

УДК 615.4; 544.77.022; 544.77.023.5; 544.77.03

ХАРАКТЕРИСТИКА И ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

М. В. Дмитриева^{1*}, Т. А. Тимофеева², Н. А. Оборотова^{1,2}, И. И. Краснюк²,
О. И. Степанова²

Резюме. Основной целью фармацевтической технологии является максимальное использование «фармацевтических факторов» для обеспечения высокого качестваготавливаемых лекарственных средств, что совпадает со стратегической задачей биофармации, которая заключается в максимальном повышении эффективности лекарственных средств и снижении до минимума возможного нежелательного их действия на организм. Согласно биофармацевтическим исследованиям лекарственная форма существенно влияет на действие включенного в нее лекарственного вещества. В последние десятилетия значительная часть научных исследований в области фармации посвящена созданию лекарственных форм на основе направленных систем доставки диагностических и лекарственных веществ, среди которых наибольшую популярность завоевали липосомы. Липосомы рассматриваются как перспективные системы доставки препаратов в кровяное русло благодаря своим коллоидным свойствам, контролируемым размерам, поверхностным характеристикам, мембранотропности и биосовместимости. Однако коллоидные дисперсные системы являются термодинамически неустойчивыми, поэтому несомненную практическую значимость на стадии разработки и получения липосомальных препаратов представляет характеристика и оценка стабильности полученного продукта. С этой целью, как правило, используют 3 основных показателя – размер везикул, индекс полидисперсности и дзета-потенциал. Размер липосом является одним из основных показателей качества липосомального препарата, который в основном зависит от его компонентного состава и технологии получения. Дисперсность липосом в значительной степени влияет на скорость элиминации и характер распределения лекарственного вещества, концентрацию в биологических жидкостях и тканях, а также определяет механизм интернализации клеток. Поскольку в большинстве макромолекулярных и нанодисперсных систем молекулы и частицы неодинаковы, при описании свойств систем необходимо использовать функции распределения частиц по их параметрам, то есть при исследовании реальных систем учитывать их полидисперсность, так как монодисперсные приближения могут приводить к неверным заключениям о свойствах частиц. Ширину распределения частиц по размерам характеризуют по индексу полидисперсности. ζ -потенциал является важным индикатором поверхностного заряда частиц и мерой электростатического взаимодействия (отталкивания или притяжения) между частицами, а также одним из основных параметров, влияющих на стабильность дисперсных систем. Липосомы с высоким отрицательным или положительным ζ -потенциалом отталкиваются друг от друга и остаются монодисперсными и стабильными, а с низким ζ -потенциалом способны объединяться, агрегировать и образовывать нестабильные составы. Кроме того, этот параметр также позволяет предсказать взаимодействие липосом и клеток.

Ключевые слова: фармацевтические факторы, лекарственная форма, липосомы, липосомальная дисперсия, стабильность, дзета-потенциал, размеры липосом, индекс полидисперсности.

CHARACTERISTICS AND STABILITY ASSESSMENT OF LIPOSOMAL PREPARATIONS

M. V. Dmitrieva^{1*}, T. A. Timofeeva², N. A. Oborotova^{1,2}, I. I. Krasnyuk², O. I. Stepanova²

Abstract. The main objective of pharmaceutical technology is to maximize the use of «pharmaceutical factors» for ensuring the high quality of prepared medicines, which coincides with the strategic task of biopharmacy, which is to maximize the effectiveness of medicines and reducing to the maximum of their possible adverse effect on the body. According to biopharmaceutical studies, dosage form substantially affect the validity of the included medicinal substances. In recent decades, a significant part of scientific research in the field of pharmacy is devoted to the creation of dosage forms based on targeted delivery systems of diagnostic and medicinal substances, among which liposomes have gained the greatest popularity. Liposomes are considered as promising delivery systems of drugs in the bloodstream because of its colloid properties, controlled size, surface characteristics, membranotropic and biocompatibility. However, the colloidal disperse systems are thermodynamically unstable, so the undoubted practical relevance in the development stage and the obtaining of liposomes presents a characterization and evaluation of stability of the resulting product. For this purpose, as a rule, use 3 core indicators – size of vesicles, polydispersity index and zeta-potential. The size of liposomes is one of the main indicators of the quality of liposomal preparation, which mainly depends on its component composition and technology. Dispersion of liposomes significantly affects the rate of elimination and distribution of the drug, the concentration in biological fluids and tissues, as well as determines the mechanism of cell internalization. Since in most macromolecular and nanodisperse systems molecules and particles are not the same, when describing the properties of systems, it is necessary to use the particle distribution functions according to their parameters, i.e. in the study of real systems to take into account their polydispersity, since monodisperse approximations can lead to incorrect conclusions about the properties of particles. The width of the particle size distribution is characterized by the polydispersity index. Zeta-potential is an important indicator of the surface charge of particles and a measure of electrostatic interaction (repulsion or attraction) between particles, as well as one of the main parameters affecting the stability of dispersed systems. Liposomes with high negative or positive zeta-potential repel each other and remain monodisperse and stable, and with low zeta-potential – are able to unite, aggregate and form unstable compounds. In addition, this parameter also allows you to predict the interaction of liposomes and cells.

Keywords: pharmaceutical factors, dosage form, liposomes, liposomal dispersion, stability, zeta-potential, size of the liposomes, polydispersity index.

1 – ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Россия, 115478, г. Москва, Каширское ш., д. 24

2 – ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8

1 – N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, 24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, Russia

2 – Sechenov First State Medical University, 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: dmitrieva.m@onc.ru
Тел.: 8 (499) 612 81 86

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственная терапия – один из основных методов лечения злокачественных опухолей, который динамично развивается на протяжении последних десятилетий, укрепляя и расширяя свои позиции в современной онкологии. В понятие лекарственное лечение входят все виды воздействия фармакологических средств на опухоль: химиотерапия, гормонотерапия и био- или иммунотерапия. Таким образом, лекарственная терапия – это использование с лечебной целью средств, либо тормозящих пролиферацию опухолевых клеток, либо необратимо их повреждающих, то есть обладающих прямым цитостатическим действием [25].

Специалист, который занимается изготовлением лекарственных средств, должен быть профессионально подготовлен и уметь учитывать влияние всех объективных и субъективных факторов на эффективность лекарственной терапии. Поэтому основной целью фармацевтической технологии является максимальное использование «фармацевтических факторов» для обеспечения высокого качества приготовляемых лекарств, что совпадает со стратегической задачей биофармации, которая заключается в максимальном повышении эффективности лекарств и снижении до минимума возможного нежелательного их действия на организм. К «фармацевтическим факторам» относятся:

- биологические факторы (физиологический статус пациента);
- физико-химические свойства лекарственных веществ (ЛВ) (физическое состояние и химическая модификация лекарственной субстанции, полиморфизм, степень дисперсности, агрегатное состояние, растворимость и др.);
- вид лекарственной формы (ЛФ) и путь её введения;
- вспомогательные вещества, входящие в состав ЛФ;
- технологические операции (многофакторность воздействия на активные и вспомогательные вещества в процессе приготовления ЛФ) [11, 31].

Биофармацевтическое развитие понятия ЛФ в настоящее время дает в руки исследователей разнообразные и надежные инструменты для создания инновационных лекарственных препаратов с высокими биофармацевтическими характеристиками эффективности и безопасности. Появление новых продуктов неразрывно связано с развитием технологии. В частности, новый виток эволюции технологии ЛФ обусловлен разработкой систем доставки лекарств. В первую очередь это актуально для гидрофобных лекарственных препаратов (ЛП), демонстрирующих низкие показатели биодоступности [11]. Для этого

ЛВ включают в наноструктурированные системы доставки (мицеллы, липосомы и др.) [14, 29, 37, 40, 41], получают твердые дисперсии [18], соединения-включения [34, 52] и другие носители, то есть используют технологические приемы, позволяющие дезинтегрировать до молекул, тем самым повысив растворимость и абсорбцию [11].

В последние десятилетия большую популярность в качестве систем доставки ЛВ завоевали липосомы благодаря успешному применению в клинической практике липосомальных ЛП. Успех применения липосом обусловлен тем, что они обладают рядом полезных свойств, таких как биосовместимость и биodeградируемость, малая активность в отношении антигенных, пирогенных, аллергических и токсических реакций. Кроме того, липосомы эффективно связывают и высвобождают ЛВ внутри клеток, обеспечивают его интактность до взаимодействия с клетками-мишенями, пролонгируя действие и защищая внутреннее содержимое от инактивирующих воздействий физиологических жидкостей [27, 33].

ЛИПОСОМЫ КАК КОЛЛОИДНАЯ ДИСПЕРСНАЯ СИСТЕМА

Липосомы рассматриваются как перспективные системы доставки препаратов в кровяное русло благодаря своим коллоидным свойствам, контролируемым размерам, поверхностным характеристикам, мембранотропности и биосовместимости [33].

Липосомы были открыты в середине 1960-х годов английским ученым Алемом Бэнгхемом. Выясняя роль фосфолипидов (ФЛ) в свертывании крови, он изучал структуру коллоидных дисперсий, образующихся при набухании ФЛ в избытке воды. На электронных микрофотографиях Бэнгхем увидел слоистые частицы, удивительно похожие на мембранные структуры клетки. Следующее исследование показало, что неорганические ионы, присутствующие в растворе в момент набухания ФЛ, включаются внутрь этих частиц и удерживаются там длительное время, обмениваясь с ионами наружного раствора с очень малой скоростью. Так, впервые было установлено, что ФЛ, являющиеся основными компонентами клеточных мембран, способны самопроизвольно образовывать в воде замкнутые мембранные оболочки. Эти оболочки захватывают в себя часть окружающего водного раствора, а образующая их фосфолипидная мембрана обладает свойствами полупроницаемого барьера, легко пропускающего воду, но препятствующего диффузии растворенных в ней веществ [3].

В общем плане липосомальные системы представляют собой искусственные наноразмерные коллоидные сферы, которые состоят из липидного бислоя (фосфолипиды, фосфолипид и холестерин), окружающего активный фармацевтический компонент (гид-

рофильные, гидрофобные, жирорастворимые, амфифильные ЛВ) [2]. Однако нередко в научной литературе встречаются выражения «суспензия липосом», «липосомальная эмульсия», что применительно к сложной структуре липосом не совсем верно. Так, согласно ГФ XIII, суспензия представляет собой гетерогенную дисперсионную систему, содержащую одно или несколько твердых действующих веществ, распределенных в жидкой дисперсионной среде, а эмульсия – гетерогенную двухфазную дисперсную систему с жидкой дисперсной фазой и жидкой дисперсионной средой [10]. Помимо структуры, липосомальную дисперсию от обычных, крупнодисперсных жировых эмульсий отличают меньшие размеры частиц, меньшая вязкость, огромная суммарная площадь контакта со средой, большая устойчивость (не требуется введение стабилизатора – эмульгатора) и др., от наноэмульсий – состав, а от грубых, быстро оседающих суспензий с низкой кинетической устойчивостью – условие высокодисперсности [17, 26]. Отличительные особенности структуры эмульсионной, суспензионной и липосомальной дисперсии представлены на рисунке 1.

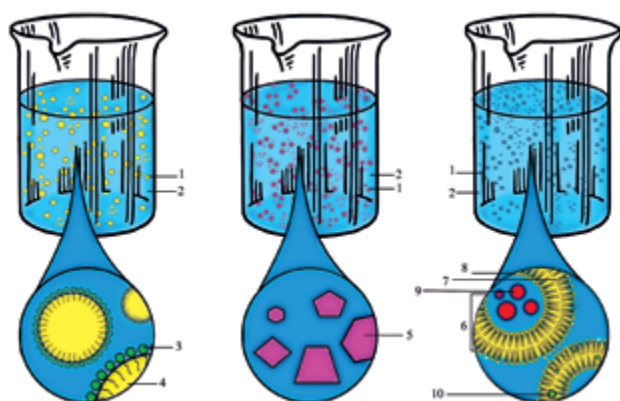


Рисунок 1. Структура дисперсных систем – эмульсии (тип «масло в воде»), суспензии и липосом. Обозначения: 1 – дисперсная фаза, 2 – дисперсионная среда, 3 – молекулы эмульгатора, 4 – капля масла, 5 – частица твердого вещества, 6 – липидный бислой, 7 – неполярный «хвост» ФЛ, 8 – полярная «головка» ФЛ, 9 – гидрофильное ЛВ, 10 – гидрофобное или жирорастворимое ЛВ

Свойства нанодисперсных систем существенно зависят от электрического заряда, дипольного момента и поляризуемости наночастиц, их размера и формы [1]. Ввиду наличия частиц со свободной поверхностной энергией коллоидные дисперсные системы, к которым относятся и липосомы, являются термодинамически неустойчивыми, потому что стремление этой энергии к уменьшению приводит к агрегации частиц [26]. Поэтому несомненную практическую значимость на стадии разработки и получения липосомальной ЛФ представляет характеристика и оценка устойчивости (стабильности) полученного продукта, причем изучению последней уделено особое внимание.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ПОКАЗАТЕЛИ СТАБИЛЬНОСТИ ЛИПОСОМ

Для характеристики и оценки стабильности липосомального препарата, как правило, используют 3 основных показателя – размер везикул, индекс полидисперсности и дзета(ζ)-потенциал [38, 39, 43–45].

Размеры везикул

Измерение размеров малых молекул в настоящее время представляет большой интерес во многих приложениях. Это, например, относится к белкам, используемым в фармацевтической промышленности в качестве активных составляющих ЛФ, и размер молекул в этом случае может использоваться как критерий контроля качества [36]. Также размер применяется как показатель качества при получении наночастиц, который определяет стабильность производимой продукции [36, 49]. Это обусловлено тем, что изменение дисперсности влияет на природу систем. Так, с увеличением дисперсности частичек изменяется природа системы, постепенно теряется представление об агрегатном состоянии дисперсной фазы и возникает истинный раствор [32].

Говоря о размерах наночастиц, в частности липосом, нельзя не отметить их естественное стремление к формированию более крупных структур (конъюгаты, агрегаты и т.п.). К этому многих из них принуждают силы поверхностной активности, не уравновешенные внутренним состоянием атомарно-молекулярного взаимодействия [2].

В зависимости от размера везикул и числа образующих липидных слоев (ламелл) выделяют следующие классы липосом.

- ✓ Мультиламеллярные везикулы, которые состоят из нескольких десятков, а то и сотен липидных бислоев, разделенных водными промежутками, и имеют довольно крупные размеры – от 500 нм до 50 мкм. Данный вид липосом может применяться для транспортировки в опухоль двух и более компонентов, а также для транспортировки макромолекул, таких как белки, пептиды и нуклеиновые кислоты.
- ✓ Олиголамеллярные везикулы, которые в отличие от мультиламеллярных состоят из 2–4 бислоев с диаметром от 100 до 1000 нм.
- ✓ Моноламеллярные везикулы, которые образованы одним липидным бислоем и подразделяются на малые (20–100 нм) и большие (100–1000 нм). Моноламеллярные везикулы обычно используют для доставки одного ЛВ [3, 21, 24, 35, 48].

Размер частиц зависит от двух основных групп факторов:

1. Компонентного состава – концентрации и свойств активного и вспомогательных веществ [22, 49].

Например, с увеличением концентрации ЛВ наблюдается образование более крупных везикул. Исследования по получению липосом дексаметазона различного липидного состава, проводимые Н. Л. Лепарской и др. [20], показали, что увеличение исходной концентрации изучаемого глюкокортикоида приводит к сильному укрупнению агрегатов и образованию микрочастиц размером 2317 ± 45 нм по сравнению с исходными 202 ± 5 нм. Также на размер липидных частиц влияет концентрация и соотношение твердых и жидких липидов. Замечено, что увеличение общей концентрации липидов, а также доли твердых липидов в композиции относительно жидких способствует пропорциональному росту частиц в размере [49].

2. Технология получения [39].

В настоящее время предложено много разнообразных способов приготовления липосом, которые дают возможность получать везикулы разного размера, состава, структуры и внутреннего объема [47]. В исследовании [19] было показано, что липосомы, полученные разными методами, гетерогенны по величине везикулы. Наиболее крупные липосомы получены с помощью метода ручного встряхивания (250–1900 нм). Липосомы, полученные методами этанольной инъекции и выпаривания в обращенной фазе, в среднем были приблизительно в 2 раза мельче – 100–800 и 150–950 нм соответственно. Обработанные ультразвуком липосомы оказались более однородными по размеру и очень мелкими (средний диаметр 12 нм). Также в ряде исследований была продемонстрирована зависимость размера липосом на этапе лиофилизации от таких технологических факторов, как тип криопротектора, его концентрация и этап введения в липосомальную дисперсию, а также режим сублимации [15, 28, 42, 53].

Дисперсность или размер частиц в значительной степени влияет на скорость элиминации и характер распределения ЛВ, концентрацию в биологических жидкостях и тканях. Так, установлено, что частицы диаметром более 200 нм могут активировать систему комплемента в организме человека и удаляться из кровотока купферовскими клетками. Кроме того, во время фильтрации в селезенке захватываются частицы, размер которых превышает 200–250 нм, а во время печеночной фильтрации задерживаются частицы диаметром более 150 нм. Таким образом, липосомы меньшего диаметра имеют преимущества перед липосомами больших размеров, поскольку они могут избегать фагоцитоза клетками ретикулоэндотелиальной системы и способны легко проникать в межклеточное пространство. Однако частицы размером менее 100 нм име-

ют высокую тенденцию к образованию кластеров и агрегатов, которые также могут приводить к эмболизации и далее вызывать инсульты, инфаркты миокарда и других органов. В литературе подробно обсуждаются механизмы селективного накопления наноструктурированных ЛВ в патологических очагах (опухолях, воспаленных тканях), при этом уровень и селективность накопления липосом в опухоли зависит от диаметра везикулы и его соотношения с размерами дефектов сосудов. В зависимости от типа опухоли эти дефекты имеют размеры от сотен нанометров до нескольких микрон. В связи с вышеизложенным в настоящее время исследования в области нанофармации сосредоточены на частицах размером менее 200 нм [4, 12].

Размер частиц является решающим фактором и в трансдермальной доставке лекарств, поскольку им необходимо преодолеть роговой слой [49]. Для прохождения через эпидермис любой частице или веществу необходимо преодолеть узкие межклеточные промежутки. Показано, что крупные молекулы (белки, полисахариды) не в состоянии этого сделать. Кроме того, липиды, заполняющие эти промежутки, представляют собой гидрофобную среду, не пропускающую водорастворимые соединения. Насыщенные жиры впитываются плохо, так как, смешиваясь с эпидермальными липидами, они делают их более жесткими и менее проницаемыми. Поэтому препараты на их основе оказывают на кожный покров только поверхностное воздействие. Вместе с тем через липидный барьер легко просачиваются небольшие жирорастворимые молекулы – компоненты масел и жиров, разжижая липидные пласты и повышая их проницаемость [23]. Таким образом, липосомальные системы являются оптимальными носителями для транспортировки как лекарственных, так и биологически активных веществ внутрь кожного покрова.

Размер частиц является важным параметром, который определяет механизм интернализации клеток. Показано, что частицы диаметром менее 200 нм вводятся в клетки с помощью клатрин-опосредованного эндоцитоза, а частицы размером 200–500 нм поступают через кавеоло-опосредованный эндоцитоз [46].

Необходимость метрологической характеристики наночастиц вызвала потребность в соответствующем инструментарии, который обеспечивал бы должную точность и сопоставимость результатов измерений. Однако существует очень мало доступных (рутинных) методов измерения размеров малых молекул и частиц в растворах [36].

Размеры частиц дисперсных систем соизмеримы с длиной световых волн, поэтому, кроме общих для всех растворов явлений преломления и поглощения света в различных областях спектра, коллоидные растворы обладают также рядом своеобразных оптических свойств. Благодаря тесной связи оптических свойств

с внутренним строением и формой коллоидных частиц и точности оптических методов измерений они в настоящее время относятся к числу основных методов исследования коллоидных систем, в частности, при определении размеров дисперсных частиц и макромолекул [26]. Частички тонкодисперсной системы можно обнаружить в ультра- или электронном микроскопе [32].

Для измерения размеров липосом (а также ζ -потенциала) чаще всего используют методы общего динамического светорассеяния (Dynamic light scattering, DLS), которые заключаются в анализе движения частиц, вызванного тепловым шумом или электрофоретической силой. Диэлектрическая спектроскопия частиц с помощью общей микроскопической электроротации (electrorotation, ER) измеряет частотную зависимость индуцированного полем вращения отдельных частиц для анализа присущей им диэлектрической структуры. Электророторное рассеяние света (electrorotational light scattering, ERLS) измеряет ER в ансамбле частиц с помощью гомодинной DLS-установки. Вращение ER-индуцированных частиц из исходной декорреляции автокорреляционной функции интенсивности осуществляется с помощью простой модели оптических частиц. Хотя абсолютная скорость вращения и направление вращения еще не доступны, ERLS устраняет утомительные микроскопические измерения. Он предлагает компьютеризированные статистически значимые измерения свойств диэлектрических частиц, которые особенно подходят для небиологических применений, например для изучения коллоидных частиц [44]. Размер, получаемый при измерении методом DLS, – это гидродинамический диаметр сферы, которая имеет такой же средний коэффициент диффузии, как и исследуемая молекула. Метод DLS является быстрым, дешевым, хорошо воспроизводимым. Нижний размерный предел метода динамического светорассеяния определяется интенсивностью избыточного рассеяния. Избыточное рассеяние есть разница между рассеянием от исследуемой молекулы или частицы и дисперсанта, в котором она находится. Эта разница, в свою очередь, зависит от нескольких факторов, таких как показатели преломления молекулы и дисперсанта, концентрация образца, мощность и длина волны используемого лазера, чувствительность детектора и оптическая конфигурация анализатора. Помехи могут генерироваться присутствующими в образце примесями, такими как единичные частицы пыли микрометрового размера, что приводит к искажению показателя светорассеяния от малых частиц. Кроме того, значительные трудности возникают при интерпретации данных для гетерогенных образцов (с большим разбросом частиц по размерам) [9, 36].

Применительно к наночастицам рассматриваемый метод существенно усовершенствован за счет использования трансмиссионных решеток. Данная модификация широко применяется для установления

распределения по размерам в диапазоне 10–100 нм различных типов наночастиц. При помощи метода DLS возможно измерение частиц субнанометровых размеров при условии тщательной подготовки образцов и использования соответствующей оптической конфигурации анализатора. Использование детектирования обратнорассеянного света в сочетании с волоконной оптикой обеспечивает исключительную чувствительность анализатора и достаточно высокое отношение сигнал/шум, что позволяет достоверно измерять образцы с такими исключительно малыми размерами частиц [9, 36].

Прямым методом определения размеров и формы наночастиц является метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Размеры липосом, полученные с помощью электронной микроскопии, коррелируют с размерами липосом, полученными с помощью метода DLS. Размеры липосом, определенные методом DLS, несколько больше (5–7%) размеров липосом, определенных методом ПЭМ. Такое расхождение является типичным и объясняется тем, что при использовании DLS измеряется гидродинамический радиус частицы, который всегда больше реального. Однако следует учитывать сложную, длительную, дорогую и трудновоспроизводимую пробоподготовку образцов [6].

Индекс полидисперсности

Ширину распределения частиц по размерам характеризуют по индексу полидисперсности (polydispersity index, PDI). В большинстве макромолекулярных и нанодисперсных систем молекулы и частицы неодинаковы, и при описании свойств систем необходимо использовать функции распределения частиц по их параметрам, то есть при исследовании реальных систем учитывать их полидисперсность, так как монодисперсные приближения могут приводить к неверным заключениям о свойствах частиц [1]. Значения PDI ранжируются от 0 до 1. Чем ближе значение PDI к 0, тем частицы более гомогенны. Так же как и размер частиц, значение PDI зависит от состава продукта, например увеличение количества ЛВ и твердых липидов в композиции приводит к увеличению уровня PDI [49]. Кроме того, значение PDI является очень чувствительным к присутствию агрегатов или загрязнений (пыли, инородных объектов). Ожидаемые значения PDI для монодисперсных образцов не должны превышать 0,05 [36].

Дзета-потенциал

ζ -потенциал является важным индикатором поверхностного заряда частиц и мерой электростатического взаимодействия (отталкивания или притяжения) между частицами, а также одним из основных параметров, влияющих на стабильность дисперсных систем. Согласно физической теории устойчивости

коллоидных систем ДЛФО (теория Дерягина, Ландау, Фервея, Овербека) стабильность коллоидных систем определяется двойным электрическим слоем и образованием вандерваальсовых сил, которые обуславливают приближение частиц друг к другу. Энергетический барьер, представленный силами отталкивания, должен быть достаточно большим, чтобы предотвратить контакт частиц друг с другом, их адгезию и образование агрегатов. Если этот энергетический барьер будет преодолен за счет сил Ван-дер-Ваальса, частицы будут взаимодействовать друг с другом, слипаться, что является нежелательным для липосомальных систем доставки различных ЛВ [7, 13]. Однако следует отметить, что теория ДЛФО применима в отношении взаимодействия фосфолипидных бислоев в случаях, когда толщина водной прослойки превышает 3 нм. На меньших расстояниях наблюдается сильное отклонение от предсказаний теории ДЛФО, что обусловлено существованием специфических сил между поверхностями в водном электролите на малых расстояниях (структурные силы), отличающихся от электростатических и вандерваальсовых сил [8].

Скорость внедрения новых рецептур является ключом к успеху. При приготовлении липосомальных форм важной задачей является получение стабильной монодисперсной системы, которая сохраняет монодисперсность и размер частиц. В зависимости от знака заряда различают традиционные (отрицательно заряженные) и катионные (положительно заряженные) липосомы, что обусловлено различием липидного состава или включением в рецептуру иных вспомогательных компонентов. Классические, или традиционные, липосомы, полученные на основе природных и синтетических ФЛ (фосфотидилхолин, кардиолипин, фосфотидилэтаноламин и др.), имеют нейтральный или отрицательный заряд. Для получения катионных липосом, применяемых, как правило, с целью доставки генетического материала, используют положительно заряженные липиды и катионные полимеры (сфингазины, ганглиозиды, октадесеноамиды, полиамины, полипептиды и др.). Классические же липосомы не могут непосредственно взаимодействовать с отрицательно заряженной молекулой ДНК. Однако они образуют мембранные пузырьки (везикулы) с большим внутренним объемом, способным заключать значительное количество генетического материала, и обладают некоторой трансфекционной активностью [7, 16, 43, 50].

Измерение ζ -потенциала липосомальной дисперсии представляет интерес по двум причинам. Во-первых, величина ζ -потенциала липосом определяет их стабильность [7]. Измерение ζ -потенциала позволяет глубже понять и лучше контролировать механизмы диспергирования, агрегации или флокуляции и может применяться для улучшения свойств различных дис-

персий, в том числе липосомальных, коллоидных растворов, эмульсий и суспензий на этапах разработки и производства [13, 51]. Липосомы с высоким отрицательным или положительным ζ -потенциалом отталкиваются друг от друга и остаются монодисперсными и стабильными. Липосомы с низким ζ -потенциалом способны объединяться, агрегировать и образовывать нестабильные составы [7].

Во-вторых, этот параметр также позволяет предсказать взаимодействие липосом и клеток [7]. Известно, что поверхность клеточной мембраны благодаря присутствию кислых ФЛ отрицательно заряжена, поэтому липосомы, несущие положительный заряд, лучше включаются в клетки, в то время как использование для трансфекции ЛВ посредством липосом из нейтральных и отрицательно заряженных ФЛ не увенчалось значительным успехом, прежде всего вследствие их слабого взаимодействия с поверхностью клеток, что является необходимым условием для транспорта содержимого липосом в цитоплазме [5, 30].

Кроме того, измерение ζ -потенциала – это одна из возможностей сокращения периода проверки стабильности за счет уменьшения количества разработок и, таким образом, сокращения длительности и затрат на тестирование и увеличения срока хранения.

Существенным образом на значение ζ -потенциала при характеристике липосомальной системы влияет пробоподготовка. Дело в том, что на изоэлектрическое состояние коллоидной системы влияет концентрация образующих ее веществ. При разбавлении коллоидного раствора до определенного предела происходит увеличение ζ -потенциала, так как толщина двойного электрического слоя возрастает в результате уменьшения концентрации противоионов в диффузионном слое. При сильном разбавлении такого раствора происходит десорбция потенциалопределяющих ионов, что приводит к уменьшению ζ -потенциалов. Может случиться, что электрокинетический потенциал будет равен нулю и система примет изоэлектрическое состояние. При повышении концентрации наблюдается сжатие двойного электрического слоя липосомы [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биофармацевтическое развитие понятия ЛФ в настоящее время дает в руки исследователей разнообразные и надежные инструменты для создания инновационных лекарственных препаратов с высокими биофармацевтическими характеристиками эффективности и безопасности. В последние десятилетия большую популярность в качестве систем доставки ЛВ завоевали липосомы благодаря успешному применению в клинической практике липосомальных ЛП. В общем плане липосомальные системы представля-

ют собой искусственные наноразмерные коллоидные сферы, свойства которых существенно зависят от ряда физико-химических факторов. Ввиду наличия частиц со свободной поверхностной энергией коллоидные дисперсные системы являются термодинамически неустойчивыми. Поэтому несомненную практическую значимость на стадии разработки и получения липосомальной ЛФ представляет характеристика и оценка устойчивости полученного продукта по 3 основным показателям – размеру везикул, индексу полидисперсности и ζ -потенциалу.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДЛФО	теория Дерягина, Ландау, Фервея, Овербека.
ЛВ	лекарственное вещество.
ЛП	лекарственный препарат.
ЛФ	лекарственная форма.
ПЭМ	просвечивающая электронная микроскопия.
ФЛ	фосфолипид.
DLS	dynamic light scattering.
ER	electrorotation.
ERLS	electrorotational light scattering.
PDI	polydispersity index.

ЛИТЕРАТУРА

- Бабаджаниянц Л. К., Войтылов А. В., Войтылов В. В., Трусов А. А. Анализ полидисперсности макромолекулярных и нанодисперсных систем электрооптическими методами // Высокомолекулярные соединения. Серия С. 2010. Т. 52. № 5. С. 1–12. [Babadjanyanc L. K., Voitilov A. V., Voitilov V. V., Trusov A. A. Analiz polidispersnosti makromolekulyarnih i nanodispersnih sistem elektroopticheskimi metodami // Visokomolekulyarnie soedineniya. Seriya S. [Analysis of the polydispersity of macromolecular and nanodisperse systems by electro-optic methods // High-Molecular Compounds. Series C.] 2010. T. 52. № 5. P. 1–12.]
- Баллюзек Ф. В., Куркаев А. С., Сенте Л. Нанотехнологии для медицины. Санкт-Петербург, «Сезам-Принт», 2008. 104 с. [Ballyuzek F. V., Kurkaev A. S., Sente L. Nanotehnologii dlya medicini. [Nanotechnology for medicine.] St.-Peterburg, «Sezam-Print», 2008. 104 c.]
- Барсуков Л. И. Липосомы // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 10. С. 2–9. [Barsukov L. I. Liposomi // Sorosovskii obrazovatel'nyi jurnal. [Liposomes // Soros Educational Journal.] 1998. № 10. P. 2–9.]
- Барышников А. Ю. Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов // Вестник РАМН. 2012. № 3. С. 23–30. [Barishnikov A. Yu. Nanostrukturirovannye liposomalnye sistemi kak sredstvo dostavki protivopuholevykh preparatov. [Nanostructured liposomal systems as a means of antitumor drugs delivery.] // Vestnik RAMN. 2012. № 3. P. 23–30.]
- Геннис Р. Биомембраны: молекулярная структура и функции / Пер. с англ. – М.: Мир, 1997. 624 с. [Gennis R. Biomembrani: molekulyarnaya struktura i funkci [Biomembranes: molecular structure and functions.] / Per. s angl. – M.: Mir, 1997. 624 p.]
- Борщевский Г. И., Янчук И. Б., Ярних Т. Г. Изучение физико-химических свойств липосомальных препаратов // Украинский биофармацевтический журнал. 2015. № 6(41). С. 4–8. [Borshevskii G. I., Yanchuk I. B., Yarnih T. G. Izuchenie fiziko-himicheskikh svoystv liposomalnih preparatov // Ukrainskii biofarmaceuticheskii jurnal. [A study of the physico-chemical properties of liposomal preparations // Ukrainian Biopharmaceutical Journal.] 2015. № 6(41). P. 4–8.]
- Брусслер Я., Нифонтова Г. О., Баковски У., Штейнмечер Т. Липосомальная форма новых синтетических ингибиторов тромбина // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 3(4). С. 36–46. [Brussler Ya., Nifontova G. O., Bakovski U., Shteinmecer T. Liposomalnaya forma novykh sinteticheskikh ingibitorov trombina // Razrabotka i registraciya lekarstvennykh sredstv. [Liposomal form of new synthetic thrombin inhibitors // Drug Development & Registration.] 2013. № 3(4). P. 36–46.]
- Вода в дисперсных системах / Б. В. Дерягин, Н. В. Чураев, Ф. Д. Овчаренко. Москва, Химия, 1989. 288 с. [Voda v dispersnykh sistemakh. / B. V. Deryagin, N. V. Churaev, F. D. Ovcharenko. M., Himiya. 1989. 288 p.]
- Гмошинский И. В., Хотимченко С. А., Попов В. О. и др. Наноматериалы и нанотехнологии: методы анализа и контроля // Успехи химии. 2013. Т. 82. № 1. С. 48–76. [Gmoshinskii I. V., Hotimchenko S. A., Popov V. O. et al. Nanomaterialy i nanotehnologii: metodi analiza i kontrolya // Uspehi himii. [Nanomaterials and nanotechnologies: methods of analysis and control // Advances in Chemistry.] 2013. T. 82. № 1. P. 48–76.]
- Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 2 / МЗ РФ. Москва, 2015. 1004 с. [Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federacii. XIII izd. T. 2. / MZ RF. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII ed. T. 2 / Ministry of Health of the Russian Federation.] M. 2015. 1004 p.]
- Демина Н. Б. Биофармация – путь к созданию инновационных лекарственных средств // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 1(2). С. 8–13. [Demina N. B. Biofarmaciya – put k sozdaniyu innovatsionnykh lekarstvennykh sredstv // Razrabotka i registraciya lekarstvennykh sredstv. [Biopharmacy is the way to create innovative drugs // Drug Development & Registration.] 2013. № 1(2). P. 8–13.]
- Демина Н. Б., Скатков С. А. Стратегии развития и биофармацевтические аспекты систем доставки лекарств // Рос. Хим. Ж. (Ж. Рос. Хим. Об-ва им. Д.И. Менделеева). 2012. Т. LVI. № 3(4). С. 5–10. [Demina N. B., Skatkov S. A. Strategii razvitiya i biofarmaceuticheskie aspekty sistem dostavki lekarstv // Ros. Him. J. [Development Strategies and Biopharmaceutical Aspects of Drug Delivery Systems // Russian Chemical Journal.] (J. Ros. Him. Ob-va im. D.I. Mendeleeva). 2012. T. LVI. № 3(4). P. 5–10.]
- Дзета-потенциал. 2017. [Dzeta-potencial. 2017.] Available at: <http://www.malvern.com/ru/products/measurement-type/zeta-potential> (accessed 10.12.17).
- Дмитриева М. В., Оборотова Н. А., Орлова О. Л. и др. Липосомальная лекарственная форма борхлорина // Российский биотерапевтический журнал. 2014. Т. 13. № 1. С. 31–36. [Dmitrieva M. V., Oborotova N. A., Orlova O. L. et al. Liposomalnaya lekarstvennaya forma borhlorina // Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal. [Liposomal dosage form of borchlorin // Russian Biotherapeutic Journal.] 2014. T. 13. № 1. P. 31–36.]
- Дмитриева М. В., Полозкова А. П., Орлова О. Л. и др. Разработка технологии лиофилизации липосомального борх-

- лорина // Биофармацевтический журнал. 2017. Т. 9. № 1. С. 32–37. [Dmitrieva M. V., Polozkova A. P., Orlova O. L. et al. Razrabotka tehnologii liofilizatsii liposomalnogo borchlorina // Biofarmaceuticheskiy jurnal. [Development of the technology of lyophilization of liposomal borchlorin // Biopharmaceutical Journal.] 2017. T. 9. № 1. P. 32–37.]
16. Кисьякова М. А., Гаврилюк А. Ф., Воронкова О. С. и др. Липосомы: структура, свойства, способы введения в организм с терапевтическими целями // Вестник Днепропетровского университета. Биология, экология. 2010. № 1. С. 52–57. [Kisyakova M. A., Gavrilyuk A. F., Voronkova O. S. et al. Liposomi: struktura, svoistva, sposobi vvedeniya v organizm s terapevticheskimi tselyami // Vestnik Dnepropetrovskogo universiteta. Biologiya, ekologiya. [Liposomes: structure, properties, ways of introduction into an organism with therapeutic purposes // Bulletin of Dnepropetrovsk University. Biology, ecology.] 2010. № 1. P. 52–57.]
17. Королева М. Ю., Юртов Е. В. Наноэмульсии: свойства, методы получения и перспективные области применения // Успехи химии. 2012. Т. 81. № 1. С. 21–43. [Koroleva M. Yu., Yurtov E. V. Nanoemulsii: svoistva, metodi polucheniya i perspektivnie oblasti primeneniya // Uspehi himii. [Nanoemulsions: properties, methods of production and promising fields of application // Advances in Chemistry.] 2012. T. 81. № 1. P. 21–43.]
18. Краснюк И. И. (мл.), Овсянникова Л. В., Степанова О. И. и др. Применение твердых дисперсий с нестероидными противовоспалительными средствами в фармации // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 2(15). С. 40–44. [Krasnyuk I. I. (ml.), Ovsyannikova L. V., Stepanova O. I. et al. Primenenie tverdykh dispersii s nesteroidnymi protivovospalitel'nymi sredstvami v farmatsii // Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv. [The use of solid dispersions with non-steroidal anti-inflammatory agents in pharmacy // Drug Development & Registration.] 2016. № 2 (15). P. 40–44.]
19. Кузякова Л. В. Конструирование трансдермальных липосомальных препаратов с заданными свойствами // Вестник Московского Университета, сер. 2. Химия. 2005. Т. 46. № 1. С. 74–79. [Kuzyakova L. V. Konstruirovanie transdermalnykh liposomalnykh preparatov s zadannymi svoystvami // Vestnik Moskovskogo Universiteta, ser. 2. Khimiya. 2005. T. 46. № 1. P. 74–79.]
20. Лепарская Н. Л., Сорокоумова Г. М., Сычева Ю. В. и др. Липосомы, содержащие дексаметазон: получение, характеристика и использование в офтальмологии // Вестник МИТХТ. 2011. Т. 6. № 2. С. 37–42. [Leparskaya N. L., Sorokoumova G. M., Sicheva Yu. V. et al. Liposomi, sodержaschie deksametazon: poluchenie, harakteristika i ispolzovanie v oftalmologii [Liposomes containing dexamethasone: production, characterization and use in ophthalmology.] // Vestnik MITHT. 2011. T. 6. № 2. P. 37–42.]
21. Лиманская Л. А., Юдинцев А. В., Куценко О. К. и др. Мультифункциональные липосомальные наносистемы для доставки новых противоопухолевых лекарственных препаратов на основе хелатов европия // Наносистемы, Наноматериалы, Нанотехнологии. 2010. Т. 8. № 4. С. 764–774. [Limanskaya L. A., Yudinets A. V., Kucenko O. K. et al. Multifunktsionalnie liposomalnie nanosistemi dlya dostavki novykh protivopukhlevykh lekarstvennykh preparatov na osnove helatov evropiya // Nanosistemi, Nanomateriali, Nanotekhnologii. [Multifunctional liposomal nanosystems for delivery of new antitumor drugs based on europium chelates // Nanosystems, Nanomaterials, Nanotechnologies.] 2010. T. 8. № 4. P. 764–774.]
22. Малиновская Ю. А., Демина Н. Б. Разработка липосомальных форм симvastатина // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 5. С. 46–53. [Malinovskaya Yu. A., Demina N. B. Razrabotka liposomalnykh form simvastatina // Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv. [Liposomal forms of simvastatin development // Drug Development & Registration.] 2013. № 5. P. 46–53.]
23. Марголина А. А., Эрнандес Е. И., Зайкина О. Э. Новая косметология. Москва, 2000. 204 с. [Margolina A. A., Ernandes E. I., Zaikina O. E. Novaya kosmetologiya. [New Cosmetology.] M., 2000. 204 p.]
24. Михайлова Т. В., Барышникова М. А., Клименко О. В. и др. Разработка липосомальной формы противоопухолевой вакцины // Российский биотерапевтический журнал. 2011. № 4. С. 61–65. [Mikhailova T. V., Barishnikova M. A., Klimenko O. V. et al. Razrabotka liposomalnoi formi protivopukholevoi vaktsiny // Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal. [A liposomal form of an antitumor vaccine development // Russian Biotherapeutic Journal.] 2011. № 4. P. 61–65.]
25. Онкология для практикующих врачей: учеб. пособие / под ред. С. С. Чистякова. Москва, Авторская академия, Товарищество научных изданий КМК, 2009. 632 с. [Onkologiya dlya praktikuuyuschiy vrachei: ucheb. posobie / pod red. S. S. Chistyakova. [Oncology for practicing doctors: Textbook / ed. S. S. Chistyakov.] M., Avtorskaya akademiya, Tovarischestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2009. 632 p.]
26. Пасынский А. Г. Коллоидная химия / под ред. акад. В. А. Каргина. 3-е изд. Москва, изд. «Высшая школа», 1968, 232 с. [Pasinskii A. G. Kolloidnaya himiya / pod red. akad. V. A. Kargina. 3 izd. [Colloid chemistry / ed. by acad. V. A. Kargina. 3rd ed.] M., izd. «Visshaya shkola», 1968, 232 p.]
27. Райков А. О., Хашем А., Барышникова М. А. Липосомы для направленной доставки противоопухолевых препаратов // Российский биотерапевтический журнал. 2016. Т. 15. № 2. С. 90–96. [Raikov A. O., Hashem A., Barishnikova M. A. Liposomi dlya napravlennoi dostavki protivopukhlevykh preparatov // Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal. [Liposomes for the targeted delivery of antitumor drugs // Russian Biotherapeutic Journal.] 2016. T. 15. № 2. P. 90–96.]
28. Санарова Е. В., Игнатъева Е. В., Ползкова А. П., Оборотова Н. А. Оценка влияния криопротекторов на размер липосом Тиосенса // Материалы X Всероссийской научной конференции с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты» (22–23 марта 2011 г., Москва) // Российский биотерапевтический журнал. 2011. Т. 10. № 1. С. 54. [Sanarova E. V., Ignateva E. V., Polzkova A. P., Oborotova N. A. Ocenka vliyaniya krioprotektorov na razmer liposom Tiosensa // Materiali X Vserossiiskoi nauchnoi konferentsii s mejdunarodnim uchastiem «Otechestvennye protivopukhlevye preparaty» (22–23 marta 2011 g., Moskva) // Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal. [Evaluation of the effect of cryoprotectants on the size of Tiossens liposomes. Proceedings of the 10th All-Russian Scientific Conference with International Participation «Domestic Antitumor Preparations» (22–23 March 2011, Moscow) // Russian Biotherapeutic Journal.] 2011. T. 10. № 1. P. 54.]
29. Смирнова З. С., Санарова Е. В., Борисова Л. М. и др. Противоопухолевая активность фотодинамической терапии с липосомальной лекарственной формой тиосенса на перевиваемых опухолях мышей // Российский биотерапевтический журнал. 2011. Т. 10. № 4. С. 55–59. [Smirnova Z. S., Sanarova E. V., Borisova L. M. et al. Protivopukhlevaya aktivnost' fotodinamicheskoy terapii s liposomalnoy lekarstvennoy formoy tiosensa na perevivayemykh opukholyah myшей // Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal. 2011. T. 10. № 4. S. 55–59.]

- Borisova L. M. et al. Protivopuholovaya aktivnost fotodinamicheskoi terapii s liposomalnoi lekarstvennoi formoi tiোসensa na perevivaemih opuholyah mishei // Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal. [Antitumor activity of photodynamic therapy with liposomal drug form of thiosens on transplanted tumors of mice // Russian Biotherapeutic Journal.] 2011. T. 10. № 4. P. 55–59.]
30. Тараховский Ю. С., Иваницкий Г. Р. Липосомы в генной терапии. Структурный полиморфизм липидов и эффективность доставки генетической информации // Биохимия. 1998. Т. 63. Вып. 6. С. 723–736. [Tarahovskii Yu. S., Ivanickii G. R. Liposomi v gennoi terapii. Strukturnii polimorfizm lipidov i effektivnost dostavki geneticheskoi informacii // Biohimiya. [Liposomes in gene therapy. Structural polymorphism of lipids and the efficiency of delivery of genetic information // Biochemistry.] 1998. T. 63. V. 6. P. 723–736.]
 31. Фармацевтические и медико-биологические аспекты лекарств. Т. 1 / Под ред. И. М. Перцева, И. А. Зупанца. Харьков, издательство УкрФА, 1999. 461 с. [Farmaceuticheskie i mediko-biologicheskie aspekti lekarstv. T. 1 / Pod red. I. M. Perceva, I. A. Zupanca. [Pharmaceutical and biomedical aspects of medicines. V. 1 / Ed. by I. M. Pertseva, I. A. Zupanets.] Harkov, izdatelstvo UkrFA, 1999. 461 p.]
 32. Физическая и коллоидная химия / А. И. Кононский. Киев, Высшая школа, 1986. 312 с. [Fizicheskaya i kolloidnaya himiya [Physical and colloid chemistry.] / A. I. Kononskii. Kiev, Visshaya shkola, 1986. 312 p.]
 33. Шанская А. И., Пучкова С. М., Яковлева Т. Е. Липосомы – перспективная форма лекарственных препаратов // Медицина экстремальных ситуаций. 2011. № (37). С. 100–104. [Shanskaya A. I., Puchkova S. M., Yakovleva T. E. Liposomi – perspektivnaya forma lekarstvennih preparatov // Medicina ekstremalnih situacii. [Liposomes is a promising form of drugs // Medicine of extreme situations.] 2011. № 3(37). P. 100–104.]
 34. Brewster M. E. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers // Advanced Drug Delivery reviews. 2007. V. 59. P. 645–666.
 35. Falcao C. B. Multifunctional liposomes for enhanced anticancer therapy // Pharmaceutical Science Dissertations. 2011. P. 1–98.
 36. Kaszuba M., McKnight D., Connah M. T. et al. Measuring sub nanometre sizes dynamic light scattering // J Nanopart Res. 2008. V. 10. P. 823–829.
 37. Lee K. S., Chung H. C., Im S. A. et al. Multicenter phase II trial of Genexol-PM, a Cremophor-free, polymeric micelle formulation of paclitaxel, in patients with metastatic breast cancer // Breast Cancer Res Treat. 2008. V. 108(2). P. 241–250.
 38. Mahmud M., Piwoni A., Filiczak N. et al. Long-circulating curcumin-loaded liposome formulations with high incorporation efficiency, stability and anticancer activity towards pancreatic adenocarcinoma cell lines *in vitro* // PLoS ONE. 2016. V. 11(12): e0167787.
 39. Matuszak J., Baumgartner J., Zaloga J. et al. Nanoparticles for intravascular applications: physicochemical characterization and cytotoxicity testing // Nanomedicine. 2016. V. 11(6). P. 597–616.
 40. Oborotova N., Treshalina E., Bashakova Z. et al. Possible application of the new lipidocytostatic D-152 in different drug formulation // Pharmaceutski vestnik, Ljubljana. 1997. V. 48. P. 278–279.
 41. Oerlemans C., Bult W., Bos M. et al. Polymeric micelles in anticancer therapy: targeting, imaging and triggered release // Pharm Res. 2010. V. 27. P. 2569–2589.
 42. Ohtake Satoshi, Schebor C., de Pablo J.J. Effects of trehalose on the phase behavior of DPPC–cholesterol unilamellar vesicles // Biochimica et Biophysica Acta. 2006. V. 1758. P. 65–73.
 43. Oskuee R. K., Mahmoudi A., Gholami L. et al. Cationic liposomes modified with polyallylamine as a gene carrier: preparation, characterization and transfection efficiency evaluation // Adv Pharm Bull. 2016. V. 6(4). P. 515–520.
 44. Prüger B., Eppmann P., Donath E., Gimsa J. Measurement of Inherent Particle Properties by Dynamic Light Scattering: Introducing Electrorotational Light Scattering // Biophysical Journal. 1997. V. 72(3). P. 1414–1424.
 45. Reiner Zeisig, Kazuhiko Shimada, Sa-dao Hirota, Dieter Arndt. Effect of steric stabilization on macrophage uptake *in vitro* and on thickness of the fixed aqueous layer of liposomes made from alkylphosphocholines // Biochimica et Biophysica Acta. 1996. V. 1285. P. 237–245.
 46. Rejman J., Oberle V., Zuhorn I.S., Hoekstra D. Size-dependent internalization of particles via the pathways of clathrin and caveolae-mediated endocytosis // Biochem J. 2004. V. 377(Pt. 1). P. 159–69.
 47. Riaz M. Liposomes preparation methods // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 1996. V. 19(1). P. 65–77.
 48. Serda R. E., Godin B., Blanco E. et al. Multistage delivery nano-particle systems for therapeutic applications // Biochim Biophys Acta. 2011. V. 1810(3). P. 317–329.
 49. Suhaimi S. H., Hasham R., Rosli N. A. Effects of formulation parameters on particle size and polydispersity index of orthosiphon stamineus loaded nanostructured lipid carrier // Journal of advanced research in applied sciences and engineering technology. 2015. V. 1(1). P. 36–39.
 50. Takeuchi Ken-ichiro, Ishihara Minoru, Kawaura Chiyo et al. Effect of zeta potential of cationic liposomes containing cationic cholesterol derivatives on gene transfection // FEBS Letters. 1996. V. 397. P. 207–209.
 51. Tohler V., Smay J. E., Braem A. et al. Nanoparticle halos: A new colloid stabilization mechanism // PNAS. 2001. V. 98(16). P. 8950–54.
 52. Vyas A., Saraf S., Saraf S. Cyclodextrin based novel drug delivery systems // J Incl Phenom Macrocycl Chem. 2008. V. 62. P. 23–42.
 53. Shuibing Y., Chengmei L., Wei L. et al. Preparation and characterization of nanoliposomes entrapping medium-chain fatty acids and vitamin C by lyophilization // Int. J. Mol. Sci. 2013. V. 14. P. 19763–73.