

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА КОМБИНИРОВАННЫХ ТВЕРДЫХ ЛИПИДНЫХ ЧАСТИЦ С ГЕФИТИНИБОМ И ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ НА ИХ РАЗМЕР, СТАБИЛЬНОСТЬ И ЦИТОТОКСИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

Л.Л. Николаева^{1,2}, Е.В. Санарова¹, А.П. Колпаксиди¹, С.Д. Щеглов^{1,2},
А.А. Рудакова¹, М.А. Барышникова¹, А.В. Ланцова¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский
Университет), Москва, Россия

Резюме

Создание комбинированных нанолекарств и их контролируемое высвобождение под воздействием фотоиндукции активно развивающаяся отрасль научных исследований. Данная работа посвящена разработке моделей твердых липидных наночастиц для известного противоопухолевого препарата – гефитиниба в комбинации с фотоиндицирующим агентом – фотосенсибилизатор из группы фталоцианинов. Наночастицы получали несколькими методами: горячей гомогенизацией со стеариновой кислотой, кунжутным маслом и твином 80 и путем одностадийного диспергирования с сополимерами молочной и гликолевой кислот и поливиниловым спиртом. В опытах *in vitro* при облучении частиц лазером в ближнем инфракрасном диапазоне (около 730 нм) было доказано преимущество применения комбинированных наночастиц с гефитинибом и фотосенсибилизатором по сравнению с монотерапией, при этом активность по показателю ИК₅₀ была выше в 5,1–8,7 раз для гефитиниба и в 1,5–1,8 раз для фотосенсибилизатора.

Ключевые слова: твердые липидные наночастицы, алюминия фталоцианин, гефитиниб, *in vitro*, фотоиндуцированная активность

Контакты: Николаева Л.Л., e-mail: alima91@yandex.ru

Для цитирования: Николаева Л.Л., Санарова Е.В., Колпаксиди А.П., Щеглов С.Д., Рудакова А.А., Барышникова М.А., Ланцова А.В. Влияние состава комбинированных твердых липидных частиц с гефитинибом и фотосенсибилизатором на их размер, стабильность и цитотоксическую активность // Biomedical Photonics. – 2024. – Т. 13, № 2. – С. 19–25. doi: 10.24931/2413-9432-2024-13-2-19-25.

EFFECT OF THE COMPOSITION OF COMBINED SOLID LIPID PARTICLES WITH GEFITINIB AND A PHOTSENSITIZER ON THEIR SIZE, STABILITY AND CYTOTOXIC ACTIVITY

Nikolaeva L.L.^{1,2}, Sanarova E.V.¹, Kolkaksidi A.P.¹, Shcheglov S.D.^{1,2}, Rudakova A.A.¹,
Baryshnikova M.A.¹, Lantsova A.V.¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia,
Moscow, Russia

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

The creation of combined nanomedicines and their controlled release under the influence of photoinduction is an actively developing branch of scientific research. This work is devoted to the development of models of solid lipid nanoparticles for a well-known antitumor drug – gefitinib in combination with a photoindicating agent – a photosensitizer from the phthalocyanine group. Nanoparticles were obtained by several methods: hot homogenization with stearic acid, sesame oil and Tween 80 and by one-step dispersion with copolymers of lactic and glycolic acids and polyvinyl alcohol. In vitro experiments when irradiating particles with a laser in the near-infrared range (about 730 nm) proved the advantage of using combined nanoparticles with gefitinib and a photosensitizer compared to monotherapy, while the activity in terms of IC₅₀ was 5.1–8.7 times higher for gefitinib and 1.5–1.8 times for the photosensitizer.

Key words: solid lipid nanoparticles, aluminum phthalocyanine, gefitinib, *in vitro*, photoinduced activity

Contacts: Nikolaeva L.L., e-mail: alima91@yandex.ru

For citation: Nikolaeva L.L., Sanarova E.V., Kolkaksidi A.P., Shcheglov S.D., Rudakova A.A., Baryshnikova M.A., Lantsova A.V. Effect of the composition of combined solid lipid particles with gefitinib and a photosensitizer on their size, stability and cytotoxic activity, *Biomedical Photonics*, 2024, vol. 13, no. 1, pp. 19–25. doi: 10.24931/2413-9432-2023-13-1-19-25.

Введение

После открытия первого ингибитора тирозинкиназы (ИТК) – иматиниба, последовали исследования по синтезу различных веществ с аналогичным механизмом действия. Большинство ИТК являются противоопухолевыми агентами, а некоторые используются как противовоспалительные. Однако, в процессе изучения ИТК было выяснено, что несмотря на свою эффективность, данные соединения гепатотоксичны, интенсивно метаболизируются и имеют ограниченную биодоступность, а при их приеме быстро развивается резистентность. Эти негативные аспекты могут быть нивелированы путем разработки новых поколений ИТК или за счет создания наиболее эффективных и безопасных лекарственных форм (ЛФ), в т.ч. избирательного действия [1]. Кроме того, активность ИТК может быть повышена с помощью применения в комбинации с другими противоопухолевыми препаратами.

Различные нано- и микроструктуры, в т.ч. гибридные [2] показали огромный потенциал для разработки биомаркеров и химиопрепаратов за счет их многофункциональной регулируемости и биосовместимости [3, 4]. Одним из перспективных направлений развития противоопухолевой терапии считается создание наносистем с контролируемым выделением. Например, фотоиндуцированным высвобождением, за счет включения в состав наноносителя фотосенсибилизатора (ФС), который при воздействии светом с длиной волны, поглощаемой этим ФС, активируется, что приводит к высвобождению химиопрепарата, оказывая сочетанное воздействие на опухоль. Наиболее предпочтительным при разработке подобных наноструктур является использование в качестве фотоиндуктора ФС с излучением в ближнем ИК-диапазоне спектра 700–850 нм, обладающего наибольшей способностью проникновения в биологические ткани и с низкой интенсивностью ниже 30 мВт/см² [5].

Целью настоящего исследования являлась разработка наносистемы на основе твердых липидных наночастиц (ТЛН) с химиопрепаратом гефитиниб (ГФТ) и ФС алюминия фталоцианин (АФЦ). ГФТ является ИТК и широко используется при лечении рака легких как в монотерапии, так и в сочетании с другими агентами. ГФТ плохо растворим в воде, в связи с этим в клинической практике применяется в форме таблеток, за счет этого обладает недостаточно высокой биодоступностью. Данную проблему можно решить разработкой ЛФ с ГФТ в виде наночастиц, обеспечивающей доставку лекарственного средства в опухоль за счет наноразмера, эффекта повышенной проницаемости и удержания (EPR), основанного на неоваскуляризации опухоли [6], и за счет контролируемого выхода ГФТ из наночастиц при фотовоздействии.

Материалы и методы

Материалы

ГФТ (MSN Laboratories Private Limited), АФЦ (Merck Life Science LLC), стеариновая кислота (СК, Himedia), кунжут-

ное масло (KM, Merck Life Science LLC), твин-80 (Montanox 80, Seppic), фосфатидилхолин S 100, SPC (ФХ, Lipoid), сополимер молочной и гликолевой кислот Purasorb PDLG 5010 (СПМГ, Corbion), хитозан экстра чистый (Х, Sisco Research Laboratories), поливиниловый спирт гидролизированный 88% (ПВС, Acros Organics), сахароза, чистый для анализа, трегалоза дигидрат, особо чистый, маннит, чистый для анализа (Химмед), хлороформ, химически чистый (Вектон).

Оборудование

Весы лабораторные DL-120 (AND), весы аналитические OHAUS Analytical Plus AP 100S (OHAUS Corporation), магнитная мешалка IKA® C-MAG HS 4 (IKA Werke GmbH & Co KG), вакуумный насос Büchi V-700 (BÜCHI Labortechnik AG), погружной гомогенизатор Polytron PT 1200 E (Kinematica), УЗ-гомогенизатор Bandelin Sonopuls HD 2070 (Bandelin), сублимационная сушка Edwards Minifast DO.2 (Ero Electronic S.p.A.), pH-метр HANNA pH 2211 (Hanna Instruments), спектрофотометр Cary 100 (Agilent Technologies).

Методы получения модельных комбинаций

- 1) Методом горячей гомогенизации [7] с использованием СК и КМ в качестве липидной фазы и твин-80 в качестве водной фазы в различных соотношениях (ТЛН-1). Приготовление композиций начинали с расплавления СК при 70–100°C на магнитной мешалке, далее по массе добавляли КМ и в полученной смеси при перемешивании (300 об/мин) и постоянном нагревании растворяли ГФТ и АФЦ. Стакан с полученным композитом диспергировали на погружном гомогенизаторе с постепенным добавлением водного раствора твин-80 в течение 1 ч, полученные частицы измельчали на УЗ-диспергаторе и фильтровали под давлением. Схема получения представлена на рис. 1.
- 2) Методом одностадийного диспергирования [8, 9] с СПМГ и ФХ под вакуумом, в качестве органической фазы использовали хлороформ, а водной фазы – 1–2 % раствор ПВС с хитозаном или без (ТЛН-2). Метод получения частиц заключался в длительном перемешивании (в течение 24–32 ч) хлороформного раствора ГФТ и АФЦ и водного раствора ПВС и хитозана под вакуумом, после испарения хлороформа полученную дисперсию измельчали и фильтровали под давлением. Схема получения представлена на рис. 2. Измельчение частиц проводили с помощью комбинирования методов гомогенизации (5 000 об/мин, 60 мин) и ультразвукового диспергирования (5 мин, 60%). Для увеличения срока хранения наночастиц проводили лиофильное высушивание по методике [10].

Контроль качества всех полученных ТЛН проводили путем измерения количественного содержания, pH, размера частиц, ζ-потенциала [10, 11] и изучения стабиль-

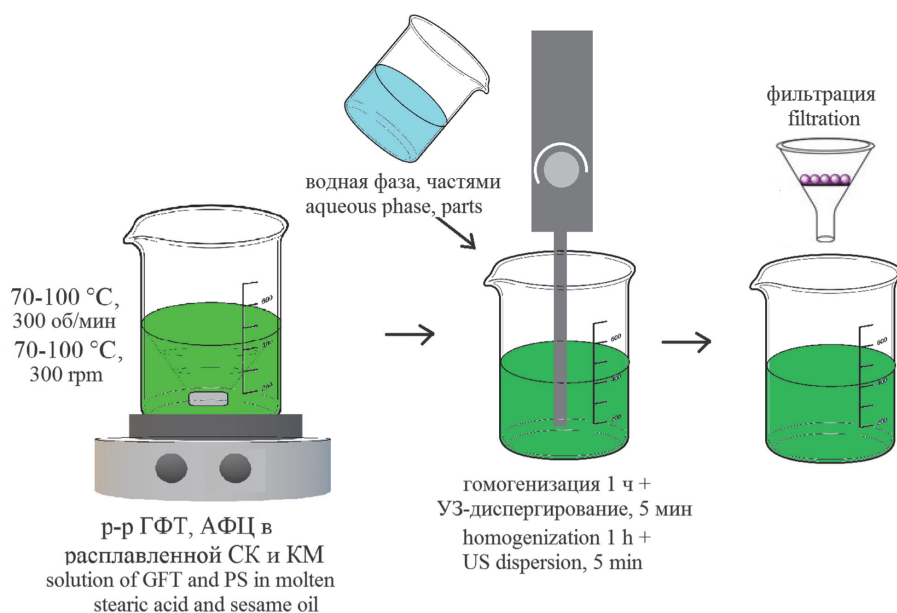


Рис. 1. Схема получения моделей ТЛН-1 методом горячей гомогенизации.
Fig. 1. Scheme for producing SLN-1 models by hot homogenization.

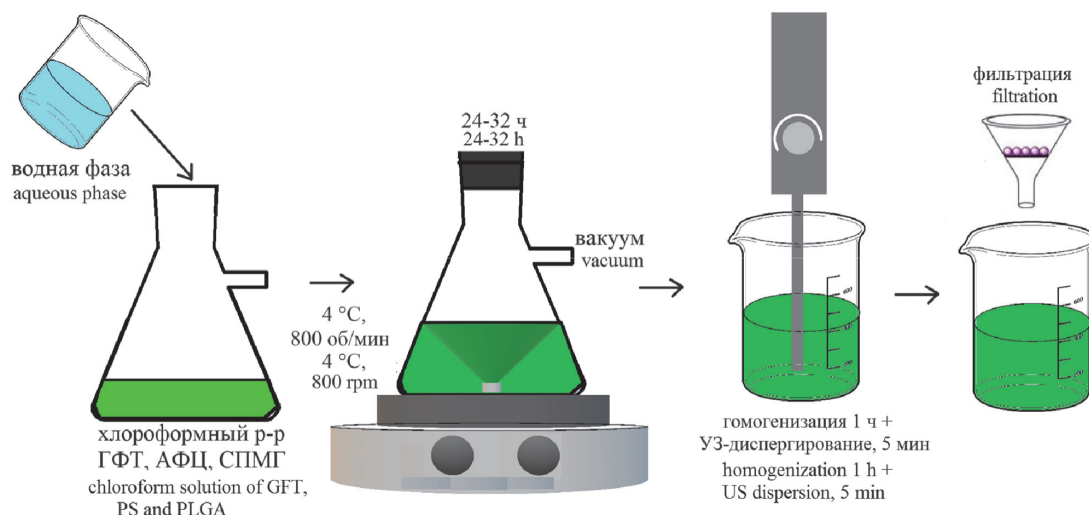


Рис. 2. Схема получения моделей ТЛН-1 методом горячей гомогенизации.
Fig. 2. Scheme for producing SLN-1 models by hot homogenization.

ности в процессе хранения. Анализ количественного содержания ГФТ и АФЦ в ТЛН проводили спектрофотометрически при длинах волн 338 ± 3 и 717 ± 3 нм, для ГФТ и АФЦ соответственно.

Цитотоксическая активность

Исследование цитотоксической активности ТЛН включало изучение темновой и фотоиндуцированной цитотоксичности на клеточной линии карциноме легкого A549, полученной из Банка клеточных линий ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Клеточные линии культивировали по стандартной методике [12]. МТТ-тест проводили рутинным методом [13], облучение проводили через 24 ч после введения препарата в течение 20 мин светодиодным источником с длиной волны 730 нм, далее клетки инкубировали в течение 24 ч.

Статистическая обработка проведена с использованием стандартных пакетов Microsoft Excel 2007 и программного обеспечения GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.). Каждый эксперимент повторяли не менее трех раз, результаты представляли как среднее $\pm$ стандартное отклонение (SD). Концентрации IC_{50} рассчитывали методом нелинейной регрессии. Статистическую значимость определяли при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждения

Состав ТЛН-1 сделан на основе СК и КМ, т.к. включение жидкого липида в твердый липид позволяет встраиваться соединениям как между цепями жирных кислот, так и между липидными слоями [7], что увеличивает емкость загрузки действующих веществ и уменьшает взрывное высвобождение соединений. Для подбора

оптимального состава наночастиц готовили модельные смеси с различным соотношением вспомогательных веществ (табл. 1).

По данным табл. 1 видно, что существенное влияние на образование стабильной коллоидной системы оказывает содержание ПАВ и СК, так увеличение содержания твин-80 с 0,4% (№1) до 2,0% (№4) позволяет получить образцы дисперсии без осадка, а уменьшение СК с 2,0% (№1) до 0,7% (№4) предотвращает загустевание, т.е. наиболее оптимальным оказался состав 4 со средним размером частиц 236 ± 4 нм, ζ -потенциалом $-20 \pm 2,0$ мВ и значением pH=6,1. Для стабилизации выбранного состава проводили лиофилизацию с использованием криопротекторов – маннит, трегалоза, а затем изучали полученные образцы по основным показателям качества, наиболее оптимальным с позиции образования «таблетки» лиофилизата оказалось применение 5% растворов криопротекторов (табл. 2).

В образцах без криопротектора не происходило образование лиофильной структуры, образцы с маннитом и трегалозой в концентрации 5%, не только образовывали однородную сухую пористую массу

при лиофилизации, но и сохраняли показатели ТЛН-1 после регидратации лиофилизата (время регидратации 1 мин). Однако состав ТЛН-1 с трегалозой после регидратации оставался стабильным более длительное время (около 30 сут) по внешнему виду (однородная суспензия без признаков расслоения и выпадения осадка).

ТЛН-2 получали с использованием СПМГ, которые широко изучаются в настоящее время в связи с их биосовместимостью и биodeградируемостью в организме. На основании опыта приготовления моделей ТЛН-1 составы ТЛН-2 готовили в соотношении ГФТ:АФЦ 4:1 (табл. 3, рис. 3).

По данным табл. 3 и рис. 3 видно, что стабильность получаемой суспензии напрямую зависит от количества СПМГ и ФХ. Попытки уменьшения количества СПМГ и ФХ приводили к уменьшению включения ГФТ и АФЦ на 6-30% и выпадению субстанций в осадок. Модель ТЛН-2 состава №1 оказалось наиболее оптимальной с включением ГФТ 87%, АФЦ 99%, средним размером частиц 243 ± 11 нм, нейтральным ζ -потенциалом и pH 5,5. Контроль данной модели во времени по приведенным

Таблица 1
Составы ТЛН-1

Table 1
Compositions of SLN-1

№	Массовое соотношение Ratio			Внешний вид Appearance of samples	
	ГФТ:АФЦ GFT:AphC	ГФТ:СК GFT:SA	СК:КМ:твин-80 SA:S.oil:twin-80	после получения after receipt	через 24 ч after 24 h
1	4,5:1	1:11	2,2:1:0,4	неоднородная дисперсия с осадком, быстро загустевает heterogeneous dispersion with sediment, thickens quickly	неоднородная густая дисперсия с осадком heterogeneous thick dispersion with sediment
2	3,3:1	1:17	2,2:1:4,3	однородная дисперсия, быстро загустевает homogeneous dispersion, thickens quickly	густая дисперсия thick dispersion
3	3,7:1	1:10	2,2:1:4,3		
4	4:1	1:7	1,3:1:3,7	однородная дисперсия homogeneous dispersion	однородная дисперсия homogeneous dispersion

Таблица 2
Влияние криопротекторов на показатели качества ТЛН-1

Table 2
The influence of cryoprotectors on the quality indicators of SLN-1

Криопротектор Cryoprotector	Внешний вид лиофилизата Appearance of the lyophilisate	pH	Размер частиц, нм Nanoparticle size, nm	ζ -потенциал, мВ ζ -potential, mV	Эффективность включения ГФТ/ АФЦ, % Entrapment efficiency GFT/AphC, %
маннит 5% mannitol 5%	однородная сухая пористая масса светлого-зеленого цвета homogeneous dry porous mass of light green color	6,4-6,8	220 ± 13	$-16 \pm 1,1$	100/40
трегалоза 5% trehalose 5%		7,3-7,4	245 ± 15	$-15 \pm 1,2$	92/44
-	прозрачная пленка transparent film	6,8-7,0	235 ± 11	$-14 \pm 0,9$	90/48

Таблица 3
Составы ТЛН-2

Table 3
Compositions of SLN-2

№	Массовое соотношение Ratio		Внешний вид Appearance of samples	
	ГФТ:СМПГ GFT:CPLG	СПМГ:ФХ:ПВС:Х CPLG:PhC:PA:Ch	после получения after receipt	через 24 ч after 24 h
1	1:30	60:40:40:1 ФХ — SPC PhC — SPC	однородная суспензия homogeneous suspension	однородная суспензия homogeneous suspension
2	1:30	60:16:40:1 ФХ — S100 PhC — S100		осадок sediment
3	1:20	40:15:40:1 ФХ — SPC PhC — SPC		однородная суспензия, осадок через 5 сут homogeneous suspension, sediment after 5 days
4	1:15	30:15:40:1 ФХ — SPC PhC — SPC		однородная суспензия, осадок через 3 сут homogeneous suspension, sediment after 3 days
5	1:15	30:15:20 ФХ — SPC, безХ PhC — SPC, without Ch		осадок sediment

выше показателям показал её стабильность в течение 14 сут при температуре хранения 2-8°C. В дальнейшем планируется лиофилизация данного состава.

Цитотоксическую активность выбранных моделей ТЛН-1 (состава 4 с 5% трегалозой) и ТЛН-2 (состав 1) изучали в экспериментах *in vitro* на модели опухолевых клеток рака легкого A549 (рис. 4, 5, табл. 4).

При исследовании темновой и фотоиндуцированной цитотоксичности комбинированные ТЛН-1 и 2, а также монопрепараты (субстанцию ГФТ и модели ТЛН-1 и 2 только с АФЦ) вносили в клетки в концентрациях по ГФТ в дозах 1,56-100 мкг/мл. Субстанция ГФТ не обладает фототоксичностью, разница между ИК₅₀ субстанции с облучением и без составляет ~3%. По

ИК₅₀ фотоиндуцированная цитотоксичность при воздействии лазером с плотность дозы 33 Дж/см² на обеих моделях была выше темновой токсичности в 3,5-4,6 раз, что указывает на синергический эффект препарата и ФДТ. По сравнению с монотерапией комбинации были эффективнее в 5,1-8,7 по ГФТ и 1,5-1,8 раз по АФЦ. Близкие показатели ИК₅₀ между ТЛН-2 без облучения и субстанцией ГФТ указывают на фотоиндуцированное высвобождения ГФТ из ЛФ и на низкую токсичность вспомогательных веществ в данной композиции, в то время как ТЛН-1 достаточно цитотоксична и без облучения. Представленные данные указывают на перспективность дальнейшего изучения модели наночастиц ТЛН-2 на других клеточных линиях.

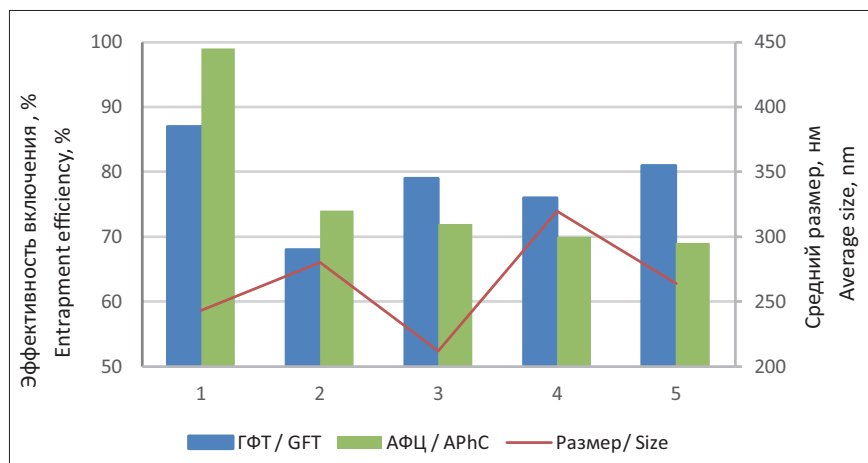


Рис. 3. Влияние состава вспомогательных веществ на эффективность включения ГФТ, АФЦ и на средний размер частиц в ТЛН-2.

Fig. 3. The influence of the composition of excipients on the efficiency of the inclusion of GFT, APhC and on the average particle size in SLN-2.

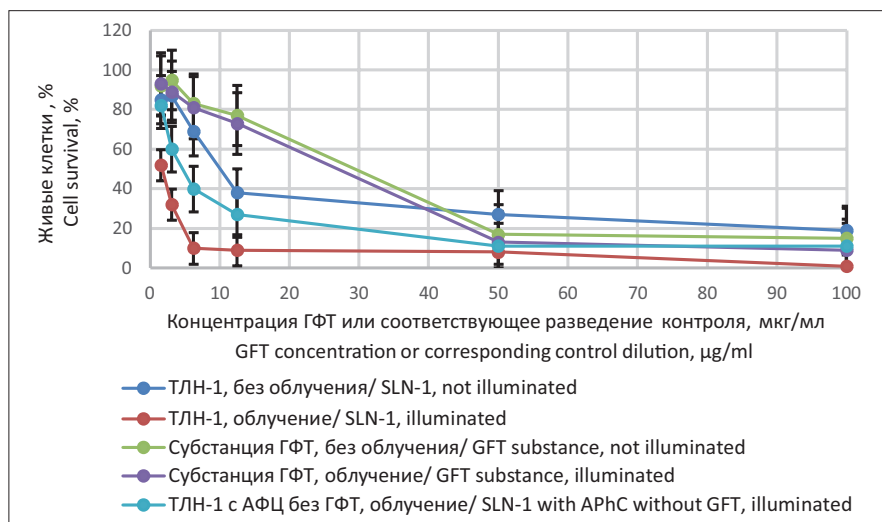


Рис. 4. Цитотоксическая активность ТЛН-1 на клетках A549, время инкубации 24 ч, для значений $ИК_{50}$ $p \leq 0,05$.

Fig. 4. Cytotoxic activity of SLN-1 on A549 cells, incubation time 24 h, for IC_{50} values $p \leq 0,05$.

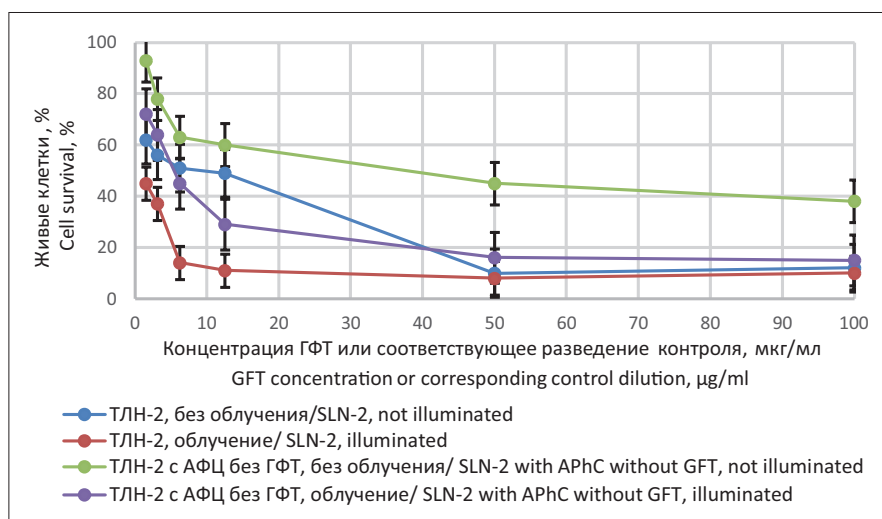


Рис. 5. Цитотоксическая активность ТЛН-2 на клетках A549, время инкубации 24 ч

Для значений ТЛН-2 $ИК_{50}$ и ТЛН-2с АФЦ без ГФТ (без облучения и с облучением) $p \leq 0,05$.

Fig. 5. Cytotoxic activity of SLN-2 on A549 cells, incubation time 24 h, for IC_{50} values $p \leq 0,05$.

Таблица 4

$ИК_{50}$ исследуемых образцов на модели A549

Table 4

IC_{50} of tested samples on model A549

Образец препарата Drug sample	ТЛН-1*, мкг/мл SLN-1, µg/ml	ТЛН-2*, мкг/мл SLN-1, µg/ml
ТЛН без облучения SLN not illuminated	8,5	19,0
ТЛН с облучением SLN illuminated	2,4	4,1
Субстанция ГФТ без облучения GFT substance, not illuminated	21,6	
Субстанция ГФТ с облучением GFT substance, illuminated	20,9	
ТЛН с АФЦ без ГФТ без облучения SLN with APhC without GFT, not illuminated	-	22,5
ТЛН с АФЦ без ГФТ с облучением SLN with APhC without GFT, illuminated	4,3	6,2

* $p \leq 0,05$

Закключение

В результате комплексных исследований по созданию комбинированных фотоиндуцированных наносистем ГФТ и ФС с высокой цитотоксической активностью были получены и изучены две модели ТЛН-1 и ТЛН-2, показатель $ИК_{50}$ составил 2,4 и 4,1 мкг/мл, соответственно. В дальнейших исследованиях планируется усовершенствовать композицию на основе СПМГ и ФХ и изучить ее фототоксичность на других клеточных линиях, а так же осуществить подбор оптимально режима облучения.

Данные по получению и изучению ТЛН с фотоиндуцированным высвобождением могут послужить методическим под-

ходом для разработки различных химиопрепаратов со стимул чувствительным высвобождением.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-75-01026

«Разработка таргетных комбинированных структур на основе фосфолипидных наносистем для терапии рака легких».

ЛИТЕРАТУРА

1. Jampilek J., Kralova K. Insights into Lipid-Based Delivery Nanosystems of Protein-Tyrosine Kinase Inhibitors for Cancer Therapy // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14(12). – P. e2706. doi: 10.3390/pharmaceutics14122706.
2. Nadaf S.J., Killedar S.G., Kumbar V.M., Bhagwat D.A., Gurav S.S. Pazopanib-laden lipid based nanovesicular delivery with augmented oral bioavailability and therapeutic efficacy against non-small cell lung cancer // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 628. – P. e122287. doi: 10.1016/j.ijpharm.2022.122287.
3. Kumar V., Khan I., Gupta U. Lipid-dendrimer nanohybrid system or dendrosomes: evidences of enhanced encapsulation, solubilization, cellular uptake and cytotoxicity of bortezomib // *ApplNanosci*. – 2020. – Vol. 10. – P. 4049-4062. doi: 10.1007/s13204-020-01515-7.
4. Gracias S., Ayyanar M., Peramaiyan G., Kalaskar M., Redasani V., Gurav N., Nadaf S., Deshpande M., Bhole R., Khan M.S., Chikhale R., Gurav S. Fabrication of chitosan nanocomposites loaded with biosynthetic metallic nanoparticles and their therapeutic investigation // *Environmental Research*. – 2023. – Vol. 234. – P. e116609. doi: 10.1016/j.envres.2023.116609.
5. Meerovich I., Nichols M.G., Dash A.K. Low-intensity light-induced paclitaxel release from lipid-based nano-delivery systems // *Journal of Drug Targeting*. – 2019. – Vol. 27(9). – P. 971-983. doi: 10.1080/1061186X.2019.1571066.
6. Yang T., Zhai J., Hu D., Yang R., Wang G., Li Y., Liang G. «Targeting Design» of Nanoparticles in Tumor Therapy // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14(9). – P. 1919. doi: 10.3390/pharmaceutics14091919.
7. Makeen H.A., Mohan S., Al-Kasim M.A., Attafi I.M., Ahmed R.A., Syed N.K., Sultan M.H., Al-Bratty M., Alhazmi H.A., Saffi M.M., Ali R., Alam M.I. Gefitinib loaded nanostructured lipid carriers: characterization, evaluation and anti-human colon cancer activity in vitro // *Drug Delivery*. – 2020. – Vol. 27(1). – P. 622-631. doi: 10.1080/10717544.2020.1754526.
8. Sapelnikov M.D., Nikolskaya E.D., Morozova N.B., Plotnikova E.A., Efremenko A.V., Panov A.V., Grin M.A., Yakubovskaya R.I. Development of the technology for obtaining PLGA and dipropoxybateriopurpurinimide-based nanoparticles. Evaluation of physicochemical and biological properties of the obtained delivery system // *Biomedical Photonics*. – 2019. – Vol. 8(1). – P. 4-17. doi:10.24931/2413-9432-2019-8-1-4-17.
9. Кедик С.А., Омелченко О.А., Суслов В.В., Шняк Е.А. Разработка способа получения налтрексона основания, инкапсулированного в полимерные микрочастицы // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. – 2018. – Т. 7(1). – С. 32-35. Kedik S.A., Omelchenko O.A., Suslov V.V., Shnyak E.A. Development of a method for the preparation of the naltrexone base encapsulated in polymeric microparticles // *Drug development & registration*. – 2018. – Vol. 7(1). – P. 32-35.
10. Kolpaksidi A. P., Dmitrieva M. V., Orlova O. L., Ektova L. V., Krasniuk I. I. Application of solid dispersion technology to obtain a model of injectable dosage form of indolocarbazole derivative // *Drug development & registration*. – 2022. – Vol. 11(4). – P. 73-78. doi:10.33380/2305-2066-2022-11-4-73-78.
11. Sanarova E.V., Lantsova A.V., Nikolaeva L.L., Oborotova N.A., Litvinenko Ya.E., Solov'eva N.L. Creation of a Model of a Complex Delivery Nanosystem Containing a Tyrosine Kinase Inhibitor and a Photosensitizer // *Pharm Chem J*. – 2023. – Vol. 57. – P. 1075-1079. doi:10.1007/s11094-023-02986-y.
12. Abo Qoura L., Morozova E.A., Koval V.S., Kulikova V.V., Spirina T.S., Demidkina T.V., Pokrovsky V.S. Cytotoxic and antitumor properties of methionine γ -lyase conjugate in combination with S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides // *Russian Journal of Biotherapy*. – 2022. – Vol. 21(4). – P. 62-70. doi:10.17650/1726-9784-2022-21-4-62-70.
13. Ionov N.S., Baryshnikova M.A., Bocharov E.V., Pogodin P.V., Lagunin A.A., Filimonov D.A., Karpova R.V., Kosorukov V.S., Stilidi I.S., Matveev V.B., Bocharova O.A., Poroikov V.V. Possibilities of in silico estimations for the development of pharmaceutical composition phytoadaptogene cytotoxic for bladder cancer cells // *Biomed Khim*. – 2021. – Vol. 67(3). – P. 278-288. doi:10.18097/PBMC20216703278.

REFERENCES

1. Jampilek J., Kralova K. Insights into Lipid-Based Delivery Nanosystems of Protein-Tyrosine Kinase Inhibitors for Cancer Therapy. *Pharmaceutics*, 2022, vol. 14(12), pp. e2706. doi: 10.3390/pharmaceutics14122706.
2. Nadaf S.J., Killedar S.G., Kumbar V.M., Bhagwat D.A., Gurav S.S. Pazopanib-laden lipid based nanovesicular delivery with augmented oral bioavailability and therapeutic efficacy against non-small cell lung cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, 2022, vol. 628, pp. e122287. doi: 10.1016/j.ijpharm.2022.122287.
3. Kumar V., Khan I., Gupta U. Lipid-dendrimer nanohybrid system or dendrosomes: evidences of enhanced encapsulation, solubilization, cellular uptake and cytotoxicity of bortezomib. *ApplNanosci*, 2020, vol. 10, pp. 4049-4062. doi: 10.1007/s13204-020-01515-7.
4. Gracias S., Ayyanar M., Peramaiyan G., Kalaskar M., Redasani V., Gurav N., Nadaf S., Deshpande M., Bhole R., Khan M.S., Chikhale R., Gurav S. Fabrication of chitosan nanocomposites loaded with biosynthetic metallic nanoparticles and their therapeutic investigation. *Environmental Research*, 2023, vol. 234, pp. e116609. doi: 10.1016/j.envres.2023.116609.
5. Meerovich I., Nichols M.G., Dash A.K. Low-intensity light-induced paclitaxel release from lipid-based nano-delivery systems. *Journal of Drug Targeting*, 2019, vol. 27(9), pp. 971-983. doi: 10.1080/1061186X.2019.1571066.
6. Yang T., Zhai J., Hu D., Yang R., Wang G., Li Y., Liang G. «Targeting Design» of Nanoparticles in Tumor Therapy. *Pharmaceutics*, 2022, vol. 14(9), pp. 1919. doi: 10.3390/pharmaceutics14091919.
7. Makeen H.A., Mohan S., Al-Kasim M.A., Attafi I.M., Ahmed R.A., Syed N.K., Sultan M.H., Al-Bratty M., Alhazmi H.A., Saffi M.M., Ali R., Alam M.I. Gefitinib loaded nanostructured lipid carriers: characterization, evaluation and anti-human colon cancer activity in vitro. *Drug Delivery*, 2020, vol. 27(1), pp. 622-631. doi: 10.1080/10717544.2020.1754526.
8. Sapelnikov M.D., Nikolskaya E.D., Morozova N.B., Plotnikova E.A., Efremenko A.V., Panov A.V., Grin M.A., Yakubovskaya R.I. Development of the technology for obtaining PLGA and dipropoxybateriopurpurinimide-based nanoparticles. Evaluation of physicochemical and biological properties of the obtained delivery system. *Biomedical Photonics*, 2019, vol. 8(1), pp. 4-17. doi:10.24931/2413-9432-2019-8-1-4-17.
9. Kedik S.A., Omelchenko O.A., Suslov V.V., Shnyak E.A. Development of a method for the preparation of the naltrexone base encapsulated in polymeric microparticles. *Drug development & registration*, 2018, vol. 7(1), pp. 32-35.
10. Kolpaksidi A. P., Dmitrieva M. V., Orlova O. L., Ektova L. V., Krasniuk I. I. Application of solid dispersion technology to obtain a model of injectable dosage form of indolocarbazole derivative. *Drug development & registration*, 2022, vol. 11(4), pp. 73-78. doi:10.33380/2305-2066-2022-11-4-73-78.
11. Sanarova E.V., Lantsova A.V., Nikolaeva L.L., Oborotova N.A., Litvinenko Ya.E., Solov'eva N.L. Creation of a Model of a Complex Delivery Nanosystem Containing a Tyrosine Kinase Inhibitor and a Photosensitizer. *Pharm Chem J*, 2023, vol. 57, pp. 1075-1079. doi:10.1007/s11094-023-02986-y.
12. Abo Qoura L., Morozova E.A., Koval V.S., Kulikova V.V., Spirina T.S., Demidkina T.V., Pokrovsky V.S. Cytotoxic and antitumor properties of methionine γ -lyase conjugate in combination with S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides. *Russian Journal of Biotherapy*, 2022, vol. 21(4), pp. 62-70. doi:10.17650/1726-9784-2022-21-4-62-70.
13. Ionov N.S., Baryshnikova M.A., Bocharov E.V., Pogodin P.V., Lagunin A.A., Filimonov D.A., Karpova R.V., Kosorukov V.S., Stilidi I.S., Matveev V.B., Bocharova O.A., Poroikov V.V. Possibilities of in silico estimations for the development of pharmaceutical composition phytoadaptogene cytotoxic for bladder cancer cells. *Biomed Khim*, 2021, vol. 67(3), pp. 278-288. doi:10.18097/PBMC20216703278.