

Разработка систем доставки лекарственных средств с применением микро- и наночастиц

А. В. Соснов,¹ Р. В. Иванов¹, К. В. Балакин¹, Д. Л. Шоболов², Ю. А. Федотов¹, Ю. М. Калмыков¹

¹ — Исследовательский Институт Химического Разнообразия, Химки, Московская обл.

² — ООО «Технология лекарств», Химки, Московская обл.

Введение

Разработка и внедрение инновационных лекарственных форм (ЛФ) является приоритетной задачей фарминдустрии. В настоящее время около 25 % мирового объёма продаж лекарств занимают препараты с улучшенной системой доставки. Имеющиеся на рынке препараты, как правило, продлевают действие и увеличивают биодоступность лекарственного средства (ЛС), а также снижают возможные побочные эффекты [1]. Разрабатываемые и внедряемые в настоящее время системы доставки обладают не только перечисленными выше полезными свойствами, но и обеспечивают направленный транспорт лекарств к очагу патологического процесса. Новые препараты, подготовленные к выпуску на рынок ведущими фармацевтическими компаниями, как правило, уже оснащены транспортной системой. Это позволяет не только в значительной степени увеличить эффективность используемого ЛС, но и существенным образом улучшить его потребительские характеристики.

Очевидно, что финансовый аспект крайне важен для российского потребителя, поскольку доля более дешёвых отечественных лекарств, преимущественно дженериков (от англ. *generic* — родственный; термин, принятый для обозначения прямых аналогов лекарственных субстанций, на которые закончился срок патентной защиты), на российском рынке составляет не более трети. При этом доля препаратов с улучшенной системой доставки среди них крайне незначительна. По прогнозам экспертов, затраты государства на импорт медикаментов и медицинских изделий к 2010 г. возрастут до 300 миллиардов рублей, при общем росте фармацевтического рынка в РФ до 400-450 миллиардов рублей. В связи с этим, разработка систем доставки ЛС, патентование и производство не только улучшенных лекарственных форм хемодженериков (обеспечивающих быстрое насыщение рынка относительно недорогими отечественными аналогами известных препаратов), но и создание новых, оригинальных ЛС направленного действия является актуальной задачей российской фарминдустрии.

В представленной статье рассмотрены основные направления разработки систем доставки лекарств на основе биоразлагаемых полимеров, мицелл и углеродных наночастиц, включая системы с активной диффузией, обратным ответом и системы направленного транспорта. Влияние свойств частиц на транспорт ЛС проиллюстрировано конкретными примерами, в том числе разработками отечественных ученых Исследовательского Института Химического Разнообразия (ИИХР). Отдельный раздел посвящён возможности использования наночастиц с целью диагностики заболеваний и визуализации действия транспортных систем *in vivo* с применением передового метода флуоресцентной ЯМР-томографии, активно используемого в ИИХР при создании новых ЛС.

Краткий обзор современных систем доставки лекарств на основе микро- и наночастиц

Как правило, традиционные ЛФ содержат одно или несколько индивидуальных лекарственных веществ (ЛВ) в формах, пригодных для энтерального или парентерального введения. Применяемые подходы к введению лекарств в организм человека, основанные на использовании традиционных ЛФ, имеют целый ряд существенных недостатков, таких как:

1. **Повышенный расход ЛВ, вызванный тем, что ЛВ не достигает всех необходимых биологических мишеней или достигает, но в концентрации значительно меньшей по сравнению с необходимой терапевтической.** Поэтому приходится использовать дозы, которые на 1-2 порядка превышают теоретически необходимые.
2. **Ненаправленное действие ЛВ, т.е. взаимодействие с нецелевыми биообъектами, часто приводит к побочным эффектам, обусловленным его метаболитами, и к нецелевому, иррациональному расходу ЛС.**
3. **Невозможность поддержания оптимальной терапевтической концентрации ЛВ в течение необходимого времени и, как следствие, необходимость частого приёма лекарственного препарата.**

4. Недостаточная биосовместимость и нежелательные физиологические эффекты в области введения ЛС. Необходимость использования специальных методик введения лекарственного препарата.
5. Значительные трудности в использовании ЛВ с неоптимальными транспортными свойствами (например, высокая липофильность).

Наиболее ярко перечисленные недостатки проявляются при использовании ЛВ с выраженным побочным действием (большинство противоопухолевых препаратов) и лекарств, действующих на центральную нервную систему (ЦНС): наркотические анальгетики, средства лечения болезни Альцгеймера и др., т. е. лекарственных агентов, действие которых требует преодоления гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). К сожалению, существенные ограничения в применении значительной доли традиционных ЛФ связаны с наличием именно этих нежелательных последствий. Более того, использование традиционных ЛФ нецелесообразно при создании высокотехнологичных и дорогостоящих лекарственных препаратов, обладающих высоким сродством, высокой активностью и селективностью по отношению к целевым биологическим мишеням.

Таким образом, традиционные ЛФ уже не отвечают жёстким современным требованиям, их производство и использование в значительной степени тормозит развитие медицины, фармацевтической науки и индустрии.

Современное развитие исследовательских методов и технологий подготовило основу для создания новых, инновационных ЛФ, не только лишённых перечисленных выше недостатков, но и способных к направленному транспорту ЛВ в очаг патологического процесса. Кроме того, они способствуют снижению крайне нежелательных побочных эффектов ЛВ, а также их токсичных метаболитов. Некоторые передовые ЛФ позволяют визуализировать процесс диагностики и лечения.

В настоящее время методы и технологии, развивающиеся на стыке органической химии и химии высокомолекулярных соединений (полимеров), медицинской и физической химии, инструментальных методов исследований и аналитической химии, молекулярной биологии и молекулярной генетики, позволяют эффективно решать большинство научных и технологических задач, связанных с созданием эффективных ЛФ. Бурное развитие микро-, нано- и биотехнологий позволяет создавать частицы с заданными свойствами, такими как: размер частиц, свойства «тела» частицы и её поверхности, зависимый «отклик» на местные и удалённые воздействия, а также возможность визуализации действия ЛВ и результатов диагностики [2, 3]. Перечисленные свойства позволяют эффективно использовать микро- и наночастицы при создании новых эффективных форм доставки ЛВ целенаправленно в очаг

воспалительного или патологического процесса [4]. Ниже перечислены основные значимые характеристики подобных частиц, применительно к созданию лекарственных транспортных систем:

1. капсуляция «сложных» ЛВ;
2. визуализация, сенсоры;
3. клеточная/тканевая специфичность;
4. местная активация (рН, температура и т.д.);
5. удалённая активация;
6. магнитные свойства;
7. контролируемое выделение;
8. защита от внешней среды;
9. механические свойства/поддержка ткани.

В комплексе применение подобных методов и технологий позволяет:

- пролонгировать действие ЛС, и как следствие, снизить частоту приёма препарата;
- обеспечить необходимую биосовместимость;
- защитить ЛС от преждевременной биodeградации;
- увеличить биодоступность веществ с неоптимальными транспортными свойствами;
- преодолеть биологические барьеры, включая ГЭБ и стенки ЖКТ;
- осуществлять направленный транспорт ЛС (ткане- и/или мишень-специфичная доставка);
- обеспечить контролируемое высвобождение ЛС (обратный ответ, местная или удалённая активация);
- поддержать оптимальную терапевтическую концентрацию ЛВ;
- минимизировать побочные эффекты ЛВ и их метаболитов;
- обеспечить возможность визуализации очага патологического процесса, контроля взаимодействия ЛВ с целевыми биологическими мишенями и результатов лечения на клеточном уровне.

Уже сегодня разработаны новые ЛФ с обратным ответом, например, выделяющие инсулин в зависимости от концентрации глюкозы в крови [5]. Сравнительно недавно были разработаны наномолекулярные модификации камптотецина, ингибитора топоизомеразы, которые в значительной степени повышают его эффективность и селективность [6]. Основные типы транспортных частиц и их размеры представлены на *рис. 1*.

На сегодняшний день наибольшее распространение получили ЛФ продолжительного действия с увеличенной биодоступностью и пониженным побочным эффектом. Как правило, такие ЛФ представляют собой микрочастицы, созданные на основе биосовместимых и биоразлагаемых полимерных композиций, мицелл и липосом. ЛВ, не образующее ковалентных связей с носителем, может быть распределено в «теле» частицы, капсулировано, интегрировано в отдельные области частицы, например, в виде условного комплекса «гость-хозяин» на осно-

Рис. 1

Типы и размеры транспортных частиц для доставки ЛВ на основе полимеров, липидов, углеродных наночастиц и коллоидов

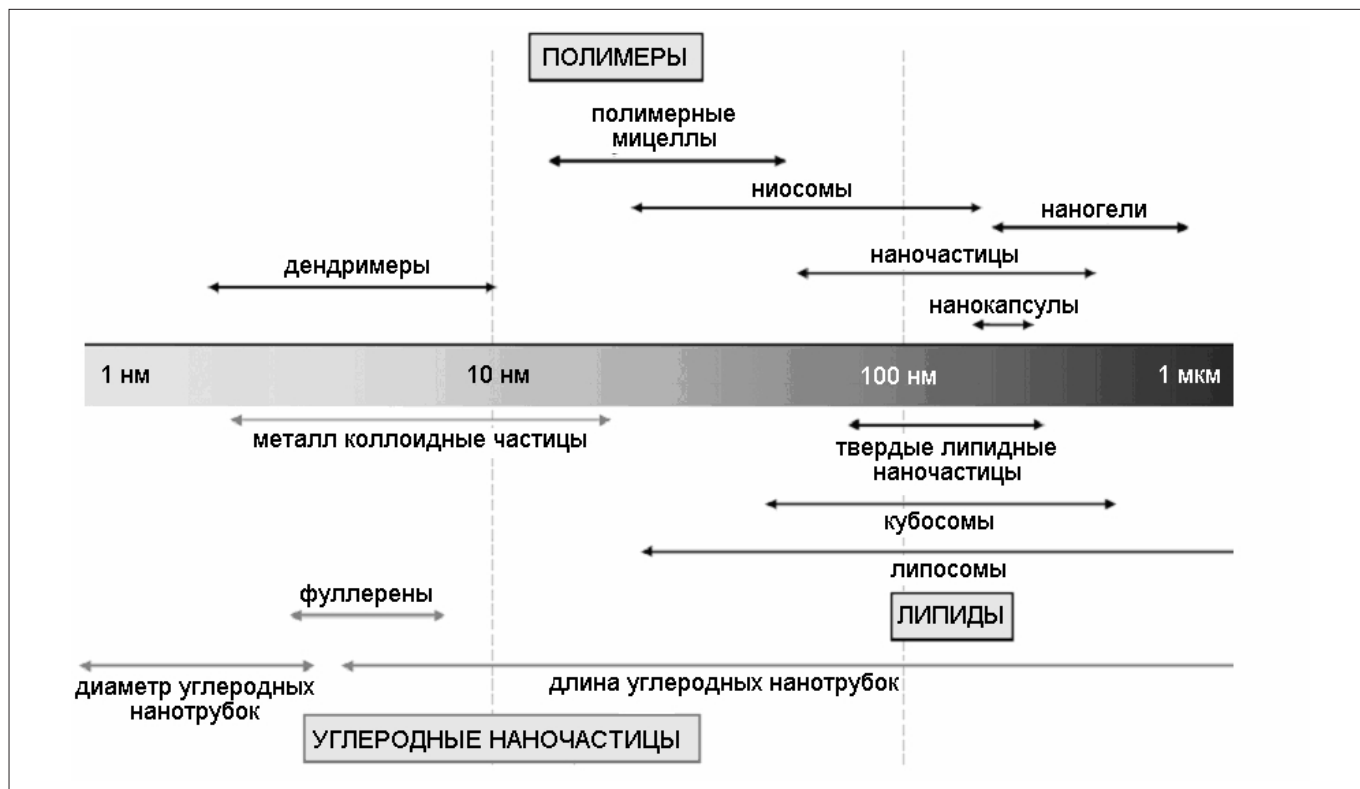
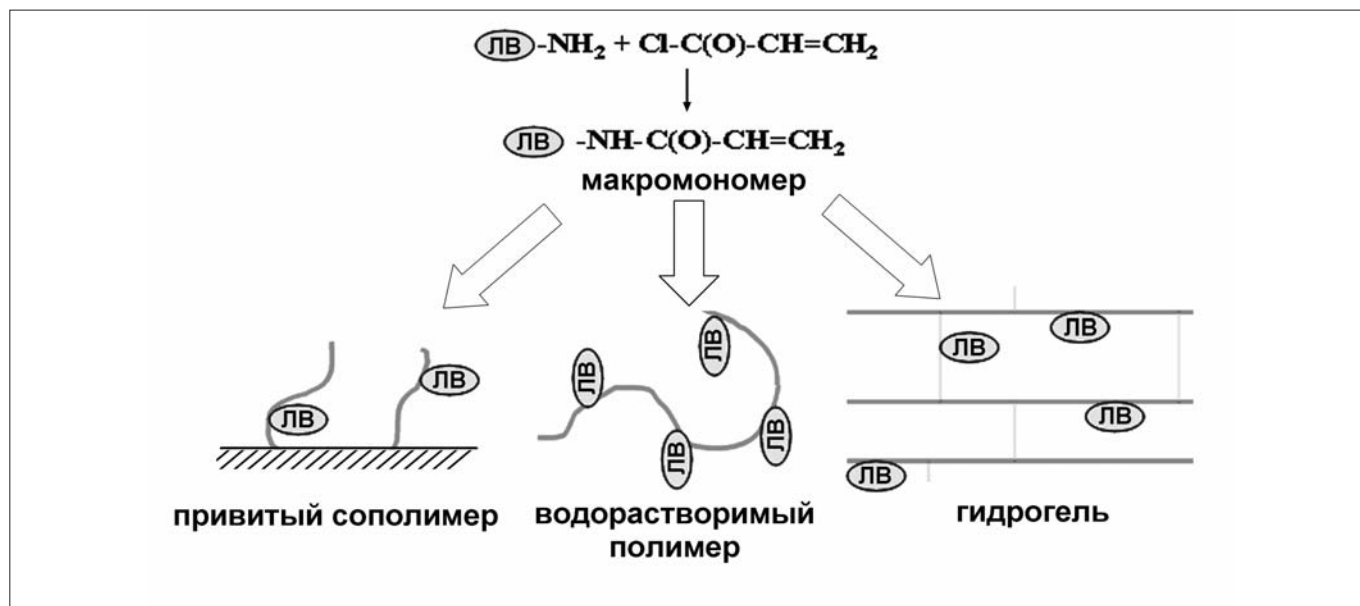


Рис. 2

Принципиальная схема образования различных типов полимер-ЛВ комплексов



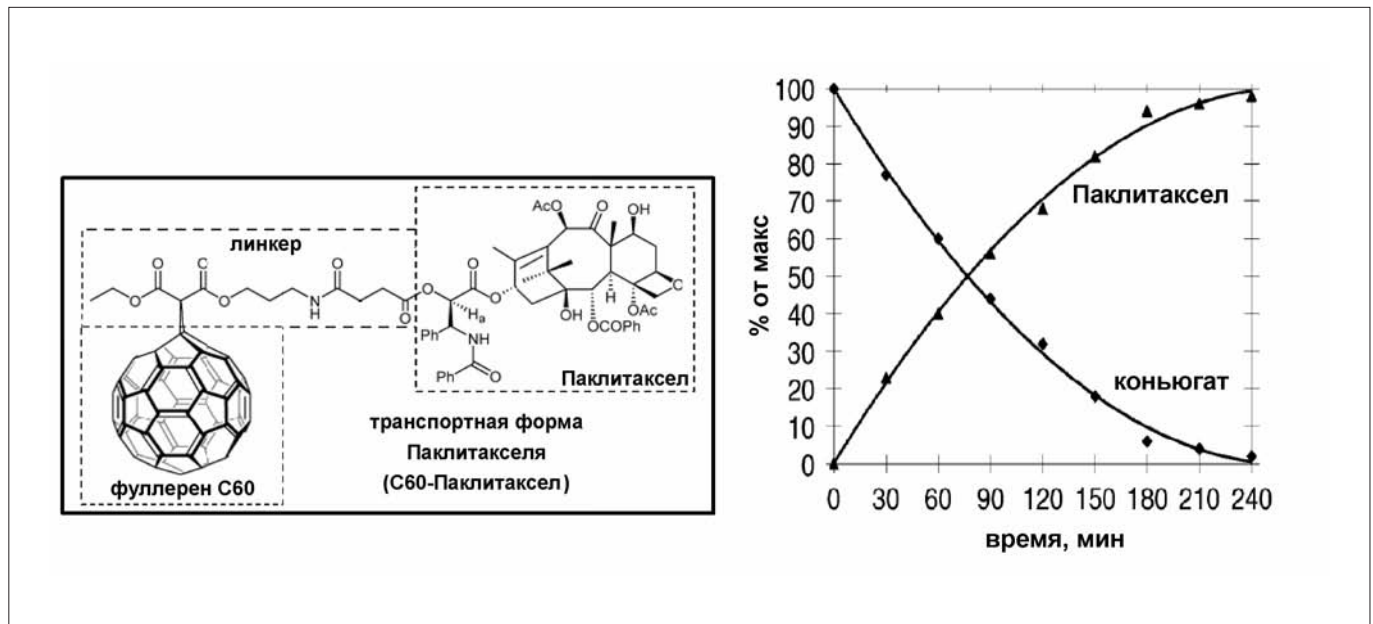
ве дендримеров, или адсорбировано на его поверхности. Частица также может быть покрыта дополнительным слоем полимера, например, на основе липосом с включением молекул полиэтиленгликоля (ПЭГ) и дендримеров [7, 8]. Также разработаны транспортные системы на основе полимерных мицелл [9]. На рис. 2 представлено образование

некоторых типов полимера из мономера, который ковалентно связан с ЛВ, в результате различных химических реакций.

Активация действующего вещества происходит при разрыве химической связи полимер-ЛВ. Таким образом, зная природу и свойства такой связи, а также характер поведения полимера в организ-

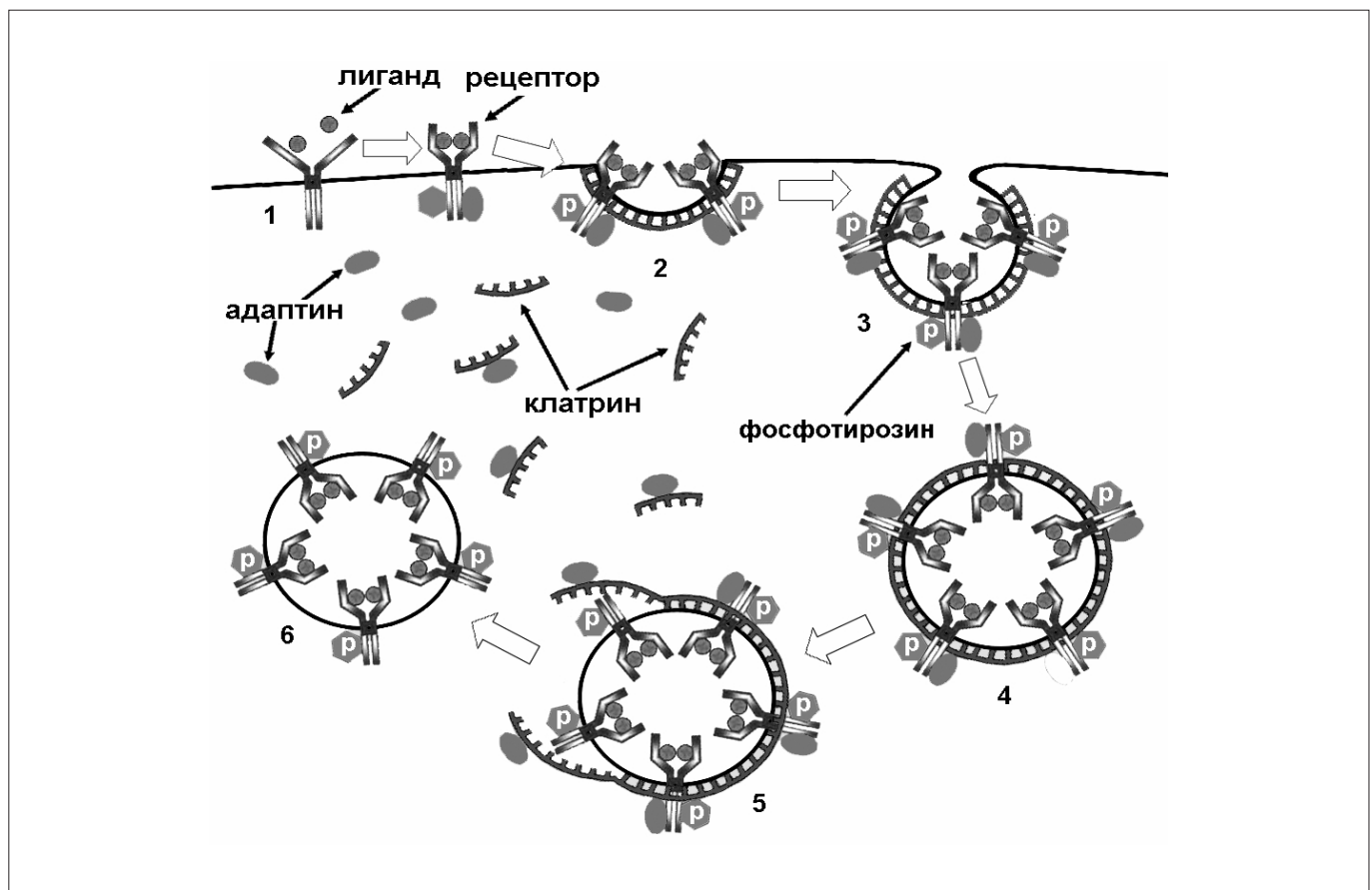
Биоразложение конъюгата C₆₀-паклитаксел

Рис. 3



Основные этапы рецептор-опосредованного эндоцитоза

Рис. 4



Примечание.

1 — Связывание специфического лиганда с поверхностным рецептором.

2 — Формирование окаймленной ямки.

3 — Образование клатриновой везикулы.

4-6 — Внутриклеточная утилизация.

Таблица 1

Основные требования к ЛФ и возможные технологические решения

Заболевания	Основные требования к ЛФ	Технологические решения
Злокачественные опухоли	Необходимость увеличения эффективности ЛС и снижения его токсичности. Необходимость тканеспецифичности и улучшения степени проникновения в опухолевые клетки.	Наночастицы с размерами от 50 до 200 нм, липосомы, мицеллы, ПЭГ-содержащие липосомы.
Инфекционные заболевания	Необходимость увеличения эффективности и тканеспецифичности. Снижение токсичности. Улучшение степени проникновения в клетки (макрофаги, дендритные кленки и др.) и всасывания через слизистые оболочки ЖКТ. Защита от биodeградации (антигенные пептиды).	Наночастицы различных размеров, липосомы, мицеллы, ПЭГ-содержащие липосомы, а также антиген-содержащие ЛФ.
Метаболические заболевания	Защита от биodeградации (пептиды и протеины). Улучшение всасывания через слизистые оболочки ЖКТ. Контролируемое и непрерывное выделение. Системы с обратным ответом.	Наночастицы и липосомы.
Аутоиммунные болезни	Контролируемая доставка к мишеням иммунной системы и/или к клеткам очага воспаления. Контролируемое и непрерывное выделение.	ПЭГ-содержащие липосомы и наночастицы.
Болевые синдромы	Контролируемое и непрерывное выделение. Улучшение биодоступности для ЦНС.	Липосомы, ЦНС специфичные липосомы и наночастицы, твёрдые липидные наночастицы.
Генетические заболевания	Защита от биodeградации, упаковка ДНК, улучшение клеточного захвата. Специфичность к цитоплазматическим/ядерным внутриклеточным областям.	Катионные наносферы, полимеры, липиды, наногели и нанокapsулы.

ме, можно регулировать выделение лекарственного вещества [10, 11].

Показательным примером ЛФ на основе ковалентно-связанного ЛВ с наночастицей (фуллерен C_{60}) может служить транспортная форма широко используемого противоопухолевого агента — паклитаксел [12]. Использование такой ЛФ связано с целым рядом преимуществ, например значительным увеличением периода полураспада конъюгата в сыворотке, который составляет около полутора часов (рис. 3).

Состав и конструкция ЛФ являются компромиссом между жёсткими требованиями к ЛФ и уровнем развития современных технологий. Требования, предъявляемые к ЛФ, зависят от следующих основных факторов:

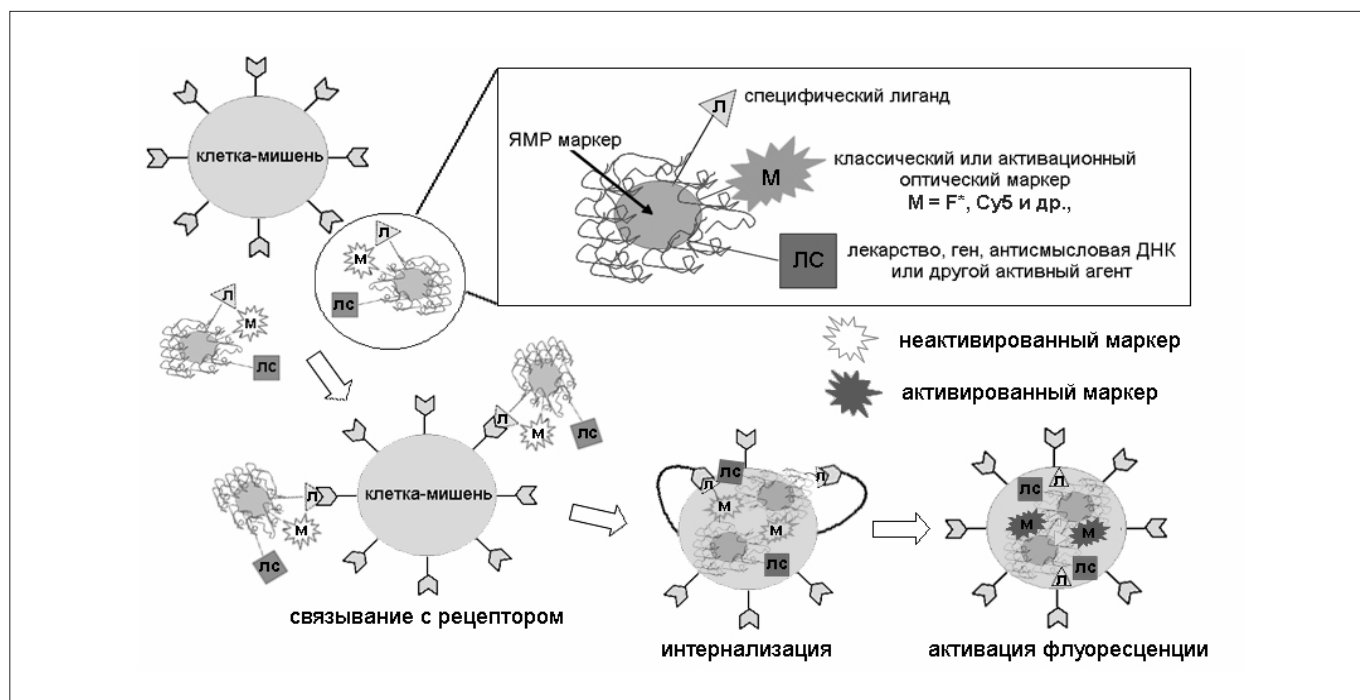
- вида заболевания;
- локализации очага патологического процесса;
- свойств ЛС;
- способа введения препарата;
- наличия дополнительных требований.

В табл. 1 представлены основные требования, предъявляемые к ЛФ, в зависимости от вида заболева-

ния, а также возможные пути решения поставленных задач, с привлечением передовых микро- и нанотехнологий. Одной из наиболее важных задач является оптимизация липофильности транспортных частиц, которая связана с проникновением через биологические барьеры [1]. Способ введения ЛС часто является определяющим фактором в процессе создания новых ЛФ, с учётом возможности выбора средства лечения. Химические и физико-химические свойства ЛС так же накладывают определённые требования и ограничения на состав и конструкцию транспортных частиц и ЛФ в целом [1, 2].

Возможность проникновения через биологические барьеры и тканеспецифичность может быть достигнута за счёт подбора размеров и поверхностных свойств транспортных частиц. Как было показано ранее, оптимальный размер частиц находится в интервале 10-300 нм [3, 13]. Наночастицы с размерами от 50 до 200 нм обладают специфичностью к большинству опухолевых тканей [3]. Размеры частиц влияют не только на их транспортную функцию и специфичность, но и на скорость выделения ЛВ при

Концепция и принцип действия активируемых проб



прочих равных условиях [13]. Тканевая и клеточная специфичность могут быть достигнуты за счёт применения более сложных модификаций транспортной частицы, например, изменением её заряда [1, 13] или интеграции на её поверхность специализированных транспортных белков (моноклональные антитела, пептидные гормоны, онкофетальные белки, «тройные» пептиды и пр.) [1, 2]. Захват частицы клеткой — эндоцитоз, — может осуществляться по неспецифическому или рецептор-опосредованному механизму [14]. Наиболее распространен рецептор-опосредованный эндоцитоз, общий механизм которого представлен на рис. 4.

В качестве примера дополнительных возможностей передовых ЛФ можно указать возможность визуализации очага патологического процесса и контроля протекания лечения на клеточном уровне [15, 16]. Такой подход был разработан в процессе создания диагностических препаратов. Он основан на использовании специфических маркёров (изотопы, органические красители, квантовые точки и т. д.). Интеграция нетоксичных (слаботоксичных) маркёров в транспортные частицы позволяет существенно сократить время на создание новой ЛФ, а при её непосредственном использовании учитывать эффективность и особенности процесса лечения. Для разработки и контроля действия такой ЛФ может быть использован флуоресцентный томограф (ФТ), являющийся наиболее приемлемым технологическим решением, отвечающим предъявляемым критериям безопасности, качества и простоты использования, а также по соотношению цена/качество в эксперимен-

тах *in vivo*, с использованием мелких лабораторных животных. Общий принцип действия активируемых проб представлен на рис. 5. Используемый в ИИХР ФТ KODAK Image Station In Vivo FX System позволяет визуализировать информацию, полученную с применением метода рентгеновской и флуоресцентной томографии. В качестве визуализирующих агентов могут быть использованы наночастицы KODAK X-SIGHT Imaging Agents размером 16-17 нм.

Основные преимущества использования наночастиц для оптической визуализации в экспериментах *in vivo* представлены в табл. 2.

Как показано в табл. 2, наночастицы являются наиболее удобным и безопасным средством визуализации очага патологического процесса.

Необходимо отметить, что наряду с вышеперечисленными ЛФ, существует целый ряд других, таких как энтеральные и парентеральные ЛФ, имплантируемые и трансдермальные системы и другие [1, 2].

Разработка новых ЛФ в ИИХР

Создание новых, оригинальных ЛВ и ЛФ в ИИХР в первую очередь обусловлено запросами отечественных производителей ЛС и общей государственной политикой в области отечественной фармацевтической промышленности, разработок и исследований. В начале 2006 г. в ИИХР было сформировано специальное подразделение, оснащённое передовыми техническими средствами и методами, направленными на исследование и создание инновационных ЛВ и ЛФ. Высококвалифицированные учёные ИИХР уже

Таблица 2

 Оптические и биохимические свойства агентов для оптической визуализации *in vivo*

Показатели	Органические флуоресцентные маркёры	Квантовые точки	Нанокристаллы
Оптические свойства			
Абсорбция /эмиссия/длина волны	слабая ИК область (Cu5/Cu7)	зависит от размера (регулируемая)	регулируемая (преобразование с повышением частоты)
Специальное разделение	значительное перекрытие	отсутствие перекрытия	отсутствие перекрытия
Время жизни	очень короткое (1-50 нс)	короткое (≈ 100 нс)	длительное (более 200 нс)
Фотостабильность	слабая	высокая	хорошая
Биохимические свойства			
Размер	≈ 1 нм	20 нм	10-400 нм
Возможность функциональной интеграции	хорошая	хорошая	хорошая
Стабильность	различная в зависимости от типа маркера	различная в зависимости от pH среды	различная (на стадии определения)
Токсичность	различная в зависимости от типа маркера	потенциально токсичные	нетоксичные

сегодня разрабатывают новые эффективные ЛФ для некоторых анальгетиков, антибактериальных и противоопухолевых лекарственных препаратов. В этом году планируется разработка ЛФ, предназначенной для лечения заболеваний ЦНС.

Показательным примером недавних достижений ИИХР в рассматриваемой области является создание эффективной пероральной ЛФ парацетамола. Парацетамол относится к числу общедоступных ненаркотических анальгетиков, широко востребованных на фармацевтическом рынке медицинских препаратов. Однако с учётом сравнительно слабых фармакологических и фармакодинамических показателей, применение этого лекарства связано с определёнными недостатками и неудобствами. В связи с этим на основе парацетамола разрабатываются новые ЛФ продолжительного действия с применением специальных биополимерных матриц, достоинства которых были описаны выше.

Использованная в ИИХР методика изготовления ЛФ базируется на применении стандартной субстанции парацетамола с размером частиц ≈ 100 мкм. С помощью механического диспергирования при комнатной температуре, а также в среде жидкого азота специалистами ИИХР были получены два типа измельчённого порошка парацетамола с размерами кристаллов ≈ 10 и ≈ 1 мкм. Для получения наночастиц размером $\approx 0,2$ мкм использовалась методика,

основанная на замораживании разбавленного водного раствора парацетамола с последующей сублимационной сушкой и специальным механическим измельчением при комнатной температуре. Микрочастицы препарата анализировались при увеличении 700-2000 раз с помощью прецизионного светового микроскопа Axiolab Pol (Carl Zeiss Jena GmbH). Измерения с максимальным увеличением осуществлялись в иммерсионном масле. Для оценки размеров частиц лекарственной субстанции, измельчённой до нанометрового размера, использовали сканирующий зондовый микроскоп Solver P47 (НТ-МДТ). Исследование проводилось в режиме прерывисто-контактной атомно-силовой микроскопии на воздухе, с использованием зондовых датчиков серии NSG11 (НТ-МДТ) с номинальными жёсткостью балок 5,5 и 11,5 Н/м и резонансной частотой 150 и 255 кГц, соответственно. Радиус закругления окончания зонда составлял не более 10 нм, а конический угол при вершине зонда 22° . Сканирование проводили с частотой около 1 Гц с разрешением 512×512 точек.

На следующем этапе работы с применением метода фазовых переходов изготавливались композиционные твёрдые смеси на основе частиц парацетамола различного размера с биосовместимыми и биodeградируемыми полимерными матрицами с целью создания новой пероральной ЛФ продолжительного действия. Использованные при этом методика и

Таблица 3

Протокол исследования новых ЛФ парацетамола, разработанных в ИИХР

Группа животных	Субстанция	Способ введения	Доза, мг/кг	Количество животных	Время забора образца крови, мин
1	Парацетамол (контроль)	РО	30	3	5, 15, 30, 60, 120, 240
2	ЛФ парацетамола с размерами частиц 10 мкм	РО	30	3	5, 15, 30, 60, 120, 240
3	ЛФ парацетамола с размерами частиц 1 мкм	РО	30	3	5, 15, 30, 60, 120, 240

Примечание. РО — перорально.

материалы являются ноу-хау ИИХР. В результате удалось разработать ЛФ парацетамола с размерами частиц 0,2; 1 и 10 мкм на основе особой биополимерной матрицы.

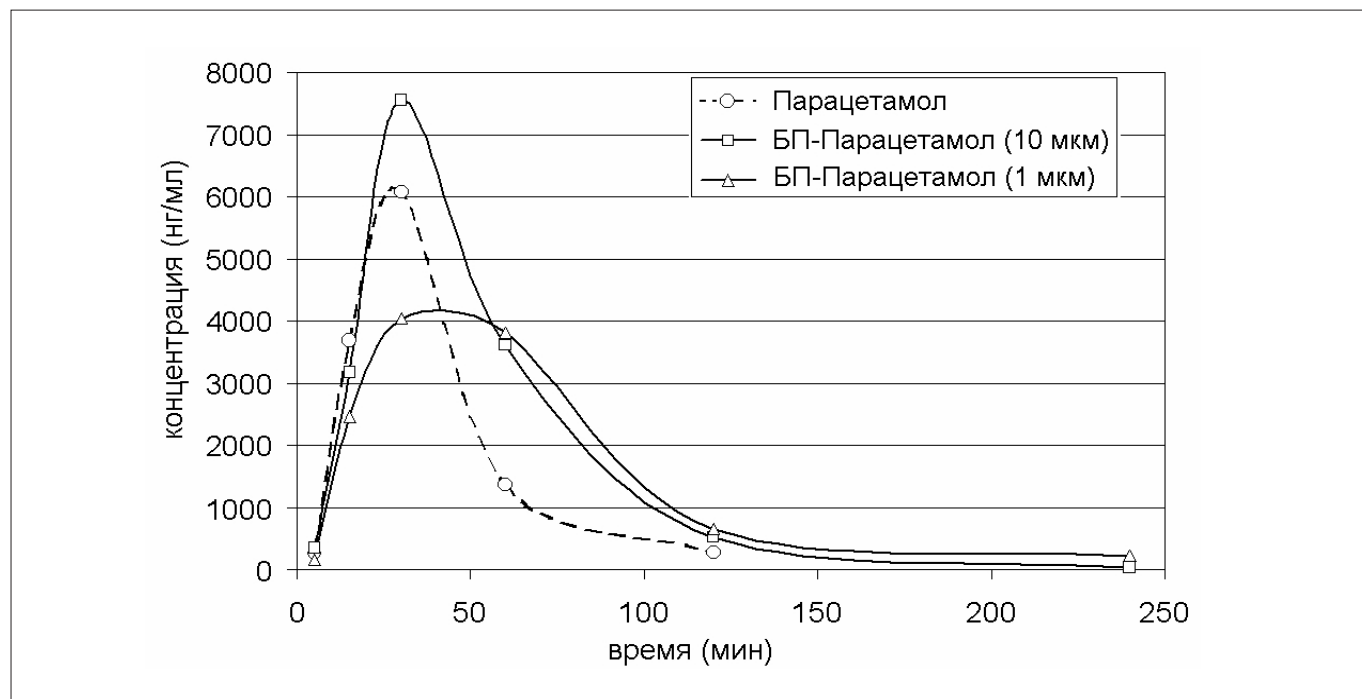
Изучение фармакокинетических характеристик полученных лекарственных форм парацетамола микрометрового размера проводилось на 9 кроликах самцах породы Шиншилла весом 3 кг согласно протоколу исследования (табл. 3). Исследования фармакокинетики препаратов, содержащих парацетамол с размером частиц ≈ 200 нм, осуществляются в настоящее время.

Образцы крови отбирали из краевой ушной вены. Плазму крови отделяли центрифугированием при 10000 об/мин в течение 10 мин и хранили до анализа при температуре — 80 °С. Исследуемые субстанции экстрагировали следующим образом: к 0,3 мл плазмы крови добавляли 1,75 мл этилацетата, встряхивали 2 мин на шейкере при 1000 об/мин, затем 10 минут центрифугировали при 10000 об/мин.

Полученный супернатант упаривали досуха в токе азота при комнатной температуре. Сухой остаток растворяли в 0,3 мл подвижной фазы для дальнейшего анализа, с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. Контрольные растворы парацетамола готовили в ацетонитриле в следующих концентрациях: 0,1; 0,5; 1; 2,5; 5 и 10 мкг/мл. С целью количественного определения парацетамола использовали систему высокоэффективной жидкостной хроматографии Agilent 1100. С выхода системы образец подавался на вход двойного масс-спектрометра API 2000 компании Applied Biosystems. В качестве источника ионов в масс-спектрометре использовался электрораспылительный модуль TurboIonSpray, работающий в режиме положительных ионов. Анализ опытных проб проводился на масс-спектрометре API-2000 в режиме MRM. Результаты сравнительного исследования фармакокинетики новой ЛФ парацетамола на основе биополимерной матрицы и исходной субстанции приведены на рис. 6.

Рис. 6

Влияние размера частиц на содержание парацетамола в крови кроликов после однократного перорального введения в дозе 30 мг/кг



Как показано на *рис. 6* препарат, основанный на включённом в биополимерную матрицу парацетамолу со средним размером частиц 1 мкм, имеет наилучшие фармакокинетические показатели. Таким образом, использование такой ЛФ позволяет значительной степени понизить пиковую концентрацию парацетамола и способствует увеличению продолжительности действия и выделения ЛВ (более чем в 2 раза).

Заключение

Интенсивное развитие систем доставки лекарств на основе микро- и нанотехнологий приводит не только к продлению времени жизни известных ЛС на международном фармацевтическом рынке, но и появлению препаратов с улучшенными фармаколо-

гическими и фармакокинетическими свойствами, что существенным образом позволяет расширить границы их использования. Разработка инновационных ЛФ не требует больших капиталовложений, а достигаемые эффекты весьма значительны для здравоохранения и экономики. В связи с этим, поддержка отечественных разработчиков и производителей улучшенных ЛФ является чрезвычайно перспективным ресурсом развития фармацевтической индустрии и технологий, науки, медицины и инновационной экономики РФ в целом. Разработка новых эффективных ЛФ с применением передовых микро- и нанотехнологий имеет все шансы стать одним из приоритетных направлений в области государственной научно-технической и экономической политики.

Литература

1. Dutta R.C. Drug carriers in pharmaceutical design: promises and progress. *Curr. Pharm. Des.* 2007; 13: 7: 761-769.
2. Caruthers S.D., Wickline S.A., Lanza G.M. Nanotechnological applications in medicine. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007; 18: 1: 26-30.
3. Euliss L.E., DuPont J.A., Gratton S., DeSimone J. Imparting size, shape, and composition control of materials for nanomedicine. *Chem. Soc. Rev.* 2006; 35: 11: 1095-104.
4. Medvedeva N.V., Ipatova O.M., Ivanov Iu.D. et al. Nanobiotechnology and nanomedicine. *Biomed. Khim.* 2006; 52: 6: 529-546.
5. Leoni L., Desai T.A. Nanoporous biocapsules for the encapsulation of insulinoma cells: biotransport and biocompatibility considerations. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 2001; 48: 11: 1335-1341.
6. Onishi H., Machida Y. Macromolecular and nanotechnological modification of camptothecin and its analogs to improve the efficacy. *Curr. Drug Discov. Technol.* 2005; 2: 3: 169-183.
7. Kazakov S., Levon K. Liposome-nanogel structures for future pharmaceutical applications. *Curr. Pharm. Des.* 2006; 12: 36: 4713-4728.
8. Bai S., Thomas C., Rawat A., Ahsan F. Recent progress in dendrimer-based nanocarriers. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 2006; 23: 6: 437-495.
9. Torchilin V.P. Micellar nanocarriers: pharmaceutical perspectives. *Pharm. Res.* 2007; 24: 1: 1-16.
10. Sakaguchi H., Serizawa T., Akashi M. Preparation and characterization of stimuli-resistible hydrogels nano-coated with polyelectrolyte multilayer films. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2006; 6: 4: 1124-1127.
11. Nahar M., Dutta T., Murugesan S. et al. Functional polymeric nanoparticles: an efficient and promising tool for active delivery of bioactives. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 2006; 23: 4: 259-318.
12. Zakharian T.Y., Seryshev A., Sitharaman B. et al. A fullerene-paclitaxel chemotherapeutic: synthesis, characterization, and study of biological activity in tissue culture. *J. Am. Chem. Soc.* 2005; 127: 36: 12508-12509.
13. Ebbesen M., Jensen T.G. Nanomedicine: techniques, potentials, and ethical implications. *J. Biomed. Biotechnol.* 2006; 2006: 5: 51516.
14. Pelkmans L., Fava E., Grabner H. et al. Genome-wide analysis of human kinases in clathrin- and caveolae/raft-mediated endocytosis. *Nature* 2005; 436: 78-86.
15. Geng F., Shen Y., Peng B. et al. Visualization and characterization of drug carrier transportation and distribution *in vivo*. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2005; 1: 508-11.
16. Manabe N., Hoshino A., Liang Y.Q. et al. Quantum dot as a drug tracer *in vivo*. *IEEE Trans. Nanobioscience.* 2006; 5: 4: 263-267.