








Н.И. Бурдаев¹ 
Л.Л. Николаева^{2,3} 
В.В. Косенко¹ 
З.С. Шпрах^{2,3} 
Н.Д. Бунятян^{1,3} 

Липосомы как носители лекарственных средств: классификация, методы получения и применение

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Каширское ш., д. 24, Москва, 115522, Российская Федерация

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

✉ Бурдаев Николай Игоревич; burd.mobile@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Липосомы – одна из наиболее известных и перспективных наноразмерных систем доставки лекарственных средств. Липосомальные лекарственные средства успешно применяются в клинической практике для лечения сердечно-сосудистых, онкологических, дерматологических и ряда других заболеваний. Разработка и широкое внедрение липосом в клиническую практику являются актуальными задачами.

Цель работы: обобщение и анализ научных данных о структуре липосом, их составе, классификации, особенностях методов получения.

Приведена актуальная информация о коммерческих липосомальных лекарственных препаратах (ЛЛП). Показана взаимосвязь состава, структуры и способов получения липосом, важными характеристиками которых являются размер и ламеллярность, определяющие эффективность инкапсуляции лекарственного средства и его биораспределение. Выбор вспомогательных веществ проводится в зависимости от области применения липосомального препарата. Обобщены основные методы получения липосом, особенности их использования, преимущества и недостатки. Показано, что традиционные методы получения липосом просты в исполнении и не требуют использования сложного оборудования, основными недостатками традиционных методов являются низкая эффективность инкапсуляции лекарственных средств и сложность масштабирования технологических процессов. Особое внимание уделено микрофлюидным технологиям получения липосом, которые характеризуются высокой степенью контроля технологического процесса (распределения липосом по размерам и ламеллярности), высокой воспроизводимостью, возможностью масштабирования на уровень промышленного производства и могут использоваться для инкапсуляции лекарственных средств различной природы.

Ключевые слова: липосомы; липосомальные лекарственные препараты; классификация липосом; структура и состав липосом; методы получения липосом; микрофлюидика

Для цитирования: Бурдаев Н.И., Николаева Л.Л., Косенко В.В., Шпрах З.С., Бунятян Н.Д. Липосомы как носители лекарственных средств: классификация, методы получения и применение. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-508>

N.I. Burdaev¹ 
L.L. Nikolaeva^{2,3} 
V.V. Kosenko¹ 
Z.S. Shprakh^{2,3} 
N.D. Bunyatyan^{1,3} 

Liposomes as Drug Carriers: Classification, Preparation Methods, and Medicinal Use

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, 24 Kashirskoe Hwy, Moscow 115522, Russian Federation

³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

✉ **Nikolay I. Burdaev**; burd.mobile@gmail.com

ABSTRACT

Liposomes are one of the most well-known and promising nanoscale drug delivery systems. Liposomal medicinal products are successfully used in clinical practice for cardiovascular, oncological, dermatological, and other indications. The development of liposomes and their widespread implementation in clinical practice are relevant tasks.

The aim of the study was to summarise and analyse scientific data regarding the structure, composition, and classification of liposomes, as well as specific aspects of liposome production methods.

This review covers up-to-date information on marketed liposomal medicinal products. The authors illustrate how production methods affect the composition and structure of liposomes. The size and lamellarity are important characteristics of liposomes that determine the encapsulation efficiency and biodistribution of active pharmaceutical ingredients (APIs). The choice of excipients depends on the intended use of liposomal medicinal products. The article summarises the main liposome production methods, highlighting specific usage aspects, advantages and disadvantages. Conventional liposome production methods are easy to apply and do not require complex equipment, and their principal disadvantages include the low efficiency of API encapsulation within liposomes and the high complexity of scaling up technological processes. The authors pay special attention to microfluidic techniques for liposome preparation, which are characterised by a highly controlled technological process (in terms of size distribution and lamellarity), high reproducibility, and scalability to the level of industrial production and are applicable to encapsulating different APIs.

Key words: liposomes; liposomal medicinal products; classification of liposomes; structure and composition of liposomes; liposome preparation methods; microfluidics

For citation: Burdaev N.I., Nikolaeva L.L., Kosenko V.V., Shprakh Z.S., Bunyatyan N.D. Liposomes as drug carriers: classification, preparation methods, and medicinal use. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-508>

Введение

Липосомы, известные как липидные везикулы и иногда называемые просто везикулами, представляют собой микроскопические сферические структуры, состоящие из одного или нескольких липидных бислоев, обычно включающих природные и синтетические фосфолипиды и напоминающих плазматическую мембрану клетки [1]. Свойства липосом позволяют широко использовать их в качестве модельных биомембран, а также как средства доставки различных биологически активных веществ, прежде всего лекарственных средств (ЛС) [2–4].

Чаще всего липосомы используют для защиты ЛС от деградации *in vivo*, для контролируемого высвобождения активного вещества и модификации биораспределения, для направленного транспорта активных ингредиентов, повышения биодоступности и снижения нежелательных побочных эффектов. Значительным преимуществом липосом является их высокая биосовместимость, низкая иммуногенность, способность компонентов липосомальных мембран к биодеградации [5]. Парентеральное введение липосом позволяет исключить проблемы, обычные для перорального введения

ЛС: пресистемный метаболизм ЛС, плохую проницаемость желудочно-кишечного тракта и побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта [6]. Интерес к липосомам как системам доставки ЛС связан и с простотой методов их получения, и со способностью инкапсулировать широкий спектр ЛС независимо от их гидрофобности, заряда, размера и других физико-химических свойств. Липосомы способны включать как гидрофильные агенты во внутреннее водное пространство, так и липофильные субстанции – в мембраны [5, 6]. В настоящее время липосомы являются наиболее известной системой доставки ЛС на основе наночастиц, одобренной для использования в клинической практике [6, 7].

Анализ публикаций в базе данных Scopus за последние 25 лет показывает экспоненциальный рост количества исследований, посвященных липосомам как носителям ЛС, с ~ 1500 в 1995 г. до ~ 3000 в 2020 г. [8]. При подготовке настоящего обзора проведен анализ публикаций за период с 1965 по 2022 г., при этом основное внимание уделено публикациям последних лет (2019–2022 гг.).

Цель работы – обобщение и анализ научных данных о структуре липосом, их составе, классификации и особенностях методов получения.

Липосомальные лекарственные препараты

Липосомы как системы доставки ЛС впервые были описаны А.Д. Vangham и соавт. в 1964 г. [9], и прошло почти 30 лет до появления на фармацевтическом рынке первых липосомальных препаратов Амбизом® и Doxil® [10, 11].

Липосомальные ЛС используют в лечении диабета, сердечно-сосудистых, воспалительных, нейродегенеративных, онкологических и ряда других заболеваний [2]. В настоящее время в клиническую практику введены 14 липосомальных лекарственных препаратов (ЛЛП) как системы доставки противоопухолевых и противомикробных агентов, вакцины против опоясывающего лишая, анальгетика [12–20].

В *таблице 1* приведена информация о ЛЛП, одобренных к медицинскому применению Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA) и Европейским агентством по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) (данный перечень

не включает липидные комплексы, например Abelcet®, Amphotec®, Амфолип и Onpattro®; вирусомальные вакцины, например Eраxal® и Inflexal®). В Российской Федерации в настоящее время зарегистрированы ЛЛП, включающие действующие вещества амфотерицин (Амбизом®, Амфотерицин В липосомальный) и доксорубин (Келикс®)¹.

Лекарственные формы липосомальных препаратов представляют собой стерильные дисперсии или лиофилизаты для приготовления дисперсий для инъекций, а пути их введения включают внутривенные инфузии, внутримышечные и интратекальные инъекции, эпидуральное введение, локальную инфильтрацию и пероральные ингаляции (*табл. 1*).

Классификация липосом

Классификацию липосом в основном проводят по размеру; при этом выделяют маленькие однослойные везикулы (МОВ – small unilamellar vesicles, SUVs) размером 20–100 нм, большие однослойные везикулы (БОВ – large unilamellar vesicles, LUVs) >100 нм и гигантские однослойные везикулы (ГОВ – giant unilamellar vesicles, GUVs) >1 мкм [19].

Важной характеристикой липосомальной мембраны является ее ламеллярность, или количество бислоев. Если водное пространство захватывается многими слоями бислоев, такие везикулы называют мультиламеллярными (МЛВ – multilamellar vesicles, MLVs, >0,5 мкм, >5 бислоев) или олиголамеллярными (ОЛВ – oligolamellar vesicles, OLVs, 0,1–1 мкм, 2–5 бислоев), а если одна бислоевая везикула инкапсулирует множество неконцентрических бислоев, то она известна как мультивезикулярная везикула (МВВ – multivesicular vesicles, MVVs, >1 мкм).

Поскольку БОВ имеют сравнительно больший захватываемый объем водного раствора, чем МОВ и МЛВ, они чаще всего используются для включения гидрофильных молекул. МЛВ, наоборот, могут быть хорошим выбором для включения гидрофобных молекул, поскольку они имеют несколько гидрофобных бислоев. ГОВ часто используются в качестве мембранных модельных систем из-за большого размера, что позволяет их визуализировать методом оптической микроскопии и проводить микроманипуляции с отдельными везикулами [21].

Размер липосомальных везикул, их распределение по размерам и количество бислоев

¹ www.grls.rosminzdrav.ru

Таблица 1. Липосомальные лекарственные препараты, зарегистрированные за рубежом²

Table 1. Liposomal medicinal products authorised abroad²

| Препарат <i>Medicinal product</i> | Активное вещество, МНН <i>Active substance, INN</i> | Лекарственная форма и путь введения <i>Dosage form and route of administration</i> | Применение <i>Indication</i> |
|--------------------------------------|--|--|--|
| AmBisome® | Амфотерицин <i>Amphotericin</i> | Лио, в/в <i>Lyo, IV</i> | Системные грибковые инфекции <i>Systemic fungal infections</i> |
| DaunoXome® | Даунорубицин <i>Daunorubicin</i> | Дисперсия, в/в <i>Dispersion, IV</i> | Лейкемия <i>Leukaemia</i> |
| DepoCyt® | Цитарабин <i>Cytarabine</i> | Дисперсия, и/т <i>Dispersion, IT</i> | Неопластический и лимфоматозный менингит <i>Neoplastic and lymphomatous meningitis</i> |
| DepoDur® | Морфин <i>Morphine</i> | Дисперсия, эпидурально <i>Dispersion, epidural</i> | Анальгезия <i>Analgesia</i> |
| Doxil® | Доксорубицин <i>Doxorubicin</i> | Дисперсия, в/в <i>Dispersion, IV</i> | Рак яичников, саркома Капоши, рак молочной железы <i>Ovarian cancer, Kaposi's sarcoma, breast cancer</i> |
| Exparel® | Бупивакаин <i>Bupivacaine</i> | Дисперсия, локальная инфильтрация <i>Dispersion, local infiltration</i> | Послеоперационная анальгезия <i>Postoperative analgesia</i> |
| Marqibo® | Винкристин <i>Vincristine</i> | Лио, в/в <i>Lyo, IV</i> | Неходжкинская лимфома и лейкемия <i>Non-Hodgkin lymphoma and leukaemia</i> |
| Mepact® | Мифамуртид <i>Mifamurtide</i> | Лио, в/в <i>Lyo, IV</i> | Остеосаркома <i>Osteosarcoma</i> |
| Myocet® | Доксорубицин <i>Doxorubicin</i> | Лио в/в <i>Lyo, IV</i> | Метастатический рак молочной железы <i>Metastatic breast cancer</i> |
| Visudyne® | Вертепорфин <i>Verteporfin</i> | Лио, в/в <i>Lyo, IV</i> | Возрастная макулярная дегенерация <i>Age-related macular degeneration</i> |
| Onivyde® | Иринотекан <i>Irinotecan</i> | Дисперсия, в/в <i>Dispersion, IV</i> | Панкреатическая аденокарцинома <i>Pancreatic adenocarcinoma</i> |
| Vuxeos® | Даунорубицин/ Цитарабин <i>Daunorubicin/Cytarabine</i> | Лио, в/в <i>Lyo, IV</i> | Острая миелоидная лейкемия <i>Acute myeloid leukaemia</i> |
| Arikayce® | Амикацин <i>Amikacin</i> | Дисперсия, пероральная ингаляция <i>Dispersion, oral inhalation</i> | Инфекции легких <i>Lung infections</i> |
| Shingrix | Вакцина на основе гликопротеина E <i>Glycoprotein E vaccine</i> | Дисперсия, в/м <i>Dispersion, IM</i> | Вакцинация против опоясывающего лишая и постгерпетической невралгии <i>Vaccination against herpes zoster and postherpetic neuralgia</i> |

Примечание. МНН – международное непатентованное наименование; в/в – внутривенно; и/т – интратекально; в/м – внутримышечно; лио – лиофилизат.

Note. INN, international non-proprietary name; IV, intravenous; IT, intrathecal; IM, intramuscular; lyo, lyophilisate.

определяют эффективность инкапсуляции ЛС, его биотрансформацию, биораспределение и выведение из организма, нацеленность на определенный орган [22, 23]. Любая изменчивость размеров приводит к изменчивости указанных параметров [7].

На размеры и распределение везикул по размерам влияет также технология производства. Составы липосомальных везикул коммерческих ЛЛП, их структура, размеры и способы получения приведены в таблице 2.

Гидрофильные группы липидов липосомальной мембраны могут быть отрицательно или положительно заряженными, что позволяет классифицировать липосомы как катионные или анионные [41].

Структура и состав липосом

Основным структурным компонентом липосом являются фосфолипиды, имеющие амфифильную природу, то есть включающие липофильную длинную углеводородную цепь(и)

² <https://www.fda.gov/drugs>
<https://www.ema.europa.eu>

Таблица 2. Структура и способ получения коммерческих липосомальных продуктов

Table 2. Structures and preparation methods of marketed liposomal medicinal products

| Лекарственный препарат <i>Medicinal product</i> | Состав <i>Composition</i> | Структура и размер частиц, мкм <i>Structure and particle size, µm</i> | Способ получения/загрузки <i>Production/loading method</i> |
|--|------------------------------|--|---|
| AmBisome® (Амбизом® / <i>AmBisome</i>) | HSPC:DSPG:chol | МОВ, 50–100 [7] <i>SUVs</i> | Гидратация тонкой пленки [24] <i>Thin-film hydration</i> |
| DaunoXome® | DSPC:chol | МОВ, 45–80 [18] <i>SUVs</i> | Гидратация тонкой пленки / pH-градиент [7, 8] <i>Thin-film hydration, pH gradient hydration</i> |
| DepoCyt® | DOPC:DPPG | МЛВ, 20000 [25, 26] <i>MLVs</i> | Метод двойных эмульсий [27] <i>Double emulsion method</i> |
| DepoDur® | DOPC: DPPG | МЛВ, 17000–23000 [28] <i>MLVs</i> | Метод двойных эмульсий [27] <i>Double emulsion method</i> |
| Doxil® (Келикс® / <i>Caelyx</i>) | HSPC:chol:DSPE-PEG2000 | МЛВ, около 100 [18] <i>SUVs, about 100</i> | Гидратация тонкой пленки / pH-градиент [7, 29] <i>Thin-film hydration, pH gradient hydration</i> |
| Exparel® | DEPC:DPPG:chol:TC | МЛВ, 24000–31000 [30] <i>MLVs</i> | Метод двойных эмульсий [27] <i>Double emulsion method</i> |
| Marqibo® | SPH:chol | МОВ, 100 <i>SUVs</i> | Гидратация тонкой пленки / pH-градиент [7, 31] <i>Thin-film hydration, pH gradient hydration</i> |
| Mepact® | DOPC:DOPS | МЛВ, 1000–5000 [32] <i>MLVs</i> | – |
| Myocet® | EPC:chol | МЛВ, 80–90 [18, 33] <i>MLVs</i> | Гидратация тонкой пленки / pH-градиент [7, 33] <i>Thin-film hydration, pH gradient hydration</i> |
| Visudyne® | EPG:DMPC | МОВ, 18–104 [34] <i>SUVs</i> | Гидратация тонкой пленки [24] <i>Thin-film hydration</i> |
| Onivyde® | DSPC:chol:DSPE-PEG2000 | МОВ, 110 <i>SUVs</i> | Гидратация тонкой пленки / pH-градиент [35] <i>Thin-film hydration, pH gradient hydration</i> |
| Vyxeos® | DSPC:DSPG:chol | Биламеллярные везикулы, 107 [36] <i>Bilamellar vesicles</i> | Гидратация тонкой пленки / pH-градиент [7, 8] <i>Thin-film hydration, pH gradient hydration</i> |
| Arikayce® | DPPC:chol | БОВ, 200–300 [37, 38] <i>LUVs</i> | Метод впрыска растворителя [39] <i>Solvent injection method</i> |
| Shingrix | DOPC:chol | МОВ, 50–100 [40] <i>SUVs</i> | Гидратация тонкой пленки [24] <i>Thin-film hydration</i> |

Примечание. МОВ – маленькие однослойные везикулы; БОВ – большие однослойные везикулы; МЛВ – мультиламеллярные везикулы; HSPC – полностью гидрогенизированный соевый фосфатидилхолин; EPC – яичный фосфатидилхолин; EPG – яичный фосфатидилглицерин; SPH – сфингомиелин; DSPC – дистеароилфосфатидилхолин; DOPC – диолеоилфосфатидилхолин; DEPC – диерукоилфосфатидилхолин; DPPC – дипальмитоилфосфатидилхолин; DMPC – димристоилфосфатидилхолин; DPPG – дипальмитоилфосфатидилглицерин; DSPG – дистеароилфосфатидилглицерин; DOPS – диолеоилфосфатидилсерин; chol – холестерин; TC – трикаприлин; DSPE-PEG2000 – N-(карбонил-метоксиполиэтиленгликоль-2000)-дистеароилфосфатидилэтаноламин, «–» – данные отсутствуют.

Note. SUVs, small unilamellar vesicles; LUVs, large unilamellar vesicles; MLVs, multilamellar vesicles; HSPC, fully hydrogenated soy phosphatidylcholine; EPC, egg phosphatidylcholine; EPG, egg phosphatidylglycerol; SPH, sphingomyelin; DSPC, distearoylphosphatidylcholine; DOPC, dioleoylphosphatidylcholine; DEPC, dierucoylphosphatidylcholine; DPPC, dipalmitoylphosphatidylcholine; DMPC, dimyristoylphosphatidylcholine; DPPG, dipalmitoylphosphatidylglycerol; DSPG, distearoylphosphatidylglycerol; DOPS, dioleoylphosphatidylserine; chol, cholesterol; TC, tricaprilyn; DSPE-PEG2000, N-(carbonyl-methoxypolyethyleneglycol-2000)-distearoylphosphatidylethanolamine; –, not available.

и водорастворимую гидрофильную головку. В присутствии воды такие липиды агрегируют (самособираются) в различные структуры: плоские липидные бислои, мицеллы и (или) везикулы, геометрия которых зависит от структуры липидов [41]. Именно липиды, используемые при получении липосом, определяют их

свойства: природа липидов влияет на заряд поверхности бислоя, биораспределение, проницаемость, высвобождение и клиренс активного вещества [42], а также определяет эффективность включения, стабильность и токсичность липосомальных лекарственных форм [43]. Так, в недавнем исследовании К.А. Carter и соавт.

использовали порфирин-фосфолипиды для получения липосомального препарата с контролируемым высвобождением доксорубина (DOX) при облучении в ближней инфракрасной области [44]. A S.M. Park и соавт. вводили в состав липосом с DOX эластичный полипептид, конъюгированный с жирными кислотами: при этом высвобождение DOX «запускалось» при повышении температуры в качестве внешнего стимула [45].

Обычно липосомальные мембраны включают не только фосфолипиды. Для снижения проницаемости липосомальной мембраны и, соответственно, уменьшения вытекания активного соединения в мембрану добавляют вспомогательные вещества. Чаще всего используют холестерин, который оказывает модулирующее действие на физико-химические свойства мембран. Холестерин повышает стабильность липосомальной мембраны за счет снижения ее проницаемости в присутствии биологических жидкостей, таких как кровь и плазма. Количество холестерина, включаемого в липосомальный бислой, зависит от предполагаемой области применения липосомального препарата [18, 46, 47].

R.J. Quinn и соавт. показали, что введение в липосомальную мембрану α -токоферола обеспечивает более высокий терапевтический потенциал ЛПП. Это происходит за счет индукции активных форм кислорода в поврежденной ткани, что облегчает внутриклеточную доставку ЛС и продлевает время удерживания инкапсулированного ЛС [48].

Чтобы повысить стабильность и нагружаемость липосом и придать им способность реагировать на воздействие температуры, света, pH и других внешних факторов и (или) активно распознавать конкретную мишень, в состав оболочки везикул включают полимеры [49]. Обычно для этих целей используют полиэтиленгликоль (ПЭГ), получая стерически стабилизированные (stealth, стелс) липосомы [50]. ПЭГ-липосомы с трудом распознаются клетками ретикулоэндотелиальной системы (РЭС), что позволяет увеличить время циркуляции липосом в кровяном русле, защитить их от инактивации или метаболической деградации. Кроме того, ПЭГ-липосомы демонстрируют повышенную стабильность при хранении [51, 52]. Так, в исследовании C. Caddeo и соавт. показано, что липосомы, модифицированные ПЭГ, практически не изменялись после 2 мес. хранения, тогда как обычные липосомы демонстрировали прогрессирующую агрегацию и преципитацию [53]. Однако пегилирование липосом не только

повышает стабильность везикул, но также может ограничивать клеточный захват и эндосомальное высвобождение, снижая конечный терапевтический эффект [54], и вызывать нежелательные реакции различной степени тяжести, вплоть до анафилактического шока [55, 56].

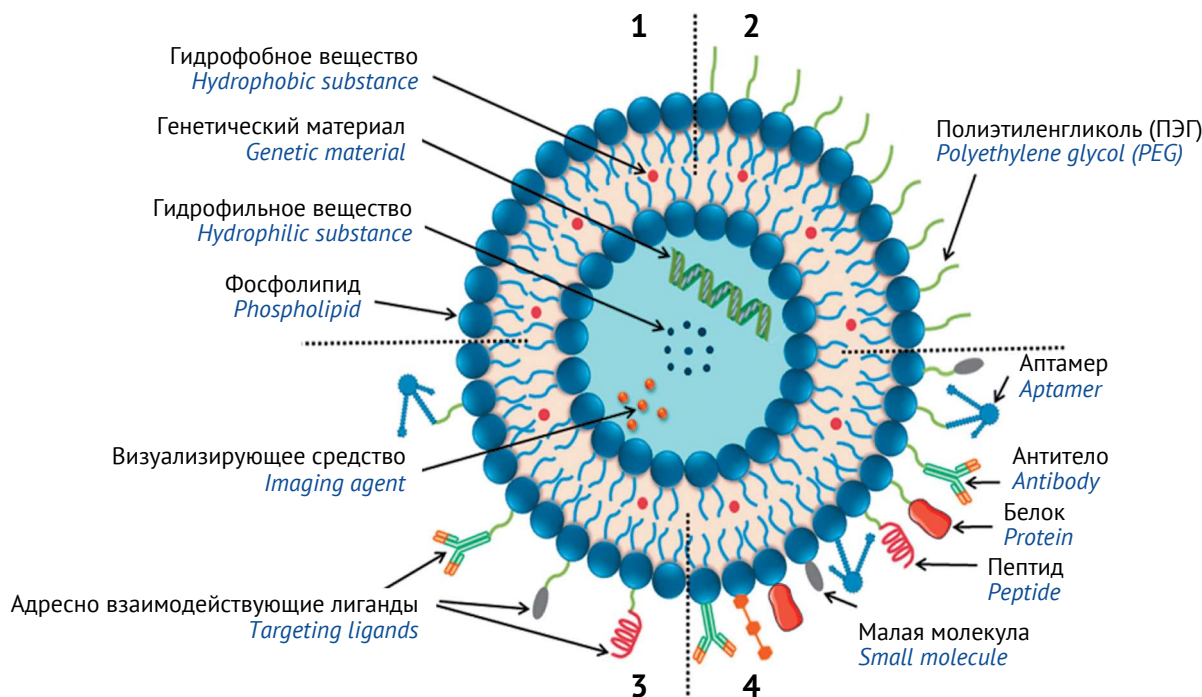
Включение ПЭГ в состав липосомальной мембраны обеспечивает длительную циркуляцию ЛС, заключенного в наночастицу, в крови, его пассивное нацеливание (passive targeting), опосредованное эффектом повышенной проницаемости и удерживания (enhanced permeability and retention), и накопление в тканях-мишенях. Активное нацеливание (active targeting) ЛС требует включения в состав липосомальной мембраны специфических лигандов [57], таких как антитела, белки, пептиды и нуклеиновые кислоты, аптамеры, витамины и углеводы, что обеспечивает направленный транспорт липосом к клеткам, экспрессирующим на поверхности соответствующие рецепторы (рис. 1).

Традиционные методы получения липосом

Липосомы могут быть получены традиционными методами, такими как метод Бэнгхэма (конвекционный метод или метод гидратации тонкой пленки), метод удаления детергента, метод впрыска (инъекции) растворителя, метод обратного-фазового выпаривания (выпаривания с обращением фаз) и др. [59, 60].

Данные методы просты в исполнении, однако технологический процесс получения липосом достаточно сложно масштабировать и контролировать, а недостаточная воспроизводимость результатов приводит к неоднородности между сериями, что затрудняет эффективное использование разработанных липосомальных ЛС при переходе к их клиническому применению [2, 8, 18].

Основной целью получения липосомального нанопрепарата являются формирование монодисперсных частиц с узким распределением по размерам и требуемой степенью ламеллярности, эффективное включение ЛС и длительная стабильность получаемого продукта. При использовании традиционных методов получения липиды, первоначально растворенные в органическом растворителе, смешивают с водной фазой. Наличие органического растворителя может нарушать химические свойства включенных активных соединений или влиять на стабильность/токсичность полученного нанопрепарата [61].



1 – обычная липосома; 2 – пегилированная липосома;

3 – мультифункциональная липосома; 4 – адресно-направленная липосома

1, conventional liposome; 2, PEGylated liposome; 3, multifunctional liposome; 4, ligand-targeted liposome

Рис. 1. Схематичная структура липосомы, содержащей гидрофобные и гидрофильные ЛС (по М.К. Riaz и соавт. [58] с изменениями)

Fig. 1. Schematic structure of a liposome containing hydrophobic and hydrophilic active substances (adapted from Riaz et al. [58])

Традиционные методы получения липосом включают следующие основные этапы:

- растворение липидов в органическом растворителе, приготовление раствора активного вещества;
- выпаривание органического растворителя (высушивание полученного липидного раствора);
- гидратация липида водной средой (с последующим взбалтыванием/перемешиванием);
- измельчение и (или) изменение ламеллярности (при необходимости);
- дополнительная обработка (очистка, стерилизация) (при необходимости);
- лиофилизация (при необходимости) и упаковка;
- характеристика конечного продукта [62, 63].

В зависимости от конкретного процесса стадия 2 (выпаривание органического растворителя) и стадия 3 (гидратация липида) могут меняться местами.

Метод гидратации тонкой пленки, также называемый методом Бэнгхэма, – первый широко используемый метод получения липосом, который эффективен для загрузки липофильных субстанций [9, 24]. Следует отметить, что эффективность

включения (encapsulation efficiency, EE) липофильных средств в липосомы всегда выше, так как они могут быть плотно «упакованы» в липидные мембраны.

При получении липосом данным методом липиды растворяют в органическом растворителе (дихлорметане, хлороформе, этаноле или смеси хлороформ-метанол), который затем удаляют выпариванием в вакууме с образованием тонкой липидной пленки. При гидратации липидной пленки в водной среде (водой или буферным раствором) образуются МЛВ или ГОВ, которые можно измельчить до БОВ и МОВ, применив механическое воздействие, например экструзию или озвучивание [24]. Активное вещество может быть активно или пассивно загружено во время или после формирования липосом соответственно.

Преимуществами метода Бэнгхэма являются его простота и возможность использования для различных типов липидов. Однако гидрофильные ЛС демонстрируют низкую эффективность включения, метод является трудоемким, сложности вызывают масштабирование процесса и удаление органического растворителя. Кроме того, липосомы, получаемые данным методом,

неоднородны по размеру. Тем не менее метод гидратации тонкой пленки применяют при получении большинства коммерческих ЛЛП (табл. 2). При этом загрузку водорастворимых активных субстанций (доксорибуцина, даунорубицина, винкристина и иринотекана) в липосомы проводят с помощью создания градиента pH (табл. 2).

Метод удаления детергента позволяет формировать везикулы с сохранением соответствующей биологической активности действующего вещества и наиболее часто используется для инкапсуляции плохо растворимых мембранных белков.

В данном методе липиды растворяют в растворе детергента [64], при этом детергент связывается с фосфолипидами, экранируя гидрофобные головки от прямого взаимодействия с водной фазой, и при этом образуются смешанные (детергент/липид) мицеллы. При удалении детергента смешанные мицеллы обогащаются липидами, что приводит к образованию однослойных везикул [65]. Обычно используют детергенты с высокой критической концентрацией мицеллообразования (ККМ), такие как холат натрия, Triton X-100, дезоксихолат натрия и алкил гликозид. Удаление детергента проводят различными методами, простейшим из которых является метод разбавления буферным раствором – при этом увеличиваются размер и полидисперсность исходных мицелл и происходит переход к везикулам, а затем постепенно, при более высоком разбавлении, к монодисперсным однослойным везикулам. На финальной стадии технологического процесса, когда концентрация детергента становится меньше ККМ, формируются липосомы.

Также для удаления детергента используют диализ, при этом формируются популяции гомогенных по размеру липосом, или колоночную гель-хроматографию, или центрифугирование.

Основными преимуществами метода удаления детергента являются контролируемость размера частиц и однородности продукта, которые в значительной мере зависят от скорости удаления детергента и исходного соотношения детергент/фосфолипид.

Недостатки данного метода связаны с медленным уравниванием промежуточных мицеллярных структур, наличием остатков детергента и сложностью удаления органического растворителя. Кроме того, методом удаления детергента удается получить дисперсии с низкой концентрацией липосом и низкой эффективностью включения гидрофобных соединений [61].

В **методе впрыска (инъекции) растворителя**, впервые описанном S. Batzri и E.D. Korn в 1973 г., в качестве растворителя липидов и липофильных субстанций обычно используют этанол ввиду его безопасности или диэтиловый эфир или смесь диэтилового эфира и этанола [39]. Органическую фазу быстро вводят в большой объем хорошо перемешанной, предварительно нагретой водной фазы, что приводит к самоагрегации липидов и спонтанному образованию МЛВ. Быстрое разбавление также способствует осаждению липидов и последующему формированию двухслойных плоских фрагментов, инкапсулирующих водную фазу. Органический растворитель удаляют выпариванием, лиофилизацией, диализом или диафильтрацией, что позволяет концентрировать суспензию липосом до необходимого объема. Испарение растворителя способствует слиянию фрагментов липидов и последовательному образованию закрытых однослойных везикул.

На свойства везикул влияют такие параметры, как скорость впрыска, температура органической и водной фазы, концентрация липидов и другие [39].

Основными преимуществами метода впрыска являются его простота и быстрота выполнения, высокий уровень воспроизводимости, а также возможность масштабирования. Использование для впрыска эфира позволяет получить концентрированный продукт с высокой эффективностью включения активного вещества.

Недостатки метода связаны с трудностями удаления растворителей, в том числе этанола, за счет образования азеотропной смеси с водой, формированием гетерогенной (от 30 до 110 нм) популяции липосом и риском инактивации биологически активных макромолекул в присутствии даже небольших количеств этанола [65].

Метод впрыска этанола используют для получения Arikause® – при этом для формирования наноразмерных липосом амикацина минимальное количество спиртового раствора липидов и водного раствора амикацина сульфата смешивают в коннекторе и встроенном миксере [16, 37].

Метод обратно-фазового выпаривания. Обратно-фазовое выпаривание применяют для включения в водное внутреннее пространство липосомы гидрофильного лекарственного вещества [66]. Водную фазу, содержащую активное вещество, вводят в раствор липидов в органическом растворителе (например, в смеси эфира и хлороформа, диэтилового и изопропилового эфиров

или хлороформа и метанола), затем смесь обрабатывают ультразвуком, что приводит к образованию эмульсии «вода в масле» или инвертных мицелл. После медленного выпаривания растворителя под вакуумом получают вязкий или гелеобразный продукт, к которому прибавляют воду или буферный раствор и встряхивают до образования гомогенных липосом (МЛВ).

Основным преимуществом метода обратного-фазового выпаривания является высокая эффективность включения (до 80%) гидрофильных активных веществ [66]. Кроме того, технически простой метод обратного-фазового выпаривания позволяет включать в липосомы не только малые, но и большие молекулы, а также макромолекулы.

В настоящее время метод обратного-фазового выпаривания используется для комбинированного включения терапевтических и диагностических ЛС в одну и ту же липидную тераностическую наносистему.

Основным недостатком метода является использование большого количества органических растворителей и, соответственно, присутствие в готовой лекарственной форме остаточных растворителей, которые могут быть удалены диализом или при центрифугировании. Кроме того, метод невозможно использовать для включения в липосомы «хрупких» молекул, например пептидов, поскольку загружаемое ЛС контактирует с органическим растворителем. А молекулы ферментов, белков или олигонуклеотидов при механическом перемешивании и воздействии органического растворителя претерпевают конформационные изменения (происходит денатурация белка, разрушение цепи ДНК). К недостаткам метода также можно отнести сложность масштабирования процесса и затраты большого количества времени [16, 67].

Метод двойных эмульсий, также известный как DepoFoam platform™, используют для получения МЛВ трех коммерческих продуктов: DepoCyt®, DepoDur® и Exparel® (табл. 2).

Цикл получения липосом методом двойных эмульсий обычно включает четыре основных технологических операции: 1) получение эмульсии «вода в масле»; 2) формирование эмульсии «вода в масле в воде»; 3) экстракция растворителя с использованием вакуумного насоса или газообразного реактива (stripping gas); 4) микрофильтрация для удаления невключенного ЛС и смены внешнего раствора [27]. Получаемые МЛВ имеют преимущества по сравнению

с другими системами доставки ЛС, поскольку многочисленные внутренние липидные мембраны обеспечивают высокую стабильность при хранении, хороший контроль за скоростью высвобождения ЛС, высокоэффективное включение гидрофильных молекул и относительно простое масштабирование производства [28].

Технологический процесс получения липосом методом двойных эмульсий следует проводить в асептических условиях, поскольку МЛВ из-за размера частиц не могут подвергаться стерильной фильтрации через фильтры с диаметром пор 0,22 мкм.

В. Lu и соавт. показали, что размер частиц первой эмульсии «вода в масле» увеличивается с повышением концентрации липидов. Для второй эмульсии («вода в масле в воде») эффективность включения снижается при удалении растворителя, так как происходит деформация части МЛВ и вытекание ЛС из внутренней водной фазы. Кроме того, высокая температура технологического процесса способствует подвижности и перестройке липидных бислоев, что приводит к слиянию липидов и деформации водных камер липосом [67].

Объемным методом получения липосом, хорошо зарекомендовавшим себя в экспериментальных работах, является метод **электроформования**, который предполагает формирование липидного слоя на электроде. Под воздействием электрического поля заданного напряжения и частоты происходит отслаивание липидов с электрода и их самосборка в ГОВ. Однако именно использование электрического поля является потенциальным недостатком данного метода, поскольку при этом могут разрушаться белки, чувствительные к электрическим полям [68].

Методы измельчения липосом

Размер и распределение по размерам являются критическими показателями эффективности и безопасности липосом. Для уменьшения размера липосом используют несколько методов: обработку ультразвуком, френч-пресс, экструзию, гомогенизацию или комбинированные методы, например экструзию с замораживанием-оттаиванием или замораживание-оттаивание с обработкой ультразвуком и метод гомогенизации-экструзии под высоким давлением [69, 70].

Все методы измельчения липосом имеют свои преимущества и недостатки. Так, обработка ультразвуком является достаточно быстрым методом и позволяет измельчить большое количество частиц в малом объеме, однако во время

зонации происходит выделение тепла, что может привести к деградации как фосфолипидов, так и активного вещества.

Метод замораживания-оттаивания позволяет измельчить МЛВ до БОВ или МОВ, однако с довольно широким распределением частиц по размерам (повышенным индексом полидисперсности).

Наиболее популярными и широко используемыми в фармацевтическом производстве являются экструзия и гомогенизация под высоким давлением (high-pressure homogenisation, HPH).

Для измельчения **методом экструзии** липосомы больших размеров пропускают через поликарбонатные мембраны с диаметром пор от 50 нм до 5 мкм или асимметричные керамические фильтры. Механизм уменьшения размеров данным методом заключается в том, что МЛВ разрываются на входе в пору мембраны и перестраиваются во время прохождения мембраны [71].

Экструзию используют при получении ЛЛП Onivyde®, Vuxeos® и Marqibo® (табл. 2). Метод экструзии относительно прост, хорошо воспроизводится и не требует особых условий, а критическими параметрами процесса являются размер пор поликарбонатной мембраны, количество циклов прохождения, давление, скорость потока и др., которые влияют на размер и ламеллярность липосом [72]. S.G.M. Ong и соавт. показали, что экструзия является наиболее эффективной по сравнению с другими методами измельчения, в том числе замораживанием-оттаиванием, ультразвуковым воздействием и гомогенизацией, однако при экструзии может измениться структура липосом и уменьшиться эффективность включения ЛС в липосомы [71].

Гомогенизацию высокого давления используют при производстве различных нанопрепаратов: липосом, нанокристаллов и наноземульсий. Достоинством метода является его масштабируемость и возможность использования в масштабах от лабораторных с производительностью 10 л/ч до крупных производственных с производительностью до 100 000 л/ч [73, 74]. Суспензию МЛВ под высоким давлением пропускают через узкое отверстие, при этом везикулы разрушаются за счет силы сдвига, турбулентности и кавитации жидкости, создаваемой градиентом скорости, а затем перестраиваются в более мелкие липосомы. Размер частиц и распределение по размерам определяются такими параметрами процесса гомогенизации, как давление, количество рабочих циклов, конструкция клапана

и скорость потока, а также свойствами образцов, в том числе составом и вязкостью объемной среды, начальным распределением частиц по размерам. Повышение давления и количества циклов гомогенизации уменьшают размер частиц и индекс полидисперсности, но приводят к снижению эффективности инкапсуляции. Данный метод используют при производстве Visudyne® и Амбизома (табл. 2).

Новые технологии получения липосомальных лекарственных средств

К основным недостаткам традиционных методов получения липосом относятся трудность масштабирования процесса и низкая эффективность инкапсуляции лекарственных веществ. Кроме того, традиционные методы обычно не подходят для получения липосом, включающих биомолекулы, которые могут подвергаться структурным или функциональным изменениям при воздействии детергентов, органических растворителей, процессов гомогенизации или обработки ультразвуком и др.

Преодолеть перечисленные недостатки позволяет использование современных методов получения липосом, например методов, основанных на микрофлюидных технологиях (микрофлюидика), подробно описанных в [2, 75–77].

Микрофлюидные технологии. Микрофлюидный метод получения липосом предполагает пропускание раствора фосфолипидов в органическом растворителе через микрофлюидные каналы, которые представляют собой стеклянные капилляры с диаметром отверстий от 5 до 500 мкм, в водную среду под высоким давлением. Липосомы образуются в результате локальной диффузии фосфолипидов в воду [78].

Ключевым преимуществом метода является возможность получения монодисперсных везикул. Поскольку микрофлюидика предполагает использование небольших объемов жидкостей и их точный контроль, это снижает стоимость реагентов, повышает производительность технологического процесса и улучшает аналитические характеристики получаемых везикул [78].

Методы микрофлюидики характеризуются ламинарным потоком и диффузионным массопереносом, что позволяет оценивать как размер, так и ламеллярность во время образования везикул. Использование микрофлюидных систем позволяет точно контролировать такие параметры, как температура, осмолярность, pH и др., что обеспечивает высокий уровень контроля технологического процесса в целом. Кроме того,

микрофлюидика позволяет осуществлять непрерывное производство липосом, масштабировать процесс за счет использования нескольких параллельных реакторов и отличается высокой воспроизводимостью и удобством использования, несмотря на громоздкость и сложность некоторых методов [2]. Очевидным преимуществом микрофлюидных систем является возможность удалять органическую фазу из конечных везикул. Микрофлюидные методы, которые можно использовать при получении липосом, включают гидродинамическое фокусирование, импульсный выброс, гидратацию капель льда, перенос капель эмульсии и др. [2, 76–78].

В методе **гидродинамического фокусирования** центральный поток липидов, растворенных в спирте, соединяется с двумя боковыми потоками водных растворов в одном микроканале. Когда спиртовой раствор разбавляется водными растворами до критической концентрации, липиды спонтанно самособираются в липосомы. Везикулы, сформировавшиеся с помощью данного метода, являются монодисперсными и, в зависимости от скорости потока водной фазы относительно липидной фазы, имеют диаметр 50–150 нм. Также на размер липосом и распределение по размерам влияют состав липидов и их концентрация [79].

S. Garg и соавт. отмечают, что использование метода гидродинамического фокусирования не требует этапов последующей обработки (например, измельчения) и позволяет получать однородные липосомы со строгим контролем их размера и ламеллярности [80].

Неоспоримым достоинством данного метода является возможность его применения для непрерывного производства везикул, а также простота масштабирования за счет использования параллельных микрореакторов [81]. Так, T.A. Balbino и соавт. разработали оборудование для двойного гидродинамического фокусирования, добавив дополнительную пару каналов: при этом скорость получения липосом увеличилась вдвое, их диаметр уменьшился, но не изменился индекс полидисперсности [82].

К недостаткам метода можно отнести большую вероятность того, что полученные липосомы могут содержать спирт, что отрицательно сказывается на устойчивости мембран [83].

Импульсный выброс представляет собой технику, напоминающую выдувание мыльных пузырей через петлю. С помощью микрофорсунки водный раствор распыляется небольшими струями

на плоскую липидную мембрану, при этом импульс водного раствора растягивает липидную мембрану, образуя везикулу [84]. Размер получаемых везикул можно настраивать, изменяя время распыления водного раствора. При повторении процесса можно получить большое количество монодисперсных ГОВ (300–600 мкм) с одновременным формированием небольшого количества более мелких «сателлитных везикул».

Основным преимуществом импульсного выброса является непосредственная инкапсуляция материалов, включенных в водный раствор, в формируемые везикулы, что позволяет с высокой эффективностью вводить в липосомы клетки, хромосомы, наночастицы и мембранные белки. Однако формирование липосом данным методом представляет собой сложную технологическую задачу, требующую специальных инженерных инструментов, навыков и выполнения трудоемких экспериментальных этапов, что ограничивает его широкое применение [81].

Метод **переноса капель эмульсии** впервые описан исследователями под руководством S. Pautot [85]: эмульсию «вода в масле», полученную перемешиванием водного раствора и суспензии липидов, повторно переносят в водную фазу. Для перекрытия липидного слоя капли эмульсии вытягивают второй монослой с поверхности раздела масло–вода, что приводит к образованию ГОВ. Такие ГОВ инкапсулируют различные макромолекулы как микробиореакторы с эффективностью включения до 98%, однако получаемые ГОВ являются полидисперсными, поскольку эмульсию получают встряхиванием. При последующей обработке ГОВ микрофлюидным методом, например методом гидродинамического фокусирования потока, можно получить монодисперсные ГОВ. Такая возможность сочетания метода переноса капель эмульсии и микрофлюидной обработки для получения монодисперсной эмульсии является основным преимуществом метода.

S. Sugiura и соавт. использовали метод **гидратации замороженных капель** для получения олиголамеллярных или мультисламеллярных гигантских везикул размером от 4 до 20 мкм [86]. На первой стадии получали монодисперсную эмульсию типа «вода в масле», используя сорбитан моноолеат и стерилламин как эмульсификаторы и гексан в качестве жировой фазы. На следующей стадии капли воды замораживали, гексан удаляли и замещали раствором липида и холестерина в гексане. Процедуру проводили

при температуре $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, чтобы капли воды оставались замороженными. Затем гексан выпаривали и к смеси липидов и замороженных капель воды прибавляли водный раствор, что приводило к образованию ГОВ. Ламеллярность полученных везикул и эффективность включения зависят от соотношения липид / капли воды и от состава внешней водной фазы. Для измельчения гигантских липосом их экструдировали через поликарбонатные мембраны, получая БОВ диаметром около 100 нм. Экструзия приводила к значительному снижению включения действующего вещества в липосомы, что ограничивает применение метода [87].

Другие микрофлюидные методы получения липосом. Временный вывод мембраны, впервые описанный S. Ota и соавт., включает специальную обработку липидного бислоя с образованием везикул: водный раствор с одной стороны мембраны нагревают, используя лазер, что вызывает вздутие и формирование пузырька, который отрывается с образованием липосомы [88]. Основным преимуществом данного метода является его полная интеграция с микрофлюидным оборудованием, позволяющая получать монодисперсные однослойные липосомы, а также возможность регулирования размера частиц. Поскольку внутренняя и внешняя водные фазы разделены двухслойной липидной мембраной, достигается высокая эффективность включения активных веществ в липосому [89].

Липосомы также можно получать с помощью микрофлюидного микромиксера, в котором происходит смешивание потоков (водной фазы и раствора липидов в этаноле) в микроканалах. Зигзагообразные («елочкой») узоры на дне канала значительно повышают эффективность смешивания, которую можно варьировать асимметрией «елочек» и их количеством на единицу площади. I.V. Zhigaltsev и соавт. первыми использовали данный метод для получения наноразмерных липосом липидных наночастиц размером до 20 нм, которые эффективно включали и удерживали доксорубицин [89]. Согласно результатам нескольких исследований, формирование липосом при использовании данного метода главным образом

зависит от композиции липидов и параметров перемешивания потоков, прежде всего их скорости и количества циклов [90].

К сожалению, большинство микрофлюидных подходов требуют использования дорогостоящих фосфолипидов, а технологический процесс включает применение токсичных реактивов. Другим существенным недостатком микрофлюидных устройств является относительно небольшая производительность при получении наноматериалов [77, 91, 92].

Заключение

За последние 25 лет наблюдается экспоненциальный рост количества исследований, посвященных липосомам как носителям ЛС, что подтверждает перспективность использования данного метода доставки при разработке лекарственных препаратов для лечения заболеваний высокой социальной значимости.

Традиционные методы получения липосом (гидратации тонкой пленки, удаления детергента, впрыска (инъекции) растворителя, обратно-фазового выпаривания и др.) просты в исполнении и не требуют использования сложного оборудования. Препятствиями для промышленного производства липосом данными методами являются недостаточная эффективность включения действующих веществ, низкая воспроизводимость между сериями, неудовлетворительная стабильность при хранении и, что наиболее важно, сложность масштабирования для получения препаратов для клинического использования.

Исследования в смежных областях, прежде всего в электрогидродинамике и микрофлюидике, а также понимание механизмов самосборки липидов под действием коллоидных и межмолекулярных сил привели к разработке более совершенных методов получения липосом. Показано, что использование микрофлюидных технологий улучшает эффективность и воспроизводимость инкапсуляции, позволяет контролировать как размер везикул, так и их ламеллярность. Возможность одновременного использования нескольких параллельных реакторов упрощает масштабирование технологических процессов до уровня промышленного производства.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Gregoriadis G. Liposomes in drug delivery: how it all happened. *Pharmaceutics*. 2016;8(2):19. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics8020019>
2. Filipczak N, Pan J, Yalamarty SSK, Torchilin VP. Recent advancements in liposome technology. *Adv Drug Deliver Rev*. 2020;156:4–22. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.06.022>
3. Sanarova E, Lantsova A, Oborotova N, Orlova O, Polozkova A, Dmitrieva M, Nikolaeva N. Liposome drug delivery. *J Pharm Sci & Res*. 2019;11(3):1148–55.

4. Pattni BS, Chupin VV, Torchilin VP. New developments in liposomal drug delivery. *Chem Rev*. 2015;115(19):10938–66.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00046>
5. Almeida B, Nag OK, Rogers KE, Delehanty JB. Recent progress in bioconjugation strategies for liposome-mediated drug delivery. *Molecules*. 2020;25(23):5672.
<https://doi.org/10.3390/molecules25235672>
6. Crommelin DJA, van Hoogevest P, Storm G. The role of liposomes in clinical nanomedicine development. What now? Now what? *J Control Release*. 2020;318:256–63.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.12.023>
7. Shan X, Gong X, Li J, Wen J, Li Y, Zhang Z. Current approaches of nanomedicines in the market and various stage of clinical translation. *Acta Pharm Sin B*. 2022;12(7):3028–48.
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.02.025>
8. Liu P, Chen G, Zhang J. A review of liposomes as a drug delivery system: current status of approved products, regulatory environments, and future perspectives. *Molecules*. 2022;27(4):1372.
<https://doi.org/10.3390/molecules27041372>
9. Bangham AD, Standish MM, Watkins JC. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J Mol Biol*. 1965;13(1):238–52.
[https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(65\)80093-6](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(65)80093-6)
10. Gulati M, Bajad S, Singh S, Ferdous AJ, Singh M. Development of liposomal amphotericin B formulation. *J Microencapsul*. 1998;15(2):137–51.
<https://doi.org/10.3109/02652049809006844>
11. Barenholz Y. Doxil® – the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J Control Release*. 2012;160(2):117–34.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.03.020>
12. Zhao M, Ding X, Shen J, Zhang X, Ding X, Xu B. Use of liposomal doxorubicin for adjuvant chemotherapy of breast cancer in clinical practice. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2017;18(1):15–26.
<https://doi.org/10.1631/jzus.B1600303>
13. Petre CE, Dittmer DP. Liposomal daunorubicin as treatment for Kaposi's sarcoma. *Int J Nanomedicine*. 2007;2(3):277–88.
PMID: 18019828
14. Taléns-Visconti R, Díez-Sales O, de Julián-Ortiz JV, Nácher A. Nanoliposomes in cancer therapy: marketed products and current clinical trials. *Int J Mol Sci*. 2022;23(8):4249.
<https://doi.org/10.3390/ijms23084249>
15. Stone NR, Bicanic T, Salim R, Hope W. Liposomal amphotericin B (AmBisome®): a review of the pharmacokinetics, pharmacodynamics, clinical experience and future directions. *Drugs*. 2016;76(4):485–500.
<https://doi.org/10.1007/s40265-016-0538-7>
16. Shirley M. Amikacin liposome inhalation suspension: a review in Mycobacterium avium complex lung disease. *Drugs*. 2019;79(5):555–62.
<https://doi.org/10.1007/s40265-019-01095-z>
17. Wang N, Chen M, Wang T. Liposomes used as a vaccine adjuvant-delivery system: from basics to clinical immunization. *J Control Release*. 2019;303:130–50.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.04.025>
18. Bulbake U, Doppalapudi S, Kommineni N, Khan W. Liposomal formulations in clinical use: an updated review. *Pharmaceutics*. 2017;9(2):12.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics9020012>
19. Andra VVSNL, Pammi SVN, Bhatraju LVKP, Rudraraju LK. A comprehensive review on novel liposomal methodologies, commercial formulations, clinical trials and patents. *Bionanoscience*. 2022;12(1):274–91.
<https://doi.org/10.1007/s12668-022-00941-x>
20. Ilfeld BM, Eisenach JC, Gabriel RA. Clinical effectiveness of liposomal bupivacaine administered by infiltration or peripheral nerve block to treat postoperative pain. *Anesthesiology*. 2021;134(2):283–344.
<https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000003630>
21. Ren H, He Y, Liang J, Cheng Z, Zhang M, Zhu Y, et al. Role of liposome size, surface charge, and PEGylation on rheumatoid arthritis targeting therapy. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2019;11(22):20304–15.
<https://doi.org/10.1021/acsami.8b22693>
22. Tretiakova DS, Vodovozova EL. Liposomes as adjuvants and vaccine delivery systems. *Biochem (Mosc) Suppl Ser A Membr Cell Biol*. 2022;16(1):1–20.
<https://doi.org/10.1134/S1990747822020076>
23. Mukhamadiyarov RA, Senokosova EA, Krutitsky SS, Voevoda DV, Pyshnaya IA, Ivanov VV, et al. Size-dependent ability of liposomes to accumulate in the ischemic myocardium and protect the heart. *J Cardiovasc Pharm*. 2018;72(3):143–52.
<https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000606>
24. Zhang H. Thin-film hydration followed by extrusion method for liposome preparation. *Methods Mol Biol*. 2017;1522:17–22.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6591-5_2
25. Salehi B, Mishra AP, Nigam M, Kobarfard F, Javed Z, Rajabi S, et al. Multivesicular liposome (depofoam) in human diseases. *Iran J Pharm Res*. 2020;19(2):9–21.
<https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.112291.13663>
26. Salehi B, Selamoglu ZS, Mileski K, Pezzani R, Redaelli M, Cho WC, et al. Liposomal cytarabine as cancer therapy: from chemistry to medicine. *Biomolecules*. 2019;9(12):773.
<https://doi.org/10.3390/biom9120773>
27. Chaurasiya A, Gorajiya A, Panchal K, Katke S, Singh AK. A review on multivesicular liposomes for pharmaceutical applications: preparation, characterization, and translational challenges. *Drug Deliv Transl Res*. 2022;12(7):1569–87.
<https://doi.org/10.1007/s13346-021-01060-y>
28. Angst MS, Drover DR. Pharmacology of drugs formulated with DepoFoam™. *Clin Pharmacokinet*. 2006;45(12):1153–76.
<https://doi.org/10.2165/00003088-200645120-00002>
29. Ibrahim M, Abuwatfa WH, Awad NS, Sabouni R, Hussein GA. Encapsulation, release, and cytotoxicity of doxorubicin loaded in liposomes, micelles, and metal-organic frameworks: a review. *Pharmaceutics*. 2022;14(2):254.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020254>
30. Beiranvand S, Eatemadi A, Karimi A. New updates pertaining to drug delivery of local anesthetics in particular bupivacaine using lipid nanoparticles.

- Nanoscale Res Lett.* 2016;11(1):307–17.
<https://doi.org/10.1186/s11671-016-1520-8>
31. Silverman JA, Deitcher SR. Marqibo® (vincristine sulfate liposome injection) improves the pharmacokinetics and pharmacodynamics of vincristine. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2013;71(3):555–64.
<https://doi.org/10.1007/s00280-012-2042-4>
 32. Venkatakrishnan K, Liu Y, Noe D, Mertz J, Bargfrede M, Marbury T, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of liposomal mifamurtide in adult volunteers with mild or moderate hepatic impairment. *Br J Clin Pharmacol.* 2014;77(6):998–1010.
<https://doi.org/10.1111/bcp.12261>
 33. Swenson CE, Perkins WR, Roberts P, Janoff AS. Liposome technology and the development of Myocet™ (liposomal doxorubicin citrate). *Breast.* 2001;10:1–7.
[https://doi.org/10.1016/S0960-9776\(01\)80001-1](https://doi.org/10.1016/S0960-9776(01)80001-1)
 34. Skupin-Mrugalska P, Piskorz J, Goslinski T, Mielcarek J, Konopka K, Düzgüneş N. Current status of liposomal porphyrinoid photosensitizers. *Drug Discov Today.* 2013;18(15–16):776–84.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.04.003>
 35. Milano G, Innocenti F, Minami H. Liposomal irinotecan (Onivyde): exemplifying the benefits of nanotherapeutic drugs. *Cancer Sci.* 2022;113(7):2224–31.
<https://doi.org/10.1111/cas.15377>
 36. Dicko A, Kwak S, Frazier AA, Mayer LD, Liboiron BD. Biophysical characterization of a liposomal formulation of cytarabine and daunorubicin. *Int J Pharm.* 2010;391(1–2):248–59.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.02.014>
 37. Li Z, Perkins W, Cipolla D. Robustness of aerosol delivery of amikacin liposome inhalation suspension using the eFlow® Technology. *Eur J Pharm Biopharm.* 2021;166:10–8.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.05.021>
 38. Perkins W, Malinin V, Li X, Miller B, Seidel D, Holzmann P, et al. System for treating pulmonary infections. US Patent No. 9566234 B2, 2017.
<https://patents.google.com/patent/US9566234B2/en>
 39. Gouda A, Sakr OS, Nasr M, Sammour OA. Ethanol injection technique for liposomes formulation: An insight into development, influencing factors, challenges and applications. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2020;61:102174.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102174>
 40. Alving CR, Beck Z, Matyas GR, Rao M. Liposomal adjuvants for human vaccines. *Expert Opin Drug Deliv.* 2016;13(6):807–16.
<https://doi.org/10.1517/17425247.2016.1151871>
 41. Li J, Wang X, Zhang T, Wang C, Huang Z, Luo X, et al. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian J Pharm Sci.* 2015;10(2):81–98.
<https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.09.004>
 42. Ferrer JR, Sinegra AJ, Ivancic D, Yeap XY, Qiu L, Wang JJ, et al. Structure-dependent biodistribution of liposomal spherical nucleic acids. *ACS Nano.* 2020;14(2):1682–93.
<https://doi.org/10.1021/acsnano.9b07254>
 43. Nunes SS, Fernandes RS, Cavalcante CH, da Costa César I, Leite EA, Lopes SCA, et al. Influence of PEG coating on the biodistribution and tumor accumulation of pH-sensitive liposomes. *Drug Deliv and Transl Res.* 2019;9(1):123–30.
<https://doi.org/10.1007/s13346-018-0583-8>
 44. Carter KA, Shao S, Hoopes MI, Luo D, Ahsan B, Grigoryants VM, et al. Porphyrin-phospholipid liposomes permeabilized by near-infrared light. *Nat Commun.* 2014;5:3546.
<https://doi.org/10.1038/ncomms4546>
 45. Park SM, Kim MS, Park S-J, Park ES, Choi K-S, Kim Y-S, et al. Novel temperature-triggered liposome with high stability: formulation, in vitro evaluation, and in vivo study combined with high-intensity focused ultrasound (HIFU). *J Control Release.* 2014;170(3):373–9.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.06.003>
 46. Nasr G, Greige-Gerges H, Elaissari A, Khreich N. Liposomal membrane permeability assessment by fluorescence techniques: main permeabilizing agents, applications and challenges. *Int J Pharm.* 2020;580:119198.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119198>
 47. Nsairat H, Khater D, Sayed U, Odeh F, Bawab AA, Alshaer W. Liposomes: structure, composition, types, and clinical applications. *Heliyon.* 2022;8(5):e09394.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09394>
 48. Quinn PJ. The effect of tocopherol on the structure and permeability of phosphatidylcholine liposomes. *J Control Release.* 2012;160(2):158–63.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.12.029>
 49. De Leo V, Milano F, Agostiano A, Catucci L. Recent advancements in polymer/liposome assembly for drug delivery: from surface modifications to hybrid vesicles. *Polymers.* 2021;13(7):1027.
<https://doi.org/10.3390/polym13071027>
 50. Lamichhane N, Udayakumar TS, D'Souza WD, Simone CB., Raghavan SR, Polf J, et al. Liposomes: clinical applications and potential for image-guided drug delivery. *Molecules.* 2018;23(2):288.
<https://doi.org/10.3390/molecules23020288>
 51. Tsermentseli SK, Kontogiannopoulos KN, Papageorgiou VP, Assimopoulou AN. Comparative study of PEGylated and conventional liposomes as carriers for shikonin. *Fluids.* 2018;3(2):36.
<https://doi.org/10.3390/fluids3020036>
 52. Torchilin V. PEGylated pharmaceutical nanocarriers. In: Wright J, Burgess D, eds. *Long acting injections and implants. Advances in delivery science and technology.* Boston, MA: Springer; 2012. P. 263–93.
https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0554-2_14
 53. Caddeo C, Pucci L, Gabriele M, Carbone C, Fernández-Busquets X, Valenti D, et al. Stability, biocompatibility and antioxidant activity of PEG-modified liposomes containing resveratrol. *Int J Pharm.* 2018;538(1–2):40–7.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.12.047>
 54. Nosova AS, Koloskova OO, Nikonova AA, Simonova VA, Smirnov VV, Kudlay D, et al. Diversity of PEGylation methods of liposomes and their influence on RNA delivery. *Medchemcomm.* 2019;10(3):369–77.
<https://doi.org/10.1039/c8md00515j>
 55. Ilinskaya AN, Dobrovol'skaia MA. Understanding the immunogenicity and antigenicity of nanomaterials:

- past, present and future. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2016;299:70–7.
<https://doi.org/10.1016/j.taap.2016.01.005>
56. Третьякова ДС, Хайдуков СВ, Бабаянц АА, Фролова ИС, Щегловитова ОН, Онищенко НР и др. Липофильное пролекарство метотрексата в мембране липосом усиливает их фагоцитоз в крови человека. *Acta Naturae*. 2020;12(1):99–109.
Tretiakova DS, Khaidukov SV, Babayants AA, Frolova IS, Scheglovitova ON, Onishchenko NR, et al. Lipophilic prodrug of methotrexate in the membrane of liposomes promotes their uptake by human blood phagocytes. *Acta Naturae*. 2020;12(1):99–109 (In Russ.).
<https://doi.org/10.32607/actanaturae.10946>
 57. Kularatne RN, Crist RM, Stern ST. the future of tissue-targeted lipid nanoparticle-mediated nucleic acid delivery. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;15(7):897.
<https://doi.org/10.3390/ph15070897>
 58. Riaz MK, Riaz MA, Zhang X, Lin C, Wong KH, Chen X, et al. Surface functionalization and targeting strategies of liposomes in solid tumor therapy: a review. *Int J Mol Sci*. 2018;19(1):195.
<https://doi.org/10.3390/ijms19010195>
 59. Горбик ВС, Шпрах ЗС, Козлова ЖМ, Салова ВГ. Липосомы как система таргетной доставки лекарственных средств (обзор). *Российский биотерапевтический журнал*. 2021;20(1):33–41.
Gorbik VS, Shprakh ZS, Kozlova ZM, Salova VG. Liposomes as a targeted delivery system of drug (Review). *Russian Journal of Biotherapy*. 2021;20(1):33–41 (In Russ.).
<https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-1-33-41>
 60. Новикова АА, Кезимана П, Станишевский ЯМ. Методы получения липосом, используемых в качестве носителей лекарственных средств (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;19(2):134–8.
Novikova AA, Kezimana P, Stanishevskiy YM. Methods of obtaining liposomes, used as drug delivery systems (Review). *Drug Development and Registration*. 2017;19(2):134–8 (In Russ.).
 61. Lombardo D, Kiselev MA. Methods of liposomes preparation: formation and control factors of versatile nanocarriers for biomedical and nanomedicine application. *Pharmaceutics*. 2022;14(3):543.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030543>
 62. Sanarova EV, Lantsova AV, Nikolaeva LL, Orlova OL. Technological aspects of obtaining liposomal drug delivery systems. *World J Pharm Pharm Sci*. 2022;11(8):1979–2009.
 63. Shvets VI, Kaplun AP, Krasnopol'skii YM, Stepanov AE, Chekhonin VP. From liposomes of the 1970s to 21st century nanobiotechnology. *Nanotechnol Russia*. 2008;3:643–55.
<https://doi.org/10.1134/S1995078008110013>
 64. Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, et al. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nano-scale Res Lett*. 2013;8(1):102.
<https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-102>
 65. Shaker S, Gardouh AR, Ghorab MM. Factors affecting liposomes particle size prepared by ethanol injection method. *Res Pharm Sci*. 2017;12(5):346–52.
<https://doi.org/10.4103/1735-5362.213979>
 66. Shi NQ, Qi XR. Preparation of drug liposomes by reverse-phase evaporation. In: Lu W, Qi XR, eds. *Liposome-based drug delivery systems. Biomaterial engineering*. Berlin: Springer; 2018. P. 1–10.
https://doi.org/10.1007/978-3-662-49231-4_3-1
 67. Lu B, Ma Q, Zhang J, Liu R, Yue Z, Xu C, et al. Preparation and characterization of bupivacaine multivesicular liposome: a QbD study about the effects of formulation and process on critical quality attributes. *Int J Pharm*. 2021;598:120335.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120335>
 68. Boban Z, Mardesic I, Subczynski WK, Raguz M. Giant unilamellar vesicle electroformation: what to use, what to avoid, and how to quantify the results. *Membranes*. 2021;11(11):860.
<https://doi.org/10.3390/membranes11110860>
 69. Maritim S, Boulas P, Lin Y. Comprehensive analysis of liposome formulation parameters and their influence on encapsulation, stability and drug release in glibenclamide liposomes. *Int J Pharm*. 2021;592:120051.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120051>
 70. Дмитриева МВ, Лугэнь Б, Оборотова НА, Краснюк ИИ, Краснюк ИИ (мл.), Беляцкая АВ и др. Метод экстракции в технологии получения липосом. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2020;(3):87–96.
Dmitrieva MV, Lugen B, Oborotova NA, Krasnyuk II, Krasnyuk II (Jr.), Belyatskaya AV, et al. Extrusion method in the technology preparation of liposomes. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2020(3):87–96 (In Russ.).
 71. Ong SG, Chitneni M, Lee KS, Ming LC, Yuen KH. Evaluation of extrusion technique for nanosizing liposomes. *Pharmaceutics*. 2016;8(4):36.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics8040036>
 72. Doskocz J, Dalek P, Przybylo M, Trzebicka B, Forsy A, Kobylukh A, et al. The elucidation of the molecular mechanism of the extrusion process. *Materials*. 2021;14(15):4278.
<https://doi.org/10.3390/ma14154278>
 73. Xiang B, Cao DY. Preparation of drug liposomes by thin-film hydration and homogenization. In: Lu WL, Qi XR, eds. *Liposome-based drug delivery systems. Biomaterial engineering*. Berlin: Springer; 2018. P. 1–11.
https://doi.org/10.1007/978-3-662-49231-4_2-1
 74. Preksha V, Patel JK, Patel MM. High-pressure homogenization techniques for nanoparticles. In: Patel JK, Pathak YV, eds. *Emerging technologies for nanoparticle manufacturing*. Cham: Springer; 2021. P. 263–86.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-50703-9_11
 75. Roces CB, Lou G, Jain N, Abraham S, Thomas A, Halbert GW, et al. Manufacturing considerations for the development of lipid nanoparticles using microfluidics. *Pharmaceutics*. 2020;12(11):1095.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111095>
 76. Has C, Sunthar P. A comprehensive review on recent preparation techniques of liposomes. *J Liposome Res*.

- 2020;30(4):336–65.
<https://doi.org/10.1080/08982104.2019.1668010>
77. Carugo D, Bottaro E, Owen J, Stride E, Nastruzzi C. Liposome production by microfluidics: potential and limiting factors. *Sci Rep.* 2016;6:25876.
<https://doi.org/10.1038/srep25876>
78. Zhang G, Sun J. Lipid in chips: a brief review of liposomes formation by microfluidics. *Int J Nanomedicine.* 2021;16:7391–16.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S331639>
79. Lin WS, Malmstadt N. Liposome production and concurrent loading of drug simulants by microfluidic hydrodynamic focusing. *Eur Biophys J.* 2019;48(6):549–58.
<https://doi.org/10.1007/s00249-019-01383-2>
80. Garg S, Heuck G, Ip S, Ramsay E. Microfluidics: a transformational tool for nanomedicine development and production. *J Drug Target.* 2016;24(9):821–35.
<https://doi.org/10.1080/1061186X.2016.1198354>
81. Capretto L, Carugo D, Mazzitelli S, Nastruzzi C, Zhang X. Microfluidic and lab-on-a-chip preparation routes for organic nanoparticles and vesicular systems for nanomedicine applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2013;65(11–12):1496–532.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.08.002>
82. Balbino TA, Aoki NT, Gasperini AAM, Oliveira CLP, Azzoni AR, Cavalcanti LP, et al. Continuous flow production of cationic liposomes at high lipid concentration in microfluidic devices for gene delivery applications. *Chem Eng J.* 2013;226:423–33.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.04.053>
83. Maeki M, Kimura N, Sato Y, Harashima H, Tokeshi M. Advances in microfluidics for lipid nanoparticles and extracellular vesicles and applications in drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018;128:84–100.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.03.008>
84. Koki K, Toshihisa O, Shoji T. Formation of nano-sized lipid vesicles with asymmetric lipid components using a pulsed-jet flow method. *Sens Actuators B Chem.* 2021;327:128917.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128917>
85. Chiba M, Miyazaki M, Ishiwata S. Quantitative analysis of the lamellarity of giant liposomes prepared by the inverted emulsion method. *Biophys J.* 2014;107(2):346–54.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.05.039>
86. Sugiura S, Kuroiwa T, Kagota T, Nakajima M, Sato S, Mukataka S, et al. Novel method for obtaining homogeneous giant vesicles from a monodisperse water-in-oil emulsion prepared with a microfluidic device. *Langmuir.* 2008;24(9):4581–8.
<https://doi.org/10.1021/la703509r>
87. Kuroiwa T, Fujita R, Kobayashi I, Uemura K, Nakajima M, Sato S, et al. Efficient preparation of giant vesicles as biomimetic compartment systems with high entrapment yields for biomacromolecules. *Chem Biodivers.* 2012;9(11):2453–72.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201200274>
88. Ota S, Yoshizawa S, Takeuchi S. Microfluidic formation of monodisperse, cell-sized, and unilamellar vesicles. *Angew Chem Int Ed.* 2009;48(35):6533–7.
<https://doi.org/10.1002/anie.200902182>
89. Zhigaltsev IV, Belliveau N, Hafez I, Leung AK, Huft J, Hansen C, et al. Bottom-up design and synthesis of limit size lipid nanoparticle systems with aqueous and triglyceride cores using millisecond microfluidic mixing. *Langmuir.* 2012;28(7):3633–40.
<https://doi.org/10.1021/la204833h>
90. Lou G, Anderluzzi G, Woods S, Roberts CW, Perrie Y. A novel microfluidic-based approach to formulate size-tuneable large unilamellar cationic liposomes: formulation, cellular uptake and biodistribution investigations. *Eur J Pharm Biopharm.* 2019;143:51–60.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.08.013>
91. Mitchell MJ, Billingsley MM, Haley RM, Wechsler ME, Peppas NA, Langer R. Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nat Rev Drug Discov.* 2021;20(2):101–24.
<https://doi.org/10.1038/s41573-020-0090-8>
92. Ma Z, Li B, Peng J, Gao D. Recent development of drug delivery systems through microfluidics: from synthesis to evaluation. *Pharmaceutics.* 2022;14(2):434.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020434>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Н.И. Бурдаев – подбор и анализ литературы; Л.Л. Николаева, З.С. Шпрах – подбор и анализ литературы, написание и оформление текста рукописи; В.В. Косенко – идея исследования, планирование исследования, подбор и анализ литературы; Н.Д. Бунятян – ответственность за все аспекты работы и целостность всех частей статьи, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

Благодарности. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Nikolay I. Burdaev* selected and reviewed literature. *Ludmila L. Nikolaeva* and *Zoya S. Shprakh* selected and reviewed literature, drafted and formatted the manuscript. *Valentina V. Kosenko* elaborated the study idea, planned the study, selected and reviewed literature. *Natalia D. Bunyatyan* agreed to be accountable for all aspects of the work, including the integrity of all its parts, and approved the final version of the manuscript for publication.

Acknowledgements. The study was performed without external funding.

Конфликт интересов. В.В. Косенко является главным редактором, Н.Д. Бунятян — членом редколлегии журнала «Ведомости НЦЭСМП. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств». Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Valentina V. Kosenko is the Editor-in-Chief of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*, and Natalia D. Bunyatyan is a member of the journal's Editorial Board. The other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Бурдаев Николай Игоревич

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0662-495X>
burd.mobile@gmail.com

Николаева Людмила Леонидовна, канд. фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8003-8241>
alima91@yandex.ru

Косенко Валентина Владимировна, канд. фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8353-7863>
General@expmed.ru

Шпрах Зоя Сергеевна, д-р фарм. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3034-750X>
z.shprakh@ronc.ru

Бунятян Наталья Дмитриевна, д-р фарм. наук, профессор

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>
ndbun@mail.ru

Поступила 10.10.2022

После доработки 12.01.2023

Принята к публикации 07.03.2023

Online first 18.05.2023

Nilolay I. Burdaev

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0662-495X>
burd.mobile@gmail.com

Ludmila L. Nikolaeva, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8003-8241>
alima91@yandex.ru

Valentina V. Kosenko, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8353-7863>
General@expmed.ru

Zoya S. Shprakh, Dr. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3034-750X>
z.shprakh@ronc.ru

Natalia D. Bunyatyan, Dr. Sci. (Pharm.),

Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>
ndbun@mail.ru

Received 10 October 2022

Revised 12 January 2023

Accepted 7 March 2023

Online first 18 May 2023