. Иммунолипосомы с квантовыми точками оказались эффективным визуализирующим агентом *in vitro* и *in vivo*; подтверждено, что анти-EGFR-иммунолипосомы можно использовать для лечения глиобластомы, так как они эффективно и специфически захватываются злокачественными клетками.

Иммунолипосомы, направленные к EGFR, являются хорошей моделью для доставки фотосенсибилизаторов в фотодинамической терапии опухолей. M. Broekgaarden и соавт. показали, что конъюгация однодоменных антител к EGRF с липосомами увеличивает накопление фотосенсибилизатора в опухолевой ткани, и подтвердили эффективность фотодинамической терапии [52].

D.H. Shin и соавт. изучили эффективность термомчувствительных иммунолипосом с трастузумабом в качестве направляющего агента, нагруженных

гемцитабином, для лечения HER2-положительных опухолей молочной железы. В экспериментах *in vitro* показано преимущество иммунолипосомального препарата по сравнению со свободным гемцитабином и с традиционными липосомами, нагруженными данным препаратом [53].

Стволовые клетки опухоли (СКО) могут быть еще одной мишенью для действия иммунолипосомальных препаратов. В последнее время концепция СКО получает все большее признание. Известно, что опухоль гетерогенна по своей структуре и среди всех опухолевых клеток имеется небольшая популяция, формирующая более дифференцированные опухолевые клетки и способная к собственному воспроизведению. Эти клетки и идентифицируют как стволовые [54, 55]. СКО рассматриваются как возможная причина устойчивости злокачественных новообразований к терапии, а также рецидивирования и метастазирования опухолей [56]. Несмотря на то что терапия, направленная на СКО, только начинает развиваться, уже опубликован ряд работ с обнадеживающими результатами [57].

H. Song и соавт. разработали иммунолипосомы, содержащие винкристин, для направленной доставки к CD20-положительным клеткам меланомы [58]. CD20 – фенотип СКО меланомы, ответственных за резистентность к терапии. Винкристин обычно используется для лечения меланомы, однако было обнаружено, что он неэффективен в отношении СКО. Анти-CD20-иммунолипосомы с винкристином имели размер частиц 163 нм, эффективность включения препарата (91,8 %) и хорошие показатели высвобождения препарата. Иммунолипосомы могли успешно связываться с 55 % CD20-положительных клеток яичника китайского хомяка, даже если CD20-положительные клетки встречались в количестве 0,1 % от популяции. После обработки сфероидов меланомы WM266-4 в течение 96 ч иммунолипосомами, липосомами и свободным винкристином было показано, что иммунолипосомы с винкристином в 1,85 раза более эффективны, чем липосомальный винкристин и свободный винкристин. Анти-CD20-иммунолипосомы с винкристином селективно убивали CD20-положительные клетки в популяции WM266-4 меланомы как *in vitro*, так и *in vivo* [58].

Одной из стратегий лечения мультиформной глиобластомы является комбинированная терапия против СКО глиобластомы и ангиогенеза, в результате чего достигаются ингибирование пролиферации клеток опухоли и снижение доставки к опухолевым клеткам питательных веществ. D.H. Shin и соавт. исследовали эффективность комбинированной терапии с использованием анти-CD133 иммунолипосом, нагруженных гемцитабином, и бевацизумаба. Было показано, что анти-CD133 иммунолипосомы

способствуют усилению цитотоксичности гемцитабина *in vitro*, а комбинированное лечение иммунолипосомальным гемцитабином и бевацизумабом значительно ингибирует миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток *in vitro*. Противоопухолевая эффективность комбинации иммунолипосомального гемцитабина и бевацизумаба на мышинной модели с ксенографтом глиобластомы человека была достоверно выше, чем при монотерапии, что, предположительно, связано с усилением прямого воздействия на СКО и на ангиогенез, индуцированный СКО. Кроме того, данная комбинированная терапия увеличила общую выживаемость мышей с ксенографтами глиобластомы человека. Таким образом, комбинированная терапия анти-CD133-иммунолипосомальным гемцитабином и бевацизумабом может быть эффективной в лечении мультиформной глиобластомы [59].

Иммунолипосомы применяются также в диагностических целях. F.L. Tansi и соавт. создали иммунолипосомы, направленные к белку активации фибробластов, содержащие флуоресцентную метку для визуализации метастазов. Метастазирование остается самой частой причиной гибели онкологических больных, оно связано с поздней диагностикой заболевания, плохим ответом на терапию или не замеченными во время хирургической операции микрометастазами. Одним из подходов к преодолению проблемы метастазирования может быть флуоресцентная визуализация метастатических клеток с помощью флуоресцентных зондов во время операции. F.L. Tansi и соавт. показали, что иммунолипосомы, направленные к белку активации фибробластов, эффективно выявляли метастазы на мышинных моделях [60].

### Заключение

Предклинические и клинические исследования иммунолипосомальных препаратов проводятся на протяжении последних 20 лет, однако до сих пор ни одна иммунолипосомальная лекарственная форма не была одобрена для клинического применения. Несмотря на это, интерес к использованию иммунолипосом в лечении онкологических заболеваний не угасает, так как они позволяют повысить биодоступность препаратов, снизить их токсичность и, что очень важно, селективно доставляют препараты к опухолевым клеткам-мишеням. Сегодня интерес к иммунолипосомальным системам доставки противоопухолевых препаратов возрос, что связано с более глубоким пониманием молекулярной природы химиорезистентных видов опухолей и биологии стволовых опухолевых клеток. В недавних исследованиях, проведенных на животных, показана эффективность и безопасность новых иммунолипосомальных препаратов, однако эти данные нуждаются в подтверждении клиническими испытаниями.

## Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Langmuir I. The constitution and structural properties of solids and liquids. II. Liquids. *J Am Chem Soc* 1917;39:1848–906.
2. Gorter E., Grendel F. On bimolecular layers of lipoids on the chromocytes of the blood. *J Exp Med* 1925;41:439–43.
3. Danielli J.F., Davson H. A contribution to the theory of permeability of thin films. *J Cell Comp Physiol* 1925;5:495–508.
4. Singer S.J., Nicolson G.L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 1972;175(4023):720–31. PMID: 4333397.
5. Bangham A.D., Standish M.M., Watkins J.C. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J Mol Biol* 1965;13(1):238–52. PMID: 5859039.
6. Gregoriadis G. The carrier potential of liposomes in biology and medicine (second of two parts). *N Engl J Med* 1976;295(14):765–70. PMID: 785256.
7. Gregoriadis G., Leathwood P.D., Ryman B.E. Enzyme entrapment in liposomes. *FEBS Lett* 1971;14(2):95–9. PMID: 11945728.
8. Gregoriadis G., Ryman B.E. Liposomes as carriers of enzymes or drugs: a new approach to the treatment of storage diseases. *Biochem J* 1971;124(5):58. PMID: 5130994.
9. Gregoriadis G. Liposome research in drug delivery: the early days. *J Drug Target.* 2008;16(7):520–4. doi: 10.1080/10611860802228350. PMID: 18686120.
10. Оборотова Н.А., Толчева Е.В. Липосомы как транспортное средство для доставки биологически активных молекул. *Российский биотерапевтический журнал* 2006;5(1):54–61.
11. Lichtenberg D., Barenholz Y. Liposomes: preparation, characterisation and preservation. *Methods Biochem Anal* 1988;33:337–462. PMID: 3282152.
12. Torchilin V.P. Multifunctional nanocarriers. *Adv Drug Deliv Rev* 2006;58(14):1532–55. PMID: 17092599.
13. Барышникова М.А., Зангиева М.Т., Барышников А.Ю. Взаимодействие липидных капсул с клеткой. *Российский биотерапевтический журнал* 2013;12(1):11–5.
14. Краснопольский Ю.М., Степанов А.Е., Швец В.И. Некоторые аспекты технологии получения липосомальных форм лекарственных препаратов. *Химико-фармацевтический журнал* 1999;33(10):20–3.
15. Himanshu A., Sitasharan P., Singhai A.K. Liposomes as drug carriers. *IJPLS* 2011;2(7):945–51.
16. Ланцова А.В., Оборотова Н.А., Перетолчина Н.М. и др. Разработка и изучение стерически стабилизированной липосомальной формы лизомустина. *Российский биотерапевтический журнал* 2004;3(4):19–23.
17. Смирнова З.С., Санарова Е.В., Борисова Л.М. и др. Противоопухолевая активность фотодинамической терапии с липосомальной лекарственной формой тиосенса на перевиваемых опухолях мышей. *Российский биотерапевтический журнал* 2011;10(2):56–60.
18. Carvalho B. Single-Dose, Extended-Release Epidural Morphine (DepoDur™) Compared to Conventional Epidural Morphine for Post-Cesarean Pain. *Anesth Analg.* 2007;105(1):176–83. PMID:17578973.
19. Cullis P.R., Chonn A. Recent advances in liposome technologies and their applications for systemic gene delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 1998;30(1–3):73–83. PMID:10837603.
20. Meissner J.M., Toporkiewicz M., Matuszewicz L., Machnicka B. Liposomes as non-viral carriers for genetic drugs. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016;70:200–9. doi: 10.5604/17322693.1197371. PMID: 27117095.
21. Барышникова М.А., Барышников А.Ю. Иммунолипосомы и мишени их действия. *Российский химический журнал. Журнал Российского химического общества им. Д.И. Менделеева* 2012; LVI(3–4): 60–6.
22. Водозова Е.Л., Алексеева А.С., Кузнецова Н.Р. и др. Взаимодействие противоопухолевых липосом, несущих углеводный лиганд селектинов, с эндотелиальными клетками сосудов крови. *Российский биотерапевтический журнал* 2015;14(1):70.
23. Kuznetsova N.R., Stepanova E.V., Peretolchina N.M. et al. Targeting liposomes loaded with melphalan prodrug to tumour vasculature via the Sialyl Lewis X selectin ligand *J Drug Target* 2013 Dec 9. [Epub ahead of print] PMID: 24313904.
24. Patel H.M. Serum opsonins and liposomes: their interaction and opsonophagocytosis. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1992;9(1):39–90. PMID: 1544174.
25. Senior J.H. Fate and behaviour of liposomes *in vivo*: a review of controlling factors. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1987;3(2):123–93. PMID: 3542245.
26. Woodle M., Lasic D. Sterically stabilized liposomes. *Biochim Biophys Acta* 1992;1113(2):171–99. PMID: 1510996.
27. Kataria S., Sandhu P., Bilandi A. et al. Stealth liposomes: a review. *IJRAP* 2011;2(5):1534–8.
28. Prabhakar U., Maeda H., Jain R.K. et al. Challenges and key considerations of the enhanced permeability and retention effect for nanomedicine drug delivery in oncology. *Cancer Res* 2013;73(8):2412–7. doi: 10.1158/0008–5472. CAN-12–4561. PMID: 23423979.
29. Lammers T., Hennink W.E., Storm G. Tumour-targeted nanomedicines: principles and practice. *Br J Cancer* 2008;99(3):392–7. doi: 10.1038/sj.bjc.6604483. PMID: 18648371.
30. Park Y.S. Tumor – directed targeting of liposomes. *Biosci Rep* 2002;22(2):267–81. PMID: 12428904.
31. Sapra P., Allen T.M. Internalizing antibodies are necessary for improved therapeutic efficacy of antibody-targeted liposomal drugs. *Cancer Res* 2002;62(24):7190–4. PMID: 12499256.
32. Mastrobattista E., Koning G.A., Strom G. Immunoliposomes for the targeted delivery of antitumor drugs. *Adv Drug Deliv Rev* 1999;40(1–2):103–27. PMID: 10837783.
33. Torchilin V. Antibody-modified liposomes for cancer chemotherapy. *Expert Opin Drug Deliv* 2008;5(9):1003–25. doi: 10.1517/17425247.5.9.1003. PMID: 18754750.
34. Kohler G., Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256(5517):495–7. PMID: 1172191.
35. Зангиева М.Т., Матюшин А.А., Соколова Д.В. и др. Разработка и исследование иммунолипосомальных конструкций *in vitro*. *Российский биотерапевтический журнал* 2014;13(2):19–27.
36. Матюшин А.А., Хугаева О.В., Барышникова М.А. и др. Получение и изучение анти-CD20 иммунолипосом митоксантрона *in vitro*. *Российский биотерапевтический журнал* 2014;13(3): 15–24.
37. Матюшин А.А., Хугаева О.В., Барышникова М.А. и др. Получение и изучение анти-CD5 иммунолипосом митоксантрона *in vitro*. *Российский биотерапевтический журнал* 2015;14(1):33–42.
38. Torchilin V.P. Targeted pharmaceutical nanocarriers for cancer therapy and imaging. *AAAPS J* 2007;9(2):E128–47. PMID: 17614355.
39. Manjappa A.S., Chaudhari K.R., Venkataraju M.P. Antibody derivation and conjugation strategies: Application in preparation of stealth immunoliposome to target chemotherapeutic to tumor. *J Control Release* 2011;150(1):2–22. doi: 10.1016/j.jconrel.2010.11.002. PMID: 21095210.
40. Толчева Е.В. Создание конструкции иммунолипосомы и изучение иммунопо-

- липосомальной формы противоопухолевого препарата доксорубин: Дис. ... канд. биол. наук. М., 2007.
41. Allen T.M., Saps P., Moase E. Use of the post-insertion method for the formation of ligand-coupled liposomes. *Cell Mol Biol Lett* 2002;7(2):217–9. PMID:12097921.
42. Torchilin V.P., Levchenko T.S., Lukyanov A.N. et al. p-Nitrophenylcarbonyl-PEG-PE-liposomes: fast and simple attachment of specific ligands, including monoclonal antibodies, to distal ends of PEG chains via p-nitrophenylcarbonyl groups. *Biochim Biophys Acta* 2001;1511(2):397–411. PMID: 11286983.
43. Fernandes E., Ferreira J.A., Andreia P. et al. New trends in guided nanotherapies for digestive cancers: A systematic review. *J Control Release* 2015;209:288–307. doi: 10.1016/j.jconrel. 2015.05.003. PMID: 25957905.
44. Kreiger M.L., Eckstein N., Schneider V. et al. Overcoming cisplatin resistance of ovarian cancer cells by targeted liposomes in vitro *Int J Pharm* 2010;389(1–2):10–7. doi: 10.1016/j.ijpharm. 2009.12.061. PMID: 20060458.
45. Koch M., Krieger M.L., Stolting D. et al. Overcoming chemotherapy resistance of ovarian cancer cells by liposomal cisplatin: Molecular mechanisms unveiled by gene expression profiling. *Biochem Pharmacol* 2013;85(8):1077–90. doi: 10.1016/j.bcp. 2013.01.028. PMID: 23396090.
46. Stölting D.P., Koch M., Wiese M. et al. Liposomal cisplatin can overcome chemotherapy resistance of A2780 ovarian cancer cells by inducing the extrinsic apoptotic pathway. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2014;52(1):78–81. doi: 10.5414/CPXCES13EA03. PMID: 24290409.
47. Gregori M., Orlando A., Re F. et al. Novel antitransferrin receptor antibodies improve the blood-brain barrier crossing efficacy of immunoliposomes. *J Pharm Sci* 2016;105(1):276–83. doi: 10.1016/j.xphs. 2015.11.009. PMID: 26852859.
48. Shi C., Cao H., He W. et al. Novel drug delivery liposomes targeted with a fully human anti-VEGF165 monoclonal antibody show superior antitumor efficacy *in vivo*. *Biomed Pharmacother* 2015;73:48–57. doi: 10.1016/j.biopha. 2015.05.008. PMID: 26211582.
49. Limasale Y.D., Tezcaner A., Özen C. et al. Epidermal growth factor receptor-targeted immunoliposomes for delivery of celecoxib to cancer cells. *Int J Pharm* 2015;479(2):364–73. doi: 10.1016/j.ijpharm. 2015.01.016. PMID: 25595386.
50. Lehtinen J., Raki M., Bergström K.A. et al. Pre-targeting and direct immunotargeting of liposomal drug carriers to ovarian carcinoma. *PLoS One* 2012;7(7):e41410. doi: 10.1371/journal.pone. 0041410. PMID: 22844475.
51. Weng K.C., Hashizume R., Noble C.O. et al. Convection-enhanced delivery of targeted quantum dot-immunoliposome hybrid nanoparticles to intracranial brain tumor models. *Nanomedicine(Lond)* 2013;8(12):1913–25. doi: 10.2217/nnm. 12.209. PMID: 23631502.
52. Broekgaarden M., van Vught R., Oliveira S. et al. Site-specific conjugation of single domain antibodies to liposomes enhances photosensitizer uptake and photodynamic therapy efficacy. *Nanoscale* 2016;8(12):6490–4. doi: 10.1039/c6nr00014b. PMID:26954515.
53. Shin D.H., Koo M.J., Kim J.S., Kim J.S. Herceptin-conjugated temperature-sensitive immunoliposomes encapsulating gemcitabine for breast cancer. *Arch Pharm Res* 2016;39(3):350–8. doi: 10.1007/s12272-016-0707-y. PMID: 26781980.
54. Барышников К.А., Оборотова М.В., Барышников А.Ю. Экспрессия маркеров стволовой опухолевой клетки при злокачественных новообразованиях. *Вестник ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»* 2015;25:3–8.
55. Eaves C.J. Cancer stem cells: here, there, everywhere? *Nature* 2008;456(7222):581–2. doi: 10.1038/456581a. PMID:19052611.
56. Фармаковская М.Д., Хромова Н.В., Рыбко В.А., Копнин П.Б. Роль эпителиально-мезенхимального перехода в регуляции свойств раковых стволовых клеток солидных опухолей. *Российский биотерапевтический журнал* 2015;14(4):3–8.
57. Вартанян А.А., Оборотова М.В. Основные детерминанты стволовой клетки меланомы. *Российский биотерапевтический журнал* 2015;14(2):7–16.
58. Song H., Su X., Yang K. et al. CD20 Antibody-conjugated immunoliposomes for targeted chemotherapy of melanoma cancer initiating cells. *J Biomed Nanotechnol* 2015;11(11):1927–46. PMID: 26554153.
59. Shin D.H., Lee S.J., Kim J.S. et al. Synergistic Effect of immunoliposomal gemcitabine and bevacizumab in glioblastoma stem cell-targeted therapy. *J Biomed Nanotechnol* 2015;11(11):1989–2002. PMID: 26554157.
60. Tansi F.L., Rüter R., Böhm C. et al. Potential of activatable FAP-targeting immunoliposomes in intraoperative imaging of spontaneous metastases. *Biomaterials* 2016;88:70–82. doi: 10.1016/j.biomaterials. 2016.02.028. PMID: 26945457.