

Липосомы – метаболически активные транспортные системы лекарственных средств: классификация, составные компоненты, способы изготовления и стабилизации. Часть 1 (обзор)

С. С. Осочук¹, Ю. М. Коцур²✉, О. Н. Пожарицкая³, Е. В. Флисюк², И. Е. Смехова²,
С. Д. Малков², К. О. Зарифи², И. А. Титович², Е. К. Красова², А. Н. Шиков²

¹ Учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет». 210009, Республика Беларусь, г. Витебск, пр-т Фрунзе, д. 27

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, литера А

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Мурманский морской биологический институт Российской академии наук (ММБИ РАН). 183038, Россия, г. Мурманск, ул. Владимирская, д. 17

✉ Контактное лицо: Коцур Юлия Михайловна. E-mail: uliya.kocur@spcru.ru

ORCID: С. С. Осочук – <https://orcid.org/0000-0003-2074-3832>;
Ю. М. Коцур – <https://orcid.org/0000-0001-9292-4240>;
О. Н. Пожарицкая – <https://orcid.org/0000-0003-1061-0665>;
Е. В. Флисюк – <https://orcid.org/0000-0001-8077-2462>;
И. Е. Смехова – <https://orcid.org/0000-0002-0013-4784>;
С. Д. Малков – <https://orcid.org/0009-0002-5678-672X>;
К. О. Зарифи – <https://orcid.org/0009-0001-1190-5839>;
И. А. Титович – <https://orcid.org/0000-0002-1343-4663>;
Е. К. Красова – <https://orcid.org/0000-0001-7785-4256>;
А. Н. Шиков – <https://orcid.org/0000-0003-4351-0695>.

Статья поступила: 08.07.2024

Статья принята в печать: 22.10.2024

Статья опубликована: 25.10.2024

Резюме

Введение. В данном обзоре рассмотрены вопросы современной классификации липосом, методов их изготовления, стабилизации и роли составных компонентов, визуализации, фармакокинетики. В первой части обсуждены первые три вышеупомянутых аспекта.

Текст. Липосомы являются не только перспективными наноконтейнерами для адресной доставки лекарственных средств, но и метаболически активными комплексами с широким спектром активности. Липидные компоненты липосом могут оказать выраженное действие на органы и ткани-мишени. Продукты метаболизма основных компонентов липосом обладают собственной биологической активностью, зависящей от их сочетания и дозировки. Все вышесказанное свидетельствует о перспективности использования липосом не только в качестве носителей ЛС, но и в качестве самостоятельных эффекторов, способных оказать значительное влияние на метаболизм человека при различных заболеваниях. Проведено сравнение преимуществ и ограничений методов получения липосом, рассмотрены особенности изготовления стелс-липосом. Отдельно обсуждены вопросы стабилизации липосом.

Заключение. Обсужденная в обзоре информация может быть полезна при разработке лекарственных средств в форме липосом.

Ключевые слова: липосомы, фосфолипиды, метаболизм, стабилизация липосом

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. С. Д. Малков и К. О. Зарифи проводили сбор и систематизацию материала, работали с табличным материалом, участвовали в написании текста. Ю. М. Коцур осуществляла сбор данных из литературных источников, проводила сбор и анализ полученных данных, отвечала за написание. С. С. Осочук, О. Н. Пожарицкая, Е. В. Флисюк, И. Е. Смехова и А. Н. Шиков отвечали за концепцию обзора, редактирование текста статьи, научное консультирование

© Осочук С. С., Коцур Ю. М., Пожарицкая О. Н., Флисюк Е. В., Смехова И. Е., Малков С. Д., Зарифи К. О., Титович И. А., Красова Е. К., Шиков А. Н., 2024
© Osochuk S. S., Kotsur Yu. M., Pozharitskaya O. N., Flisyuk E. V., Smekhova I. E., Malkov S. D., Zarifi K. O., Titovich I. A., Krasova E. K., Shikov A. N., 2024

и утверждение окончательного варианта статьи для публикации. Е. К. Красова и И. А. Титович осуществляли редактирование и оформление текста статьи.

Для цитирования: Осочук С. С., Коцур Ю. М., Пожарицкая О. Н., Флисюк Е. В., Смехова И. Е., Малков С. Д., Зарифи К. О., Титович И. А., Красова Е. К., Шиков А. Н. Липосомы – метаболически активные транспортные системы лекарственных средств: классификация, составные компоненты, способы изготовления и стабилизации. Часть 1. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(4):60–77. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-4-1867>

Liposomes – metabolically active drug transport systems: classification, components, preparation methods, and stabilization. Part 1 (review)

Sergey S. Osochuk¹, Yuliya M. Kotsur²✉, Olga N. Pozharitskaya³, Elena V. Flisyuk², Irina E. Smekhova², Sergey D. Malkov², Kseniya O. Zarifi², Irina A. Titovich², Elena K. Krasova², Alexander N. Shikov²

¹ Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University. 27, Frunze avenue, Vitebsk, 210009, Republic of Belarus

² Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

³ Murmansk Marine Biological Institute of the Russian Academy of Sciences (MMBI RAS). 17, Vladimirskaia str., Murmansk, 183038, Russia

✉ **Corresponding author:** Yuliya M. Kotsur. **E-mail:** uliya.kocur@spcpcu.ru

ORCID: Sergey S. Osochuk – <https://orcid.org/0000-0003-2074-3832>;
Yuliya M. Kotsur – <https://orcid.org/0000-0001-9292-4240>;
Olga N. Pozharitskaya – <https://orcid.org/0000-0003-1061-0665>;
Elena V. Flisyuk – <https://orcid.org/0000-0001-8077-2462>;
Irina E. Smekhova – <https://orcid.org/0000-0002-0013-4784>;
Sergey D. Malkov – <https://orcid.org/0009-0002-5678-672X>;
Kseniya O. Zarifi – <https://orcid.org/0009-0001-1190-5839>;
Irina A. Titovich – <https://orcid.org/0000-0002-1343-4663>;
Elena K. Krasova – <https://orcid.org/0000-0001-7785-4256>;
Alexander N. Shikov – <https://orcid.org/0000-0003-4351-0695>.

Received: 08.07.2024

Accepted: 22.10.2024

Published: 25.10.2024

Abstract

Introduction. This review article is focused on the modern classification of liposomes, preparation methods, stabilization and the role of structural components, visualization, and pharmacokinetics. Part 1 discusses the first three aspects mentioned above.

Text. Depending on the size and number of bilayers, liposomes are classified into simple, long-circulating, cationic, immuno-liposomes, and sterically stabilized. The lipid components of liposomes can have a pronounced effect on target organs and tissues. Metabolites of the main components of liposomes have their biological activity, depending on their combination and dosage. All of the above indicates the promise of using liposomes not only as carriers of drugs but also as independent effectors that can have a significant impact on human metabolism in various diseases. The advantages and limitations of methods for preparing liposomes, and the features for manufacturing stealth liposomes are discussed. A special section of the article is dedicated to liposome stabilization.

Conclusions. The information discussed in the review article may be useful in the development of pharmaceutical formulations in liposomes. Liposomes are not only promising nanocontainers for targeted drug delivery, but also metabolically active complexes with a wide spectrum of activity.

Keywords: liposomes, phospholipids, metabolism, liposomes stabilization

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Sergey D. Malkov and Kseniya O. Zarifi collected and systematized the material, worked with tabular material, and participated in writing the text. Yuliya M. Kozur collected data from literary sources, collected and analyzed the data obtained, and was responsible for writing. Sergey S. Osochuk, Olga N. Pozharitskaya, Elena V. Flisyuk, Irina E. Smekhova and Alexander N. Shikov were responsible for the concept of the review, editing the text of the article, scientific consulting, and approval of the final version of the article for publication. Elena K. Krasova and Irina A. Titovich carried out editing and design of the text of the article.

For citation: Osochuk S. S., Kotsur Yu. M., Pozharitskaya O. N., Flisyuk E. V., Smekhova I. E., Malkov S. D., Zarifi K. O., Titovich I. A., Krasova E. K., Shikov A. N. Liposomes – metabolically active drug transport systems: classification, components, preparation methods, and stabilization. Part 1. *Drug development & registration*. 2024;13(4):60–77. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-4-1867>

ВВЕДЕНИЕ

Создание новых систем и средств доставки активных фармацевтических субстанций (АФС) имеет важное значение, направленное на решение основных проблем клинической практики – повышение терапевтической эффективности, переносимости и безопасности лекарственной терапии. Контролируя процесс доставки лекарственных средств (ЛС), можно управлять фармакологическим действием, избежать передозировки, при этом сократив кратность введения и повысив комплаентность больных к терапии.

Липосомы стали применять в медицине не только как модели мембран, но и в качестве носителей фармацевтических субстанций в 70-е гг. прошлого столетия. Они представляют собой бислойную жидкокристаллическую липидную мембрану, формирующую замкнутую везикулу, во внутренней полости которой и снаружи находится водная фаза.

Популярность липосом основывается, в частности, на сходстве с природными мембранами, которым обладают и многие другие носители ЛС, например эритроциты, нейтрофилы, гепатоциты и т. п., и на уникальном свойстве универсальности. Липосомы можно варьировать по размерам, поверхностным характеристикам, составу и др. Особый интерес к ним обусловлен совокупностью их физико-химических и биологических свойств. Химическая инертность, универсальность, биосовместимость, биodeградируемость, отсутствие токсичных, антигенных и аллергических реакций в ответ на их введение, способность целенаправленно взаимодействовать с определенными клетками макроорганизма, доставляя АФС внутрь клеток и обеспечивая пролонгированное биологическое действие соединений, открывают широкие возможности для получения разнообразных липосомальных препаратов.

Липосомы как системы доставки известны с середины XX века и достаточно хорошо изучены, однако в настоящее время они приобрели новую популярность в связи с развитием генотерапевтических лекарственных средств и зарекомендовали себя в качестве перспективной транспортной системы, позволяющей эффективно удерживать и защищать генетическую информацию, а также быстро ее высвобождать внутри клетки.

Вновь возникающей проблемой на этом фоне является изучение стабильности и методов стабилизации липосом, а также липидных наночастиц, изучение условий и факторов, которые влияют на сохранность липосом как в упаковке, так и в процессе введения в организм.

Целью настоящего обзора является представление современного состояния решения вопросов стабилизации липосом.

Классификация липосом

Липосомы в основном классифицируют по размеру и количеству бислоев (ламеллярности). По признаку ламеллярности выделяют однослойные (unilamellar vesicles, ULV), олиголамеллярные (oligolamellar vesicles, OLV), мультиламеллярные везикулы (multilamellar vesicles, MLV) и мультивезикулярные липосомы (multivesicular liposomes, MVL) (рисунок 1) [1]. OLV и MLV имеют анионоподобную структуру и содержат 2–5 и более 5 концентрических липидных бислоев соответственно. В отличие от MLV, MVL включают сотни неконцентрических водных камер, ограниченных одной двухслойной липидной мембраной, и имеют сотовую структуру [2]. В зависимости от размера частиц ULV делят на малые (small unilamellar vesicles, SUV, 20–100 нм), большие (large unilamellar vesicles, LUV, >100 нм) и гигантские однослойные везикулы (giant unilamellar vesicles, GUV, >1000 нм) (таблица 1).

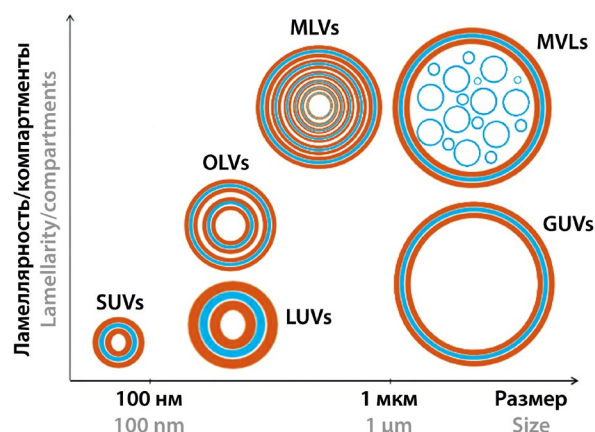


Рисунок 1. Классификация липосомальных везикул в зависимости от их ламеллярности/слоев и размера частиц

Figure 1. Classification of liposomal vesicles depending on their lamellarity/layers and particle size

Поскольку LUVs имеют сравнительно больший захватываемый объем водного раствора, чем SUVs и MLVs, они чаще всего используются для включения гидрофильных молекул. Наоборот, наличие у MLVs нескольких гидрофобных бислоев делает их хорошим выбором для включения гидрофобных молекул. Большинство коммерческих липосомальных препаратов являются SUVs (например, Doxil, AmBisome, Onivude и др.), их размер частиц и структура приведены в работах [2, 3].

Составные компоненты липосом и их метаболическая активность

Одним из бесспорных преимуществ липосомальных транспортных систем является их превосходная биосовместимость и безопасность. Однако при этом

Таблица 1. Размер и ламеллярность разных типов липосом

Table 1. Size and lamellarity of different types of liposomes

Название Title	Обозначение Designation	Размер Size	Количество бислоев Number of bilayers	Тип липосом Type of liposomes
Малые однослойные везикулы Small single-layer vesicles	МОВ SUV	20–100 нм 20–100 nm	1	Простые Simple
Большие однослойные везикулы Large single-layer vesicles	БОВ LUV	>100 нм >100 nm	1	Длительно циркулирующие Long-term circulating
Гигантские однослойные везикулы Giant single-layered vesicles	ГОВ GUV	>1 мкм >1 μm	1	Катионные Cationic
Мультиламеллярные везикулы Multilamellar vesicles	МЛВ MLV	>0.5 мкм >0.5 μm	>5	Иммунолипосомы Immunoliposomes
Олиголамеллярные везикулы Oligolamellar vesicles	ОЛВ OLV	0.1–1 мкм 0.1–1 μm	2–5	Стерически стабилизированные Sterically stabilized
Мультивезикулярные липосомы Multivesicular liposomes	МВЛ MVL	>1 мкм >1 μm	Сотовая структура Honeycomb structure	

не стоит забывать и об их самостоятельной метаболической активности. Моделируя состав липосом, можно добиться высокой эффективности их применения не только за счет транспортируемого в их составе ЛС, но и за счет компонентов, формирующих саму липосому.

Для выпускаемых и разрабатываемых липосомальных ЛС основными компонентами их производства являются глицерофосфолипиды: сфингомиелин и холестерол [2] (рисунок 2).

Природа остатков жирных кислот в каждой молекуле липида (их длина и количество двойных свя-

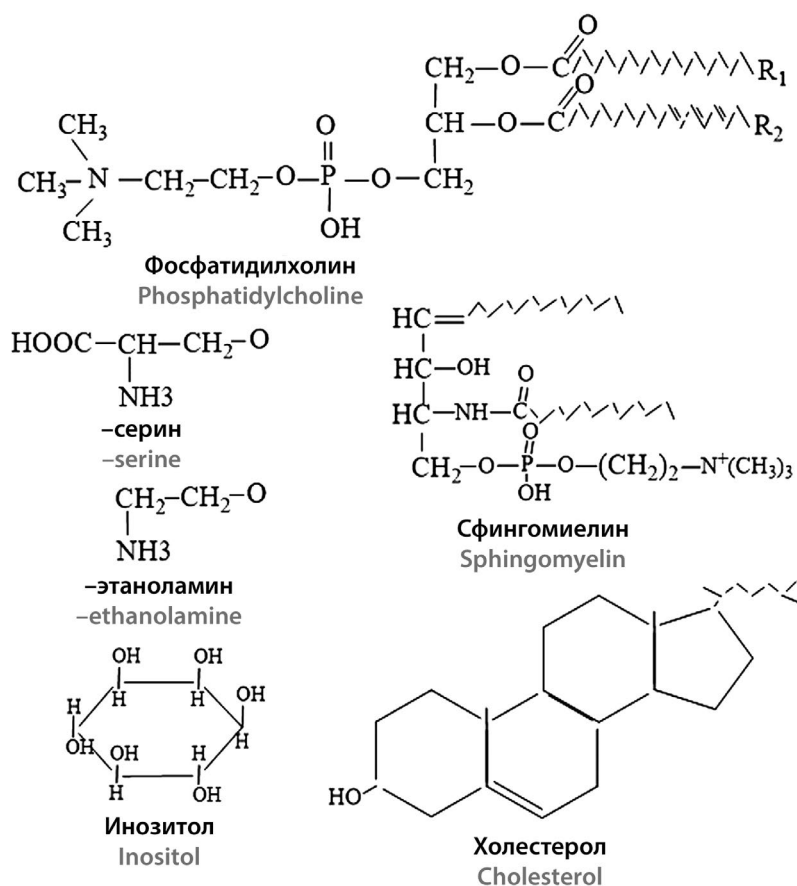


Рисунок 2. Основные компоненты липосом

Figure 2. The main components of liposomes

зей в цепи) отвечает за фундаментальные биофизические свойства билипидного слоя, такие как микровязкость, микротекуемость, эластичность [4]. При этом текучесть билипидного слоя липосом оказывает существенное влияние на их проникновение через кожные покровы [5], ряд клеточных функций, включая опосредованный переносчиками трансмембранный перенос веществ, эндоцитоз, свойства мембраносвязанных ферментов и рецепторных комплексов [6].

Основные компоненты липосом в макроорганизме подвергаются ферментативной деградации, а образующиеся при этом продукты способны оказывать значительное влияние на метаболизм в целом и конкретные функции органов и тканей в частности. Так, глицерофосфолипиды гидролизуются в клетках под действием фосфолипаз: A1 (КФ 3.1.1.32), A2 (КФ 3.1.1.4), C (КФ 3.1.4.3) и D (КФ 3.1.4.4) (рисунок 3) – с образованием свободных жирных кислот (насыщенных, моно- и полиненасыщенных), лизофосфатидов, остатков фосфорной кислоты, холина, этаноламина, инозитола [7].

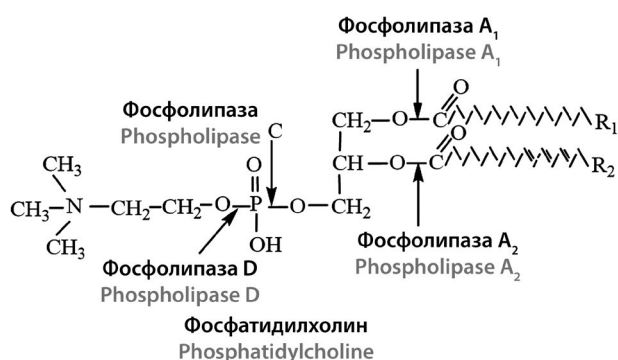


Рисунок 3. Локализация действия ферментов деградации глицерофосфолипидов

Figure 3. Localization of the action of glycerophospholipid degradation enzymes

Субстратами для фосфолипазы A1 являются глицерофосфолипиды и фосфатидная кислота. В результате ее действия образуются sn-2-ацил-лизофосфатиды, а также sn-2-ацил-лизофосфатидная кислота, обладающая рецепторопосредованной митогенной активностью [8]. Sn-2-ацил-лизофосфатидилсерин регулирует созревание Т-клеток, макрофагов дендритных и тучных клеток [9]. Предположительно, фосфолипаза A1 участвует в цикле Ландса, предназначенном для обновления спектра жирных кислот в составе глицерофосфолипидов [10].

Информация о метаболической активности большинства sn-2-ацил-лизофосфатидов в литературе ограничена. По данным авторов [11], активностью фосфолипазы A1 обладает токсин, содержащийся в

яде ос и шершней, а образующиеся под его действием лизофосфатиды обладали высокой гемолитической активностью и летальностью в эксперименте на мышах. Sn-2-ацил-лизофосфатиды являются липидным медиатором Т-клеток, тучных и нервных клеток, участвуют в регуляции опухолевого роста, гемостазе, метаболизме соединительной ткани, при этом их эффекты зависят от жирной кислоты, входящей в их состав [9]. Эффекты sn-2-ацил-лизофосфатидов продолжают изучаться, однако в литературе основное внимание уделяется проявлению свойств фосфолипазы A1 и лишь вторично – самим эффектам sn-2-ацил-лизофосфатидов.

Как и для фосфолипазы A1, субстратами для фосфолипазы A2 являются также глицерофосфолипиды, реже – фосфатидная кислота [12]. Образующиеся в ходе реакции sn-1-ацил-лизофосфатиды обладают широким спектром метаболической активности. Sn-1-ацил-лизофосфатидилхолины участвуют в патогенезе формирования синдрома хронической боли [13], демиелинизации нервных клеток [14], вместе с sn-1-ацил-лизофосфатидилинозитолами – в регуляции опухолевого роста и секреции инсулина [15]. Sn-1-ацил-лизофосфатидилэтанолламины задействованы в регуляции выработки интерлейкина-17 (IL-17) и программы транскрипции, необходимой для дифференцировки клеток TH17 [16]; в регуляции развития стеатоза печени [17] и активности воспалительного процесса [18].

В настоящее время известно 13 представителей группы фосфолипазы C, принимающих активное участие в регуляции клеточных функций через продукты деградации фосфолипидов [19].

Фосфатидилинозитол-специфичная фосфолипаза C, частичное ингибирование которой в клеточных культурах *Tetrahimena* ингибитором U 73122 с низкой плотностью приводит к выживанию клеток и слабой пролиферативной активности, а высокие концентрации – к гибели клеток, предотвращаемой добавлением фосфатидилинозитола. В то же время другие фосфолипиды не оказывают аналогичного действия. Авторы считают, что именно фосфатидилинозитол является триггерным элементом, приводящим к решению о переходе клеток к гибели или к пролиферации [20]. Образующийся под действием фосфолипазы C холин является эндогенным агонистом Sig-1R, связывающим внеклеточные стимулы и синаптическую активность с сигналами Ca⁺⁺ [20].

Фосфолипаза D не только разрушает сложноэфирную связь в фосфатидилхолине с образованием фосфатидной кислоты и холина, но и вступает в реакцию трансфосфатидилирования, перенося фосфатидную кислоту на аминокислоту серин с образованием фосфатидилсерина (ФС) [21]. Интересно отметить, что ФС и в меньшей степени фосфатидилэтанолламин (ФЭА) способны восстанавливать окисленный α-токоферол, потенцируя таким образом его антиоксидантную активность [22]. образу-

яущаяся под влиянием фосфолипазы D фосфатидная кислота является необходимым компонентом для сборки протеинкиназы mTOR, фосфорилирующей белки, ответственные за переключение клетки на путь апоптоза, и, таким образом, предотвращает самоуничтожение клетки [23].

Сфингомиелин разрушается сфингомиелиназой (КФ 3.1.4.-) до фосфохолина и церамида, из которого, в свою очередь, под действием церамидазы (КФ 3.1.5.-) образуются жирная кислота и сфингозин-1-фосфат [24], гидролизуемый сфингозин-1-фосфатлиазой (КФ 4.1.2.27) до палмитальдегида и фосфоэтаноламина [25] (рисунок 4).

Церамиды, являясь вторичными мессенджерами, регулируют клеточный гомеостаз [26]. Значительное их количество образуется в нейронах, где церамиды могут участвовать в регуляции энергетического баланса как в гипоталамических, так и в экстрагипоталамических областях, а также в патогенезе диабета 2 типа, связанного с деятельностью головного мозга [27, 28]. Избыточное накопление церамидов в нервной ткани обусловлено окислительным стрессом и нейродегенерацией [29].

Фосфохолин участвует в регуляции термогенеза в бурой жировой ткани [30], обладает иммуномоделирующей активностью [31], его образование в клетках возбудителей способствует реализации механизмов защиты микроорганизма от организма хозяина [32].

Сфингозин-1-фосфат участвует в регуляции адаптивного транспорта иммунных клеток, развитии сосудов и гомеостазе [33], пролиферации клеток, их дифференцировке, подавлении апоптоза, играет важную роль в метаболизме скелетной мышечной ткани [34].

Исследования последних лет установили связь холестерина (ХС) и активности иммунной системы. Показано, что макрофаги в ответ на активацию Toll-подобных рецепторов синтезируют 25-гидроксихолестерол (25-ГХС), который обеспечивает защиту от микробных патогенов, блокируя слияние мембран

вируса и клетки-хозяина и, таким образом, подавляя рост вируса. Установлено, что 7 α ,25-дигидроксихолестерол (7,25-ДГХС) играет важную роль в координации действий В-, Т- и дендритных клеток во вторичной лимфоидной ткани [35]. Недавние работы показали, что подавление репликации как коронавируса (SARS-CoV), так и SARS-CoV-2 (COVID-19) при их проникновении в клетку обусловлено 25-ГХС [36]. Появляется все больше доказательств того, что многие изомеры этих оксистеролов необходимы для правильного функционирования иммунной системы [37].

Таким образом, активность иммунной системы в значительной степени зависит от количества ХС и его метаболических преобразований. Холестерол не подвергается полной деградации, однако происходит его окисление 7 α -гидроксилазой (СYP4507A1 КФ 1.14-) до 7 α -гидроксихолестерола (классический путь синтеза желчных кислот, в котором фермент является ключевым) [38]. Кроме этого, происходит окисление и под действием СYP3A4 (25-гидроксилаза) с образованием 25-гидроксихолестерола, являющегося нейрозащитным агентом в небольших количествах и нейротоксическим соединением при высоких концентрациях [38], а также регулятором продукции интерферона и активности воспалительного процесса [39]. Гидроксилирование холестерина СYP27A1 катализирует образование 25(R)-26-гидроксихолестерола, обладающего достаточно выраженной гепатотоксичностью [40]. СYP46A1 (24-гидроксилаза) приводит к образованию 24-гидроксихолестерола [41], играющего важную физиологическую роль в поддержании гомеостаза холестерина в мозге [42].

Помимо этого, холестерол может быть источником биосинтеза витамина D в кожных покровах [43].

Холестерол является переносчиком эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в ткани от фосфатидилхолинов липопroteинов высокой плотности (ЛПВП) через лецитинхолестеролацилтрансферазы (ЛХАТ КФ 2.3.1.43), белка, переносящего эфиры холестерина и апо-B100/E-рецептора клеток.

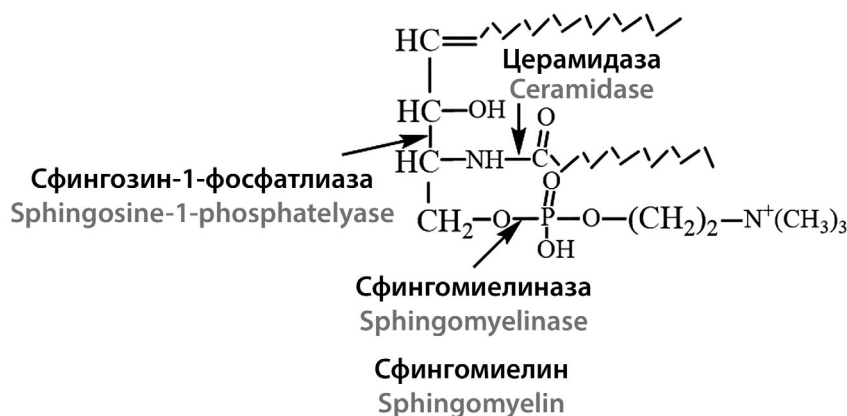


Рисунок 4. Локализация действия ферментов деградации сфинголипидов

Figure 4. Localization of the action of sphingolipid degradation enzymes

Нарушение этого взаимодействия способно привести к проатерогенному росту содержания холестерина при дефиците эссенциальных ПНЖК и лежит в основе антиатерогенного действия ω -3-ПНЖК [44].

Спектр жирных кислот, образующихся под действием фосфолипазы A1, A2 и церамидазы, достаточно широк. Наиболее изученными являются линолевая (C18:2n6), γ -линоленовая (C18:3n6), арахидоновая (C20:4n6), α -линоленовая (C18:3n3), эйкозапентаеновая (C20:5n3), докозагексаеновая (C22:6n3) и ряд других полиненасыщенных жирных кислот. Хорошо исследованными продуктами арахидоновой кислоты являются простагландины, лейкотриены, липоксины [45], а также энандамиды и каннабиноиды [46], резольвины, протектины и марезины [47]. Короткоцепочечные жирные кислоты, особенно ацетат, пропионат и бутират, активно участвуют в регуляции энергетического обмена, деятельности кишечника, продукции и регуляции активности инсулина [48]. Жирные кислоты могут служить и источником энергии, окисляясь в митохондриях до углекислого газа и воды [49].

В настоящее время изучение биологической активности церамидов, метаболической активности фосфохолина, спектр эффектов sn-1-ацил-лизосфатидов и других компонентов липосом продолжается.

Таким образом, продукты деградации основных компонентов липосом обладают чрезвычайно широким спектром действия, во многом зависящим от их сочетания и дозировки. Все вышесказанное свидетельствует о высокой перспективности использования липосом не только в качестве носителей ЛС, но и в качестве самостоятельных эффекторов, способных оказать значительное влияние на метаболизм человека при различных заболеваниях.

Способы получения липосом

В литературе описаны как традиционные, так и относительно новые методы получения липосом. К традиционным относятся методы Бангхэма [50], удаления детергента [51], инъекции растворителя (спирта или эфира) [52], обратноточного испарения [53], а также методы образования двойных [54] и множественных [55] эмульсий. Более современными считаются сублимационная сушка, технологии с применением сверхкритических жидкостей, а также микрофлюидные методы. В таблице представлены некоторые из них (таблица 2) [60–62].

Стабильность липосом после регидратации

Одной из проблем, ограничивающих широкое применение липосом как систем доставки ЛС, является вопрос их стабильности. Одним из перспективных методов повышения стабильности липосом при хранении и транспортировке является лиофилизация. Лиофилизация нашла широкое применение в качестве метода «консервации» фармацевтических препаратов, которые не способны к продолжительному хра-

нению в нативном виде и теряют свои физико-химические и фармакологические свойства при воздействии факторов окружающей среды.

При разработке технологии лиофилизации липосомальные препараты являются одним из объектов научных и практических исследований [67, 68]. Однако замораживание может вызывать изменения фазового перехода, осмотический стресс и расширение бислоев из-за образования льда [69], что, в свою очередь, может привести к разрушению бислоя, слиянию и агрегации везикул, к потере захваченного материала и изменению распределения липосом по размерам. Такие эффекты можно свести к минимуму путем включения в состав липосом криопротекторов, например дисахаридных сахаров [70]. Поэтому важнейшими технологическими критериями лиофилизации являются тип криопротектора, температура вторичной сушки и продолжительность всего процесса [71]. Авторами [72] показано, что оптимальным является содержание трегалозы дигидрата 8 % (мас.), при этом снижение инкапсуляции при лиофилизации составляло 13 %, а при исследовании режимов лиофилизации сиринотеканом установлена оптимальная температура досушивания 15 °С.

После лиофилизации и хранения может нарушаться и ресуспендируемость липосомальных дисперсий. Способность лиофилизированных липосом восстанавливаться при добавлении соответствующей среды зависит от нескольких факторов. Нежелательные поверхностные свойства лиофилизированного порошка (например, степень разрушения или обратного расплавления, площадь поверхности и неоднородность высушенной матрицы и т. д.) могут привести к плохому смачиванию, дисперсии и капиллярности, агрегации, образованию нежелательных частиц во время восстановления или к продолжительному времени восстановления. Кроме того, способы восстановления важны и для получения желаемого распределения частиц липосом по размеру без образования агрегатов [73]. В настоящее время в литературе не описаны процедуры для мониторинга восстановления лиофилизированных фармацевтических составов.

Дестабилизацию восстановленной коллоидной суспензии липосом можно оценить с помощью динамического рассеяния света (ДРС), которое является наиболее удобным методом и дает относительно точные и последовательные результаты за короткий период времени. Показателями слияния и/или агрегации частиц являются различия в их распределении по размерам, индекс полидисперсности, близкий к 1, и высокие коэффициенты вариации. В то же время отмечается, что ДРС имеет ряд недостатков. Размер частиц определяется по флуктуациям интенсивности рассеянного света из-за броуновского движения частиц, а поскольку учитывается интенсивность света, рассеянного сферическими частицами, метод не чувствителен для высокополидисперсных и несферических коллоидных систем [74].

Таблица 2. Отдельные методы получения липосом
Table 2. Some methods of liposome production

Метод Method	Описание Description	Преимущества Advantages	Недостатки Disadvantages
Конвекционный метод (метод гидратации тонкой пленки, метод Бенгхэма) Convection method (thin film hydration method, Bingham method)	Суть метода заключается в получении тонкой липидной пленки посредством растворения липидной композиции в подходящем растворителе или их комбинации с последующим удалением последних под глубоким вакуумом в роторно-пленочном испарителе или другом подходящем для этих целей оборудовании. Полученную липидную пленку гидратируют раствором субстанции или другого включаемого внутрь липосом вещества и тщательно перемешивают. Для повышения стабильности липосомальных комплексов метод осуществляют в токе азота или аргона [56, 58, 63, 64] The essence of the method consists in obtaining a thin lipid film by dissolving the lipid composition in a suitable solvent or a combination thereof, followed by removal of the latter under deep vacuum in a rotary film evaporator or other suitable equipment. The resulting lipid film is hydrated with a solution of the substance or other substance to be incorporated inside the liposomes and thoroughly mixed. To increase the stability of the liposomal complexes, the method is carried out in a nitrogen or argon current [56, 58, 63, 64]	Простой метод, не требующий сложного аппаратного оформления A simple method that does not require complex instrumentation	Непригоден для масштабирования. Относительно крупный размер липосом. Низкий процент включения вещества. Образование гетерогенных липосом Unsuitable for scale-up. Relatively large size of liposomes. Low percentage of substance incorporation; Formation of heterogeneous liposomes
Метод испарения с обращением фаз Phase reversal evaporation method	По данной методике водный раствор лекарственного вещества быстро вводится в органический раствор липидов. Одновременно смесь подвергают звуковой обработке, что приводит к образованию эмульсии – капель воды в органическом растворителе. Далее полученную эмульсию высушивают до полутвёрдого геля с использованием роторного испарителя. После геля подвергается сильному механическому воздействию до получения фазового изменения из дисперсии «вода в масле» в «масло в воде» (т.е. водную суспензию везикул). В ходе механического воздействия некоторые капли воды образуют внешнюю фазу, в то время как другие – замкнутый внутри везикул водный объем. При использовании этого метода становится возможным получение однослойных везикул диаметром от 0,1 до 1 мкм [57, 60] In this technique, an aqueous solution of a drug is quickly introduced into an organic lipid solution. At the same time, the mixture is subjected to sonic treatment, which leads to the formation of an emulsion - drops of water in an organic solvent. The resulting emulsion is then dried to a semi-solid gel using a rotary evaporator. The gel is then subjected to strong mechanical stress until a phase change is obtained from a water-in-oil dispersion to an oil-in-water dispersion (i.e., an aqueous suspension of vesicles). During mechanical action, some water droplets form an external phase, while others form an aqueous volume closed inside the vesicles. Using this method, it becomes possible to obtain single-layer vesicles with a diameter of 0.1 to 1 µm [57, 60]		Долгая выдержка материала, подлежащего инкапсуляции, в органических растворителях не всегда возможна. Механическая обработка может привести к денатурации некоторых белков или разрыву цепей ДНК Long exposure of the material to be encapsulated in organic solvents is not always possible. Mechanical treatment may result in denaturation of some proteins or DNA strand breaks

Продолжение таблицы 2

Метод Method	Описание Description	Преимущества Advantages	Недостатки Disadvantages
Метод растворения и удаления детергента. Dissolution and detergent re- moval method.	В данном методе липиды растворяют в растворе детергента, 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. Детергент удаляют разбавлением буфером или диализом [63, 64] In this method, lipids are dissolved in a detergent solution where the detergent binds to the phospholipids, shielding the hydrophobic heads from direct interaction with the aqueous phase, and mixed (detergent/lipid) micelles are formed. When the detergent is removed, the mixed micelles are enriched with lipids, resulting in the formation of single-layer vesicles. The detergent is removed by dilution with buffer or dialysis [63, 64]	Контролируемость размера частиц и однородности продукта, которые в значительной мере зависят от скорости удаления детергента и исходного соотношения детергент/фосфолипид Controllable particle size and product uniformity, which are highly dependent on the rate of detergent removal and the initial detergent/phospholipid ratio	Медленное уравнивание промежуточных мицеллярных структур, наличие остатков детергента и сложность удаления органического растворителя. Возможно получение дисперсии с низкой концентрацией липосом и низкой эффективностью включения гидрофобных соединений Slow equilibration of intermediate micellar structures, presence of detergent residues and difficulty in removing organic solvent Dispersion with low liposome concentration and low efficiency of hydrophobic compounds incorporation is possible
Метод впрыска (инъекции) растворителя Solvent Injection (Injection) method	Органическую фазу быстро вводят в большой объем хорошо перемешанной, предварительно нагретой водной фазы, что приводит к самонагреванию липидов и спонтанному образованию МЛВ. На свойства везикул влияют такие параметры, как скорость впрыска, температура органической и водной фазы, концентрация липидов и другие [65] The organic phase is rapidly injected into a large volume of well-mixed, preheated aqueous phase, resulting in lipid self-aggregation and spontaneous formation of MLVs. The properties of vesicles are influenced by parameters such as injection rate, temperature of the organic and aqueous phase, lipid concentration and others [65]	Простота и быстрая выполнения, высокий уровень воспроизводимости, а также возможность масштабирования продукта с высокой эффективностью включения активного вещества Easy and fast execution, high level of reproducibility, and scalability product with high active ingredient incorporation efficiency	Сложность удаления растворителей, в том числе этанола, за счёт образования азеотропной смеси с водой. Формирование гетерогенной (от 30 до 110 нм) популяции липосом. Риск инактивации биологически активных макромолекул в присутствии даже небольших количеств этанола Difficulty in removing solvents, including ethanol, due to the formation of azeotropic mixture with water. Formation of heterogeneous (from 30 to 110 nm) population of liposomes. Risk of inactivation of biologically active macromolecules in the presence of even small amounts of ethanol

Окончание таблицы 2

Метод Method	Описание Description	Преимущества Advantages	Недостатки Disadvantages
Микрофлюидные технологии Microfluidic technologies	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 [59, 61, 64, 66] The microfluidic method of liposome production involves passing a solution of phospholipids in an organic solvent through microfluidic channels, which are glass capillaries with aperture diameters ranging from 5 to 500 µm, into an aqueous medium under high pressure. Liposomes are formed as a result of local diffusion of phospholipids into water [59, 61, 64, 66]	Возможность получения монодисперсных везикул. Высокая воспроизводимость и пригодность для масштабирования. Размер частиц от 50 нм. Возможность регулирования размера. Сферическая форма липосом. Широкий диапазон загрузки веществ The possibility of obtaining monodisperse vesicles. High reproducibility and suitability for scaling. Particle size from 50 nm. Possibility to adjust the size. Spherical shape of liposomes. Wide range of loading of substances	Дорогостоящее оборудование. Длительный подбор условий для каждого отдельного состава Expensive equipment. Long selection of conditions for each individual formulation.

В рекомендациях FDA указано, что для оценки распределения липосомальной суспензии по размерам как во время исследований, так и при обычном контроле качества можно использовать анализ отслеживания наночастиц (nanoparticle tracking analysis, NTA). Учитывая, что NTA предоставляет и количественную информацию [75], метод можно использовать для оценки концентрации липосом в известном объеме среды для восстановления.

Наряду с размером частиц для систем доставки ЛС важно гарантировать, что морфология и/или структура липосом не изменяются после восстановления. Ламеллярность липосом влияет на кинетику высвобождения ЛС, а также на стабильность липосом по отношению к белку после инъекции и в более общем плане – на их характеристики *in vivo*. Структуру липосомы после восстановления можно исследовать с помощью визуализационного анализа, обычно с использованием трансмиссионной электронной или криоэлектронной микроскопии, а для более глубокого понимания тонкой структуры бислоя использовать метод малоуглового рассеяния нейтронов [76].

Для гарантии загрузки терапевтической дозы ЛС в липосому после сушки вымораживанием необходимо провести анализ инкапсулированного в везикулах ЛС. Для этого липосомальный садок промывают, а незахваченное ЛС удаляют из восстановленной дисперсии с помощью соответствующего метода очистки (например, разделения колонки) [73].

Важнейшими показателями качества липосомальных дисперсий являются химическая стабильность инкапсулированного вещества и термодинамическая стабильность коллоидной системы. Термодинамическая стабильность системы после регидратации влияет на сохранность инкапсуляции и размер липосом [74].

Везикулы стабилизируются за счет образования различных сил: Ван-дер-Ваальса между фосфолипидами, отталкивания между заряженными группами молекул фосфолипидов, отталкивания головных групп фосфолипидов, а также сил отталкивания короткого действия. При добавлении заряженных ингредиентов в двойной слой между везикулами образуются электростатические силы отталкивания, повышающие стабильность системы [60].

Сохранность коллоидного состояния без признаков коагуляции является одним из показателей качества ЛС. Одной из характеристик устойчивости липосомальной дисперсии является дзета-потенциал (ζ -потенциал), характеризующий заряд на границе раздела диэлектрического слоя. Потенциал возникает на границе раздела ионных оболочек наночастицы и имеет электростатическую природу [78].

Взаимодействие электрически заряженных частиц может сильно влиять на физическую стабильность, реологическое поведение, седиментацию, редисперсию и фильтрацию липосомальной дисперсии. Из-

менение значения ζ -потенциала в восстановленной дисперсии можно объяснить агрегацией частиц, наличием абсорбированного слоя на границе раздела, а также потерей ЛС, что является наиболее известным недостатком процесса сублимационной сушки липосом. Потеря ЛС в основном связана со слиянием везикул и/или фазовым переходом геля в жидкокристаллические липиды мембран во время высыхания липосом с последующей потерей инкапсулированного материала.

В настоящее время признано, что ζ -потенциал ниже 30 мВ , оптимум $>60\text{ мВ}$, необходим для полной электростатической стабилизации; потенциалы между 5 мВ и 15 мВ находятся в области ограниченной флокуляции, а между 5 мВ и 3 мВ – максимальной флокуляции [79]. Таким образом, агрегация частиц менее вероятна для заряженных частиц (высокий ζ -потенциал) из-за электрического отталкивания. Однако это правило не применимо к системам, содержащим стерические стабилизаторы, поскольку адсорбция последних приведет к уменьшению ζ -потенциала из-за смещения плоскости сдвига частицы. Кроме того, следует учитывать и сильную зависимость ζ -потенциала от ионов, находящихся в среде. Варьируя молекулярный состав диэлектрического слоя, можно влиять на ζ -потенциал как в сторону его уменьшения и стремления к 0, что ведет к снижению устойчивости системы, так и увеличения (без учета заряда), что повышает термодинамическую стабильность липосомальных препаратов.

А. В. Стадниченко с соавт. (2017 г.), изучая стабильность липосом с цитостатиками и уменьшение степени инкапсуляции после цикла лиофилизации – регидратации, показали, что при увеличении содержания холестерина в липидной мембране с 15 до 30 % происходило замедление снижения степени инкапсуляции липосом с 18 до 10 %, что свидетельствовало о повышении жесткости липидной мембраны. Сравнительное изучение модификации двойного электрического слоя L-аминокислотами, включая L-глицин, L-лизин и L-аргинин, показало, что эффективным является содержание 0,012 % L-лизина [80], повышающего ζ -потенциал до $-5,1\text{ мВ}$, достаточных для стабилизации липосомальной системы в течение не менее 5 ч, т. е. времени, достаточного для проведения инфузии препарата. На примере липосом с оксалиплатином было показано, что заряженные липиды дипальмитоилфосфатидилглицерола придавали необходимую седиментационную устойчивость липосомальной системе при использовании воды в качестве среды ресуспендирования и обеспечивали ζ -потенциал $-62,4\text{ мВ}$, достаточный для стабильности липосом после регидратации в течение 5 ч [81].

На стабильность липосом после регидратации оказывает влияние и растворитель. В работе [82] было показано, что использование в качестве растворителя свежеприготовленного изотонического раствора натрия хлорида сохраняло исходную концентра-

цию производного индолакарбазола в течение 3 ч. Авторы [83] изучали влияние добавления конъюгированной линолевой кислоты и регидратационной среды (пищевая модельная система и раствор этанол:вода 1:9) на стабильность липосом после лиофилизации и регидратации в процессе получения и хранения в течение 30 дней при 4 °С. Было установлено, что размер везикул лиофилизированных образцов зависел от состава бислоя, в отличие от среды для регидратации, что объяснялось структурными различиями в бислое, содержащем конъюгированную линолевую кислоту, способствующую лучшей регидратации липидных полярных головок.

Стабильность суспензий липосом требует отталкивающего взаимодействия, сравнимого с диапазоном и величиной силы Ван-дер-Ваальса. Увеличение поверхностного заряда за счет добавления заряженных молекул в бислой (т.е. индуктора положительно заряда, такого как дидецилдиметиламмония бромид, ДДАБ) приводит к электростатическому отталкиванию. Другой метод – стерическая стабилизация, достигаемая путем покрытия поверхности адсорбированным слоем длинных объемных молекул для предотвращения сближения липосом (т.е. лигандов, таких как ПЭГ). Сочетание обоих методов, называемое электростерической стабилизацией, и приводит к получению стабильных дисперсий [84]. ПЭГ, наиболее широко используемый стабилизатор в фармацевтической технологии, не поддается биологическому разложению, хорошо растворим в водных растворах, связывается с большим количеством молекул воды, обладает высокой гибкостью полимерной цепи и ограниченным накоплением в клетках ретикулярной эндотелиальной системы (RES) [85].

Таким образом, стабилизация липосомальных носителей через лиофилизацию является актуальным и современным методом, который позволит решить многие вопросы, связанные с транспортировкой и хранением. Существенные ограничения распространения данного метода обусловлены необходимостью замораживания продукта, что в случае липосом является критическим фактором, влияющим на сохранение структуры. Различные исследования свидетельствуют о том, что добавление криопротекторов не всегда позволяет решать данную проблему, и требуется поиск новых подходов к реализации такого метода, а также определение вспомогательных веществ, которые способствовали бы эффективной регидратации, повышали бы стабильность после нее, а также не оказывали бы негативного воздействия на включение и высвобождение активных ингредиентов из липосом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Липосомы являются не только перспективными наноконтейнерами для адресной доставки лекарственных средств, но и метаболически активными комплексами с широким спектром активности, подбор со-

става которых может оказать выраженное действие на органы и ткани-мишени.

В связи с развитием фармацевтической промышленности и генной терапии липосомы как носитель приобрели новую популярность. В связи с этим вопрос стабилизации липосом стал как никогда актуальным. Перспективным методом, требующим дополнительного изучения, является лиофилизация готовых липосом. Ограничения метода связаны с замораживанием продукта, которое непосредственно влияет на сохранность структуры. Для решения данной проблемы требуется поиск новых эффективных подходов к лиофилизации, а также поиск вспомогательных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pattni B.S., Chupin V.V., Torchilin V.P. New developments in liposomal drug delivery. *Chemical Reviews*. 2015;115(19): 10938–10966. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00046.
2. 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. DOI: 10.3390/molecules27041372.
3. 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;13(2–1):316–332. DOI: 10.30895/1991-2919-2023-508.
4. Jesorka A., Orwar O. Liposomes: technologies and analytical applications. *Annual Review of Analytical Chemistry*. 2008;1: 801–832. DOI: 10.1146/annurev.anchem.1.031207.112747.
5. Tokudome Y., Saito Y., Sato F., Kikuchi M., Hinokitani T., Goto K. Preparation and characterization of ceramide-based liposomes with high fusion activity and high membrane fluidity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009;73(1):92–96. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2009.05.002.
6. Spector A.A., Yorek M.A. Membrane lipid composition and cellular function. *Journal of Lipid Research*. 1985;26(9):1015–1035.
7. Kiss Z. Determination of phospholipase D-mediated hydrolysis of phosphatidylethanolamine. *Lipids*. 1991;26:321–323. DOI: 10.1007/BF02537144.
8. Richmond G.S., Smith T.K. Phospholipases A₁. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12(1):588–612. DOI: 10.3390/ijms12010588.
9. Zhao Y., Hasse S., Bourgoignie S.G. Phosphatidylserine-specific phospholipase A1: A friend or the devil in disguise. *Progress in Lipid Research*. 2021;83:101112. DOI: 10.1016/j.plipres.2021.101112.
10. Lands W.E. Metabolism of glycerolipids: II. The enzymatic acylation of lysolecithin. *Journal of Biological Chemistry*. 1960;235(8):2233–2237.
11. Ho C.-L., Lin Y.-L., Li S.-F. Three toxins with phospholipase activity isolated from the yellow-legged hornet (*Vespa verutina*) venom. *Toxicon*. 1999;37(7):1015–1024. DOI: 10.1016/S0041-0101(98)00229-3.
12. Thomson F.J., Clark M.A. Purification of a phosphatidic-acid-hydrolysing phospholipase A₂ from rat brain. *Biochemical Journal*. 1995;306(1):305–309. DOI: 10.1042/bj3060305.

13. Ren J., Lin J., Yu L., Yan M. Lysophosphatidylcholine: Potential Target for the Treatment of Chronic Pain. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(15):8274. DOI: 10.3390/ijms23158274.
14. Plemel J.R., Michaels N.J., Weishaupt N., Capriarello A.V., Keough M.B., Rogers J.A., Yukseloglu A., Lim J., Patel V.V., Rawji K.S., Jensen S.K., Teo W., Heyne B., Whitehead S.N., Stys P.K., Yong V.W. Mechanisms of lysophosphatidylcholine-induced demyelination: A primary lipid disrupting myelinopathy. *Glia*. 2018;66(2):327–347. DOI: 10.1002/glia.23245.
15. Drzazga A., Sowińska A., Koziolkiewicz M. Lysophosphatidylcholine and lysophosphatidylinositol—novel promising signaling molecules and their possible therapeutic activity. *Acta poloniae pharmaceutica*. 2014;71(6):887–899.
16. Endo Y., Kanno T., Nakajima T., Ikeda K., Taketomi Y., Yokoyama S., Sasamoto S., Asou H.K., Miyako K., Hasegawa Y., Kawashima Y., Ohara O., Murakami M., Nakayama T. 1-Oleoyl-lysophosphatidylethanolamine stimulates ROR γ t activity in TH17 cells. *Science Immunology*. 2023;8(86):eadd4346. DOI: 10.1126/sciimmunol.add4346.
17. Yamamoto Y., Sakurai T., Chen Z., Inoue N., Chiba H., Hui S.-P. Lysophosphatidylethanolamine Affects Lipid Accumulation and Metabolism in a Human Liver-Derived Cell Line. *Nutrients*. 2022;14(3):579. DOI: 10.3390/nu14030579.
18. Park S.-J., Im D.-S. 2-Arachidonyl-lysophosphatidylethanolamine Induces Anti-Inflammatory Effects on Macrophages and in Carrageenan-Induced Paw Edema. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(9):4865. DOI: 10.3390/ijms22094865.
19. Bill C.A., Vines C.M. Phospholipase C. Calcium signaling. 2002;1131:215–242. DOI: 10.1007/978-3-030-12457-1_9.
20. Takaoka R., Kurosaki H., Nakao H., Ikeda K., Nakano M. Formation of asymmetric vesicles via phospholipase D-mediated transphosphatidylolation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2018;1860(2):245–249. DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.10.011.
21. Hou H.-J., Gong J.-S., Dong Y.-X., Qin J., Li H., Li H., Lu Z.-M., Zhang X.-M., Xu Z.-H., Shi J.-S. Phospholipase D engineering for improving the biocatalytic synthesis of phosphatidylserine. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2019;42(7):1185–1194. DOI: 10.1007/s00449-019-02116-7.
22. Arora H., Culler M.D., Decker E.A. Production of a High-Phosphatidylserine Lecithin That Synergistically Inhibits Lipid Oxidation with α -Tocopherol in Oil-in-Water Emulsions. *Foods*. 2022;11(7):1014. DOI: 10.3390/foods11071014.
23. Guertin D.A., Sabatini D.M. An expanding role for mTOR in cancer. *Trends in Molecular Medicine*. 2005;11(8):353–361. DOI: 10.1016/j.molmed.2005.06.007.
24. Литвинко Н.М. Межфазный катализ липолитических реакций в биоорганической химии: особенности и практическое применение. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук*. 2015;(4): 109–121.
25. Aguilar A., Saba J.D. Truth and consequences of sphingosine-1-phosphate lyase. *Advances in Biological Regulation*. 2012;52(1):17–30. DOI: 10.1016/j.advenzreg.2011.09.015.
26. Iqbal J., Walsh M.T., Hammad S.M., Hussain M.M. Sphingolipids and Lipoproteins in Health and Metabolic Disorders. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2017;28(7):506–518. DOI: 10.1016/j.tem.2017.03.005.
27. Gulbins A., Grassmé H., Hoehn R., Wilker B., Soddemann M., Kohnen M., Edwards M.J., Kornhuber J., Gulbins E. Regulation of Neuronal Stem Cell Proliferation in the Hippocampus by Endothelial Ceramide. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2016;39(2):790–801. DOI: 10.1159/000447789.
28. Cruciani-Guglielmacci C., López M., Campana M., Le Stunff H. Brain Ceramide Metabolism in the Control of Energy Balance. *Frontiers in Physiology*. 2017;8:787. DOI: 10.3389/fphys.2017.00787.
29. Jana A., Hogan E.L., Pahan K. Ceramide and neurodegeneration: susceptibility of neurons and oligodendrocytes to cell damage and death. *Journal of the Neurological Sciences*. 2009;278(1–2):5–15. DOI: 10.1016/j.jns.2008.12.010.
30. Jiang M., Chavarria T.E., Yuan B., Lodish H.F., Huang N.-J. Phosphocholine accumulation and PHOSPHO1 depletion promote adipose tissue thermogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117(26):15055–15065. DOI: 10.1073/pnas.1916550117.
31. Grabitzki J., Lochnit G. Immunomodulation by phosphocholine—biosynthesis, structures and immunological implications of parasitic PC-epitopes. *Molecular Immunology*. 2009;47(2–3):149–163. DOI: 10.1016/j.molimm.2009.09.035.
32. Clark S.E., Weiser J.N. Microbial modulation of host immunity with the small molecule phosphorylcholine. *Infection and Immunity*. 2013;81(2):392–401. DOI: 10.1128/IAI.01168-12.
33. Cartier A., Hla T. Sphingosine 1-phosphate: Lipid signaling in pathology and therapy. *Science*. 2019;366(6463):eaar5551. DOI: 10.1126/science.aar5551.
34. Hodun K., Chabowski A., Baranowski M. Sphingosine-1-phosphate in acute exercise and training. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2021;31(5):945–955. DOI: 10.1111/sms.13907.
35. Blanc M., Hsieh W.Y., Robertson K.A., Kropp K.A., Forster T., Shui G., Lacaze P., Watterson S., Griffiths S.J., Spann N.J., Meljon A., Talbot S., Krishnan K., Covey D.F., Wenk M.R., Craigmiles M., Ruzsics Z., Haas J., Angulo A., Griffiths W.J., Glass C.K., Wang Y., Ghazal P. The transcription factor STAT-1 couples macrophage synthesis of 25-hydroxycholesterol to the interferon antiviral response. *Immunity*. 2013;38(1):106–118. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.11.004.
36. Zang R., Case J.B., Yutuc E., Ma X., Shen S., Gomez Castro M.F., Liua Z., Zeng Q., Zhao H., Son J., Rothlauf P.W., Kreutzberger A.J.B., Hou G., Zhang H., Bosem S., Wang X., Vahey M.D., Mani K., Griffiths W.J., Kirchhausen T., Fremont D.H., Guo H., Diwane A., Wang Y., Diamond M.S., Whelan S.P.J., Ding S. Cholesterol 25-hydroxylase suppresses SARS-CoV-2 replication by blocking membrane fusion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117(50):32105–32113. DOI: 10.1073/pnas.2012197117.
37. Griffiths W.J., Wang Y. Cholesterol metabolism: from lipidomics to immunology. *Journal of Lipid Research*. 2022;63(2):100165. DOI: 10.1016/j.jlr.2021.100165.
38. Chambers K.F., Day P.E., Aboufarrag H.T., Kroon P.A. Polyphenol effects on cholesterol metabolism via bile acid biosynthesis, CYP7A1: A Review. *Nutrients*. 2019;11(11):2588. DOI: 10.3390/nu11112588.
39. Zhang J., Zhu Y., Wang X., Wang J. 25-hydroxycholesterol: an integrator of antiviral ability and signaling. *Frontiers in Immunology*. 2023;14:1268104. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1268104.
40. Kakiyama G., Minowa K., Rodriguez-Agudo D., Martin R., Takei H., Mitamura K., Ikegawa S., Suzuki M., Nittano H., Fuchs M., Heuman D.M., Zhou H., Pandak W.M. Coffee

- modulates insulin-hepatocyte nuclear factor-4 α -Cyp7b1 pathway and reduces oxysterol-driven liver toxicity in a nonalcoholic fatty liver disease mouse model. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2022;323(5):G488–G500. DOI: 10.1152/ajpgi.00179.2022.
41. Chiang J.Y.L., Ferrell J.M. Up to date on cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) in bile acid synthesis. *Liver Research*. 2020;4(2):47–63. DOI: 10.1016/j.livres.2020.05.001.
42. Noguchi N., Saito Y., Urano Y. Diverse functions of 24(S)-hydroxycholesterol in the brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2014;446(3):692–696. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.02.010.
43. Bikle D., Christakos S. New aspects of vitamin D metabolism and action – addressing the skin as source and target. *Nature Reviews Endocrinology*. 2020;16(4):234–252. DOI: 10.1038/s41574-019-0312-5.
44. Титов В.Н. Атеросклероз как патология полиеновых жирных кислот. Биологические основы теории атерогенеза. Москва: Клиника XXI века; 2002. 495 с.
45. Wang B., Wu L., Chen J., Dong L., Chen C., Wen Z., Hu J., Fleming I., Wang D.W. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021;6(1):94. DOI: 10.1038/s41392-020-00443-w.
46. Biernacki M., Skrzydlewska E. Metabolism of endocannabinoids. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. 2016;70(0):830–843. DOI: 10.5604/17322693.1213898.
47. Serhan C.N., Levy B.D. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *Journal of Clinical Investigation*. 2018;128(7):2657–2669. DOI: 10.1172/JCI97943.
48. Hu J., Lin S., Zheng B., Cheung P.C.K. Short-chain fatty acids in control of energy metabolism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2018;58(8):1243–1249. DOI: 10.1080/10408398.2016.1245650.
49. De Carvalho C.C.R., Caramujo M.J. The Various roles of fatty acids. *Molecules*. 2018;23(10):2583. DOI: 10.3390/molecules23102583.
50. Bangham A.D., Standish M.M., Weissmann G. The action of steroids and streptolysin S on the permeability of phospholipid structures to cations. *Journal of Molecular Biology*. 1965;13(1):253–259. DOI: 10.1016/S0022-2836(65)80094-8.
51. Brunner J., Skrabal P., Hauser H. Single bilayer vesicles prepared without sonication physico-chemical properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 1976;455(2):322–331. DOI: 10.1016/0005-2736(76)90308-4.
52. Batzri S., Korn E.D. Single bilayer liposomes prepared without sonication. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 1973;298(4):1015–1019. DOI: 10.1016/0005-2736(73)90408-2.
53. Szoka F., Papahadjopoulos D. Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1978;75(9):4194–4198. DOI: 10.1073/pnas.75.9.4194.
54. New R.R. Liposomes. Oxford: IRL at Oxford University Press; 1990. 301 p.
55. Kim S., Martin G.M. Preparation of cell-size unilamellar liposomes with high captured volume and defined size distribution. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 1981;646(1):1–9. DOI: 10.1016/0005-2736(81)90264-9.
56. Karn P.-R., Cho W., Park H.J., Park J.S., Hwang S.J. Characterization and stability studies of a novel liposomal cyclosporin A prepared using the supercritical fluid method: comparison with the modified conventional Bangham method. *International Journal of Nanomedicine*. 2013;365–377. DOI: 10.2147/IJN.S39025.
57. Nicolosi D., Scalia M., Nicolosi V.M., Pignatello R. Encapsulation in fusogenic liposomes broadens the spectrum of action of vancomycin against Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010;35(6):553–558. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2010.01.015.
58. Lehmann J., Agel M.R., Engelhardt K.H., Pinnapireddy S.R., Agel S., Duse L., Preis E., Wojcik M., Bakowsky U. Improvement of pulmonary photodynamic therapy: Nebulisation of curcumin-loaded tetraether liposomes. *Pharmaceutics*. 2021;13(8):1243. DOI: 10.3390/pharmaceutics13081243.
59. Phapal S.M., Sunthar P. Influence of micro-mixing on the size of liposomes self-assembled from miscible liquid phases. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2013;172:20–30. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2013.04.006.
60. Mozafari M.R., Reed C.J., Rostron C. Cytotoxicity evaluation of anionic nanoliposomes and nanolipoplexes prepared by the heating method without employing volatile solvents and detergents. *Pharmazie*. 2007;62(3):205–209.
61. Saliba A.-E., Vonkova I., Deghou S., Ceschia S., Tischer C., Kugler K.G., Bork P., Ellenberg J., Gavin A.-C. A protocol for the systematic and quantitative measurement of protein-lipid interactions using the liposome-microarray-based assay. *Nature Protocols*. 2016; 11(6):1021–1038. DOI: 10.1038/nprot.2016.059.
62. Devrim B., Kara A., Vural İ., Bozkır A. Lysozyme-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles: preparation, characterization and colloidal stability evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2016;42(11):1865–1876. DOI: 10.1080/03639045.2016.1180392.
63. Anabousi S., Laue M., Lehr C.-M., Bakowsky U., Ehrhardt C. Assessing transferrin modification of liposomes by atomic force microscopy and transmission electron microscopy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2005;60(2):295–303. DOI: 10.1016/j.ejpb.2004.12.009.
64. Sivadasan D., Sultan M.H., Madkhali O.A., Alsabei S.H., Alessa A.A. Stealth liposomes (PEGylated) containing an anticancer drug camptothecin: In vitro characterization and in vivo pharmacokinetic and tissue distribution study. *Molecules*. 2022;27(3):1086. DOI: 10.3390/molecules27031086.
65. Shetti P., Jalalpure S.S., Patil A.S., Kaur K. Apigenin-loaded stealth liposomes: Development and pharmacokinetic studies for enhanced plasma retention of drug in cancer therapy. *Topics in Catalysis*. 2024;67(1):46–58. DOI: 10.1007/s11244-023-01818-3.
66. Gheibi Hayat S.M., Jaafari M.R., Hatamipour M., Penson P.E., Sahebkar A. Liposome circulation time is prolonged by CD47 coating. *Protein & Peptide Letters*. 2020;27(10):1029–1037. DOI: 10.2174/0929866527666200413100120.
67. Wang Z., Zhao Y., Jiang Y., Lv W., Wu L., Wang B., Lv L., Xu Q., Xin H. Enhanced anti-ischemic stroke of ZL006 by T7-conjugated PEGylated liposomes drug delivery system. *Scientific Reports*. 2015;5(1):12651. DOI: 10.1038/srep12651.
68. Sylvester B., Porfire A., Muntean D.-M., Vlase L., Lupuț L., Licarete E., Sesarman A., Costel Alupeș M., Banciu M., Achim M., Tomuța I. Optimization of prednisolone-loaded long-circulating liposomes via application of Quality by Design (QbD) approach. *Journal of Liposome Research*. 2018;28(1):49–61. DOI: 10.1080/08982104.2016.1254242.
69. Maherani B., Arab-Tehrany E., Mozafari M.R., Gaiani C., Linder M. Liposomes: A Review of Manufacturing Techniques and Targeting Strategies. *Current Nanoscience*. 2011;7(3):436–52. DOI: 10.2174/15734311795542453.

70. Crowe L.M., Crowe J.H., Rudolph A., Womersley C., Appel L. Preservation of freeze-dried liposomes by trehalose. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1985;242(1):240–247. DOI: 10.1016/0003-9861(85)90498-9.
71. Stark B., Pabst G., Prassl R. Long-term stability of sterically stabilized liposomes by freezing and freeze-drying: Effects of cryoprotectants on structure. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010;41(3–4):546–555. DOI: 10.1016/j.ejps.2010.08.010.
72. Stadnichenko O.V., Krasnopolsky Y.M., Yarnykh T.G. The study of liophilization parameters in the liposomal irinotecan development. *News of Pharmacy*. 2017;4(92):45–49.
73. Franzé S., Selmin F., Samaritani E., Minghetti P., Cilurzo F. Lyophilization of liposomal formulations: still necessary, still challenging. *Pharmaceutics*. 2018;10(3):139. DOI: 10.3390/pharmaceutics10030139.
74. Filipe V., Hawe A., Jiskoot W. Critical evaluation of nanoparticle tracking analysis (NTA) by nanosight for the measurement of nanoparticles and protein aggregates. *Pharmaceutical Research*. 2010;27:796–810. DOI: 10.1007/s1095-010-0073-2.
75. Pedreira de Almeida A.C., Matos Alves Pinto L., Piovesan Alves G., Nunes de Moraes Ribeiro L., Andrade Santana M.H., Saia Cereda C.M., Fernandes Fraceto L., de Paula E. Liposomal-based lidocaine formulation for the improvement of infiltrative buccal anaesthesia. *Journal of Liposome Research*. 2019;29(1),66–72. DOI: 10.1080/08982104.2018.1483947.
76. Kent B., Garvey C. J., Cookson D., Bryant G. The inverse hexagonal – inverse ribbon – lamellar gel phase transition sequence in low hydration DOPC:DOPE phospholipid mixtures. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2009;157(1):56–60. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2008.10.003.
77. Guida V. Thermodynamics and kinetics of vesicles formation processes. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2010;161(1–2):77–88. DOI: 10.1016/j.cis.2009.11.004.
78. Cohen J.A. Electrophoretic characterization of liposomes. *Methods in Enzymology*. 2003;367:148–176. DOI: 10.1016/S0076-6879(03)67011-4.
79. Heurtault B., Saulnier P., Pech B., Proust J.-E., Benoit J.-P. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials*. 2003;24(23):4283–4300. DOI: 10.1016/S0142-9612(03)00331-4.
80. Стадниченко А. В., Краснополяский Ю. М., Ярных Т. Г. Оптимизация параметров дзета-потенциала при создании липосом с иринотеканом. *Фармация Казахстана*. 2017;6:7–10.
81. Стадниченко А. В., Краснополяский Ю. М., Ярных Т. Г. Изучение факторов, влияющих на стабильность липосом с цитостатиками при регидратации. *Рецепт*. 2017;20(2):146–152.
82. Гулякин И. Д., Николаева Л. Л., Дмитриева М. В., Оборотова Н. А., Орлова О. Л., Полозкова А. П. Разработка лиофилизированной липосомальной лекарственной формы производного индолокарбазола – ЛХС-1208. *Фармацевтическое дело и технология лекарств*. 2020;(5):66–78.
83. Vélez M. A., Perotti M. C., Hynes E. R., Gennaro A. M. Effect of lyophilization on food grade liposomes loaded with conjugated linoleic acid. *Journal of Food Engineering*. 2019;240:199–206. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2018.07.033.
84. Yadav A. V., Murthy M. S., Shete A. S., Sakhare S. Stability aspects of liposomes. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2011;45(4):402–413.
85. D'souza A. A., Shegokar R. Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2016;13(9):1257–1275. DOI: 10.1080/17425247.2016.1182485.

REFERENCES

1. Pattni B.S., Chupin V.V., Torchilin V.P. New developments in liposomal drug delivery. *Chemical Reviews*. 2015;115(19): 10938–10966. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00046.
2. 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. DOI: 10.3390/molecules27041372.
3. Burdaev N.I., Nikolaeva L.L., Kosenko V.V., Shprah 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;13(2–1):316–332. (In Russ.) DOI:10.30895/1991-2919-2023-508.
4. Jesorka A., Orwar O. Liposomes: technologies and analytical applications. *Annual Review of Analytical Chemistry*. 2008;1: 801–832. DOI: 10.1146/annurev.anchem.1.031207.112747.
5. Tokudome Y., Saito Y., Sato F., Kikuchi M., Hinokitani T., Goto K. Preparation and characterization of ceramide-based liposomes with high fusion activity and high membrane fluidity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009;73(1):92–96. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2009.05.002.
6. Spector A. A., Yorek M. A. Membrane lipid composition and cellular function. *Journal of Lipid Research*. 1985;26(9):1015–1035.
7. Kiss Z. Determination of phospholipase D-mediated hydrolysis of phosphatidylethanolamine. *Lipids*. 1991;26:321–323. DOI: 10.1007/BF02537144.
8. Richmond G. S., Smith T. K. Phospholipases A₁. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12(1):588–612. DOI: 10.3390/ijms12010588.
9. Zhao Y., Hasse S., Bourgoin S. G. Phosphatidylserine-specific phospholipase A1: A friend or the devil in disguise. *Progress in Lipid Research*. 2021;83:101112. DOI: 10.1016/j.plipres.2021.101112.
10. Lands W. E. Metabolism of glycerolipids: II. The enzymatic acylation of lysolecithin. *Journal of Biological chemistry*. 1960;235(8):2233–2237.
11. Ho C.-L., Lin Y.-L., Li S.-F. Three toxins with phospholipase activity isolated from the yellow-legged hornet (*Vespa verutina*) venom. *Toxicon*. 1999;37(7):1015–1024. DOI: 10.1016/S0041-0101(98)00229-3.
12. Thomson F. J., Clark M. A. Purification of a phosphatidic-acid-hydrolysing phospholipase A₂ from rat brain. *Biochemical Journal*. 1995;306(1):305–309. DOI: 10.1042/bj3060305.
13. Ren J., Lin J., Yu L., Yan M. Lysophosphatidylcholine: Potential Target for the Treatment of Chronic Pain. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(15):8274. DOI: 10.3390/ijms23158274.
14. Plemel J. R., Michaels N. J., Weishaupt N., Caprariello A. V., Keough M. B., Rogers J. A., Yukseoglu A., Lim J., Patel V. V., Rawji K. S., Jensen S. K., Teo W., Heyne B., Whitehead S. N., Stys P. K., Yong V. W. Mechanisms of lysophosphatidylcholine-induced demyelination: A primary lipid disrupting myelinopathy. *Glia*. 2018;66(2):327–347. DOI: 10.1002/glia.23245.

15. Drzazga A., Sowińska A., Koziolkiewicz M. Lysophosphatidylcholine and lysophosphatidylinositol—novel promising signaling molecules and their possible therapeutic activity. *Acta poloniae pharmaceutica*. 2014;71(6):887–899.
16. Endo Y., Kanno T., Nakajima T., Ikeda K., Taketomi Y., Yokoyama S., Sasamoto S., Asou H.K., Miyako K., Hasegawa Y., Kawashima Y., Ohara O., Murakami M., Nakayama T. 1-Oleoyl-lysophosphatidylethanolamine stimulates ROR γ t activity in TH17 cells. *Science Immunology*. 2023;8(86):eadd4346. DOI: 10.1126/sciimmunol.add4346.
17. Yamamoto Y., Sakurai T., Chen Z., Inoue N., Chiba H., Hui S.-P. Lysophosphatidylethanolamine Affects Lipid Accumulation and Metabolism in a Human Liver-Derived Cell Line. *Nutrients*. 2022;14(3):579. DOI: 10.3390/nu14030579.
18. Park S.-J., Im D.-S. 2-Arachidonyl-lysophosphatidylethanolamine Induces Anti-Inflammatory Effects on Macrophages and in Carrageenan-Induced Paw Edema. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(9):4865. DOI: 10.3390/ijms22094865.
19. Bill C.A., Vines C.M. Phospholipase C. Calcium signaling. 2020;1131:215–242. DOI: 10.1007/978-3-030-12457-1_9.
20. Takaoka R., Kurosaki H., Nakao H., Ikeda K., Nakano M. Formation of asymmetric vesicles via phospholipase D-mediated transphosphatidylation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2018;1860(2):245–249. DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.10.011.
21. Hou H.-J., Gong J.-S., Dong Y.-X., Qin J., Li H., Li H., Lu Z.-M., Zhang X.-M., Xu Z.-H., Shi J.-S. Phospholipase D engineering for improving the biocatalytic synthesis of phosphatidylserine. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2019;42(7):1185–1194. DOI: 10.1007/s00449-019-02116-7.
22. Arora H., Culler M.D., Decker E.A. Production of a High-Phosphatidylserine Lecithin That Synergistically Inhibits Lipid Oxidation with α -Tocopherol in Oil-in-Water Emulsions. *Foods*. 2022;11(7):1014. DOI: 10.3390/foods11071014.
23. Guertin D.A., Sabatini D.M. An expanding role for mTOR in cancer. *Trends in Molecular Medicine*. 2005;11(8):353–361. DOI: 10.1016/j.molmed.2005.06.007.
24. Litvinko N.M. Interfacial catalysis of lipolytic reactions in bioorganic chemistry: features and practical application. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Chemical Series*. 2015;(4):109–121. (In Russ.)
25. Aguilar A., Saba J.D. Truth and consequences of sphingosine-1-phosphate lyase. *Advances in Biological Regulation*. 2012;52(1):17–30. DOI: 10.1016/j.advenzreg.2011.09.015.
26. Iqbal J., Walsh M.T., Hammad S.M., Hussain M.M. Sphingolipids and Lipoproteins in Health and Metabolic Disorders. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2017;28(7):506–518. DOI: 10.1016/j.tem.2017.03.005.
27. Gulbins A., Grassmé H., Hoehn R., Wilker B., Soddemann M., Kohnen M., Edwards M.J., Kornhuber J., Gulbins E. Regulation of Neuronal Stem Cell Proliferation in the Hippocampus by Endothelial Ceramide. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2016;39(2):790–801. DOI: 10.1159/000447789.
28. Cruciani-Guglielmacci C., López M., Campana M., Le Stunff H. Brain Ceramide Metabolism in the Control of Energy Balance. *Frontiers in Physiology*. 2017;8:787. DOI: 10.3389/fphys.2017.00787.
29. Jana A., Hogan E.L., Pahan K. Ceramide and neurodegeneration: susceptibility of neurons and oligodendrocytes to cell damage and death. *Journal of the Neurological Sciences*. 2009;278(1–2):5–15. DOI: 10.1016/j.jns.2008.12.010.
30. Jiang M., Chavarria T.E., Yuan B., Lodish H.F., Huang N.-J. Phosphocholine accumulation and PHOSPHO1 depletion promote adipose tissue thermogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117(26):15055–15065. DOI: 10.1073/pnas.1916550117.
31. Grabitzki J., Lochnit G. Immunomodulation by phosphocholine—biosynthesis, structures and immunological implications of parasitic PC-epitopes. *Molecular Immunology*. 2009;47(2–3):149–163. DOI: 10.1016/j.molimm.2009.09.035.
32. Clark S.E., Weiser J.N. Microbial modulation of host immunity with the small molecule phosphorylcholine. *Infection and Immunity*. 2013;81(2):392–401. DOI: 10.1128/IAI.01168-12.
33. Cartier A., Hla T. Sphingosine 1-phosphate: Lipid signaling in pathology and therapy. *Science*. 2019;366(6463):eaar5551. DOI: 10.1126/science.aar5551.
34. Hodun K., Chabowski A., Baranowski M. Sphingosine-1-phosphate in acute exercise and training. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2021;31(5):945–955. DOI: 10.1111/sms.13907.
35. Blanc M., Hsieh W.Y., Robertson K.A., Kropp K.A., Forster T., Shui G., Lacaze P., Watterson S., Griffiths S.J., Spann N.J., Meljon A., Talbot S., Krishnan K., Covey D.F., Wenk M.R., Craigon M., Ruzsics Z., Haas J., Angulo A., Griffiths W.J., Glass C.K., Wang Y., Ghazal P. The transcription factor STAT-1 couples macrophage synthesis of 25-hydroxycholesterol to the interferon antiviral response. *Immunity*. 2013;38(1):106–118. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.11.004.
36. Zang R., Case J.B., Yutuc E., Ma X., Shen S., Gomez Castro M.F., Liua Z., Zeng Q., Zhao H., Son J., Rothlauf P.W., Kreutzberger A.J.B., Hou G., Zhang H., Bosem S., Wang X., Vahey M.D., Mani K., Griffiths W.J., Kirchhausen T., Fremont D.H., Guo H., Diwane A., Wang Y., Diamond M.S., Whelan S.P.J., Ding S. Cholesterol 25-hydroxylase suppresses SARS-CoV-2 replication by blocking membrane fusion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117(50):32105–32113. DOI: 10.1073/pnas.2012197117.
37. Griffiths W.J., Wang Y. Cholesterol metabolism: from lipidomics to immunology. *Journal of Lipid Research*. 2022;63(2):100165. DOI: 10.1016/j.jlrl.2021.100165.
38. Chambers K.F., Day P.E., Aboufarrag H.T., Kroon P.A. Polyphenol effects on cholesterol metabolism via bile acid biosynthesis, CYP7A1: A Review. *Nutrients*. 2019;11(11):2588. DOI: 10.3390/nu11112588.
39. Zhang J., Zhu Y., Wang X., Wang J. 25-hydroxycholesterol: an integrator of antiviral ability and signaling. *Frontiers in Immunology*. 2023;14:1268104. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1268104.
40. Kakiyama G., Minowa K., Rodriguez-Agudo D., Martin R., Takei H., Mitamura K., Ikegawa S., Suzuki M., Nittono H., Fuchs M., Heuman D.M., Zhou H., Pandak W.M. Coffee modulates insulin-hepatocyte nuclear factor-4 α -Cyp7b1 pathway and reduces oxysterol-driven liver toxicity in a nonalcoholic fatty liver disease mouse model. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2022;323(5):G488–G500. DOI: 10.1152/ajpgi.00179.2022.
41. Chiang J.Y.L., Ferrell J.M. Up to date on cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) in bile acid synthesis. *Liver Research*. 2020;4(2):47–63. DOI: 10.1016/j.livres.2020.05.001.
42. Noguchi N., Saito Y., Urano Y. Diverse functions of 24(S)-hydroxycholesterol in the brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2014;446(3):692–696. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.02.010.

43. Bikle D., Christakos S. New aspects of vitamin D metabolism and action – addressing the skin as source and target. *Nature Reviews Endocrinology*. 2020;16(4):234–252. DOI: 10.1038/s41574-019-0312-5.
44. Titov V. N. Atherosclerosis as a pathology of polyene fatty acids. Biological basis of the theory of atherogenesis. Moscow: Klinika XXI veka; 2002. 495 p. (In Russ.)
45. Wang B., Wu L., Chen J., Dong L., Chen C., Wen Z., Hu J., Fleming I., Wang D. W. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021;6(1):94. DOI: 10.1038/s41392-020-00443-w.
46. Biernacki M., Skrzydlewska E. Metabolism of endocannabinoids. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. 2016;70(0):830–843. DOI: 10.5604/17322693.1213898.
47. Serhan C. N., Levy B. D. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *Journal of Clinical Investigation*. 2018;128(7):2657–2669. DOI: 10.1172/JCI97943.
48. Hu J., Lin S., Zheng B., Cheung P. C. K. Short-chain fatty acids in control of energy metabolism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2018;58(8):1243–1249. DOI: 10.1080/10408398.2016.1245650.
49. De Carvalho C. C. R., Caramujo M. J. The Various roles of fatty acids. *Molecules*. 2018;23(10):2583. DOI: 10.3390/molecules23102583.
50. Bangham A. D., Standish M. M., Weissmann G. The action of steroids and streptolysin S on the permeability of phospholipid structures to cations. *Journal of Molecular Biology*. 1965;13(1):253–259. DOI: 10.1016/S0022-2836(65)80094-8.
51. Brunner J., Skrabal P., Hauser H. Single bilayer vesicles prepared without sonication physico-chemical properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 1976;455(2):322–331. DOI: 10.1016/0005-2736(76)90308-4.
52. Batzri S., Korn E. D. Single bilayer liposomes prepared without sonication. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 1973;298(4):1015–1019. DOI: 10.1016/0005-2736(73)90408-2.
53. Szoka F., Papahadjopoulos D. Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1978;75(9):4194–4198. DOI: 10.1073/pnas.75.9.4194.
54. New R. R. Liposomes. Oxford: IRL at Oxford University Press; 1990. 301 p.
55. Kim S., Martin G. M. Preparation of cell-size unilamellar liposomes with high captured volume and defined size distribution. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 1981;646(1):1–9. DOI: 10.1016/0005-2736(81)90264-9.
56. Karn P.-R., Cho W., Park H. J., Park J. S., Hwang S. J. Characterization and stability studies of a novel liposomal cyclosporin A prepared using the supercritical fluid method: comparison with the modified conventional Bangham method. *International Journal of Nanomedicine*. 2013;365–377. DOI: 10.2147/IJN.S39025.
57. Nicolosi D., Scalia M., Nicolosi V. M., Pignatello R. Encapsulation in fusogenic liposomes broadens the spectrum of action of vancomycin against Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010;35(6):553–558. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2010.01.015.
58. Lehmann J., Agel M. R., Engelhardt K. H., Pinnapireddy S. R., Agel S., Duse L., Preis E., Wojcik M., Bakowsky U. Improvement of pulmonary photodynamic therapy: Nebulisation of curcumin-loaded tetraether liposomes. *Pharmaceutics*. 2021;13(8):1243. DOI: 10.3390/pharmaceutics13081243.
59. Phapal S. M., Sunthar P. Influence of micro-mixing on the size of liposomes self-assembled from miscible liquid phases. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2013;172:20–30. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2013.04.006.
60. Mozafari M. R., Reed C. J., Rostron C. Cytotoxicity evaluation of anionic nanoliposomes and nanolipoplexes prepared by the heating method without employing volatile solvents and detergents. *Pharmazie*. 2007;62(3):205–209.
61. Saliba A.-E., Vonkova I., Deghou S., Ceschia S., Tischer C., Kugler K. G., Bork P., Ellenberg J., Gavin A.-C. A protocol for the systematic and quantitative measurement of protein-lipid interactions using the liposome-microarray-based assay. *Nature Protocols*. 2016; 11(6):1021–1038. DOI: 10.1038/nprot.2016.059.
62. Devrim B., Kara A., Vural İ., Bozkır A. Lysozyme-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles: preparation, characterization and colloidal stability evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2016;42(11):1865–1876. DOI: 10.1080/03639045.2016.1180392.
63. Anabousi S., Laue M., Lehr C.-M., Bakowsky U., Ehrhardt C. Assessing transferrin modification of liposomes by atomic force microscopy and transmission electron microscopy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2005;60(2):295–303. DOI: 10.1016/j.ejpb.2004.12.009.
64. Sivasadan D., Sultan M. H., Madkhali O. A., Alsabei S. H., Alessa A. A. Stealth liposomes (PEGylated) containing an anticancer drug camptothecin: In vitro characterization and in vivo pharmacokinetic and tissue distribution study. *Molecules*. 2022;27(3):1086. DOI: 10.3390/molecules27031086.
65. Shetti P., Jalalpure S. S., Patil A. S., Kaur K. Apigenin-loaded stealth liposomes: Development and pharmacokinetic studies for enhanced plasma retention of drug in cancer therapy. *Topics in Catalysis*. 2024;67(1):46–58. DOI: 10.1007/s11244-023-01818-3.
66. Gheibi Hayat S. M., Jaafari M. R., Hatamipour M., Penson P. E., Sahebkar A. Liposome circulation time is prolonged by CD47 coating. *Protein & Peptide Letters*. 2020;27(10):1029–1037. DOI: 10.2174/0929866527666200413100120.
67. Wang Z., Zhao Y., Jiang Y., Lv W., Wu L., Wang B., Lv L., Xu Q., Xin H. Enhanced anti-ischemic stroke of ZL006 by T7-conjugated PEGylated liposomes drug delivery system. *Scientific Reports*. 2015;5(1):12651. DOI: 10.1038/srep12651.
68. Sylvester B., Porfire A., Muntean D.-M., Vlase L., Lupuț L., Licarete E., Sesarman A., Costel Alupeș M., Banciu M., Achim M., Tomuță I. Optimization of prednisolone-loaded long-circulating liposomes via application of Quality by Design (QbD) approach. *Journal of Liposome Research*. 2018;28(1):49–61. DOI: 10.1080/08982104.2016.1254242.
69. Maherani B., Arab-Tehrany E., Mozafari M. R., Gaiani C., Linder M. Liposomes: A Review of Manufacturing Techniques and Targeting Strategies. *Current Nanoscience*. 2011;7(3):436–52. DOI: 10.2174/157341311795542453.
70. Crowe L. M., Crowe J. H., Rudolph A., Womersley C., Appel L. Preservation of freeze-dried liposomes by trehalose. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1985;242(1):240–247. DOI: 10.1016/0003-9861(85)90498-9.
71. Stark B., Pabst G., Prassl R. Long-term stability of sterically stabilized liposomes by freezing and freeze-drying: Effects of cryoprotectants on structure. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010;41(3–4):546–555. DOI: 10.1016/j.ejps.2010.08.010.

72. Stadnichenko O.V., Krasnopol'skiy Yu.M., Yarnykh T.G. The study of lyophilization parameters in the liposomal irinotecan development. *News of Pharmacy*. 2017;4(92):45–49.
73. Franzé S., Selmin F., Samaritani E., Minghetti P., Cilurzo F. Lyophilization of liposomal formulations: still necessary, still challenging. *Pharmaceutics*. 2018;10(3):139. DOI: 10.3390/pharmaceutics10030139.
74. Filipe V., Hawe A., Jiskoot W. Critical evaluation of nanoparticle tracking analysis (NTA) by nanosight for the measurement of nanoparticles and protein aggregates. *Pharmaceutical Research*. 2010;27:796–810. DOI: 10.1007/s11095-010-0073-2.
75. Pedreira de Almeida A.C., Matos Alves Pinto L., Piovesan Alves G., Nunes de Moraes Ribeiro L., Andrade Santana M.H., Saia Cereda C.M., Fernandes Fraceto L., de Paula E. Liposomal-based lidocaine formulation for the improvement of infiltrative buccal anaesthesia. *Journal of Liposome Research*. 2019;29(1),66–72. DOI: 10.1080/08982104.2018.1483947.
76. Kent B., Garvey C. J., Cookson D., Bryant G. The inverse hexagonal – inverse ribbon – lamellar gel phase transition sequence in low hydration DOPC:DOPE phospholipid mixtures. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2009;157(1):56–60. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2008.10.003.
77. Guida V. Thermodynamics and kinetics of vesicles formation processes. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2010;161(1–2):77–88. DOI: 10.1016/j.cis.2009.11.004.
78. Cohen J. A. Electrophoretic characterization of liposomes. *Methods in Enzymology*. 2003;367:148–176. DOI: 10.1016/S0076-6879(03)67011-4.
79. Heurtault B., Saulnier P., Pech B., Proust J.-E., Benoit J.-P. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials*. 2003;24(23):4283–4300. DOI: 10.1016/S0142-9612(03)00331-4.
80. Stadnichenko A.V., Krasnopol'skiy Yu.M., Yarnykh T.G. Optimization of zeta potential parameters when creating liposomes with irinotecan. *Farmaciya Kazahstana*. 2017;6:7–10. (In Russ.)
81. Stadnichenko A.V., Krasnopol'skiy Yu.M., Yarnykh T.G. Study of factors affecting the stability of liposomes with cytostatics during rehydration. *Recept*. 2017;20(2):146–152. (In Russ.)
82. Gulyakin I.D., Nikolaeva L.L., Dmitrieva M.V., Oborotova N.A., Orlova O.L., Polozkova A.P. Development of a lyophilized liposomal dosage form of an indolocarbazole derivative – LHS-1208. *Pharmaceutical business and drug technology*. 2020;(5):66–78. (In Russ.)
83. Vélez M. A., Perotti M. C., Hynes E. R., Gennaro A. M. Effect of lyophilization on food grade liposomes loaded with conjugated linoleic acid. *Journal of Food Engineering*. 2019;240:199–206. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2018.07.033.
84. Yadav A. V., Murthy M. S., Shete A. S., Sakhare S. Stability aspects of liposomes. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2011;45(4):402–413.
85. D'souza A. A., Shegokar R. Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2016;13(9):1257–1275. DOI: 10.1080/17425247.2016.1182485.