

МЕТОД ЭКСТРУЗИИ В ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМ

М. В. Дмитриева¹, Бу Лугэнь², Н. А. Оборотова¹, И. И. Краснюк², И. И. Краснюк (мл.)²,
А. В. Беляцкая², О. И. Степанова², Д. О. Боков², С. Р. Нарышкин², Е. В. Мазяркин²

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

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

Поступила в редакцию 27.02.2020 г.

Аннотация. Значительный интерес на фармацевтическом рынке представляют исследования по разработке и созданию липосомальных форм различных препаратов, которые находят применение в диагностике и терапии различных заболеваний в области онкологии, иммунологии, хирургии, офтальмологии, неврологии и др. Существенным образом на свойства липосом влияют методы их получения. От технологии приготовления зависит размер везикул, степень окисления липидов, входящих в состав оболочки, их внутренний объем, стабильность при хранении и другие показатели. В настоящее время известны различные способы получения липосом, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки, поэтому выбор метода, в основном зависит от задач, поставленных при разработке той или иной липосомальной лекарственной формы. Золотым стандартом в технологии производства липосомальных препаратов и одним из широко используемым методом получения однослойных липосом является экструзия. Суть метода заключается в пропускании липосомальной дисперсии через мембранный фильтр с определенным размером пор под давлением с использованием специального оборудования – экструдера или подходящей индивидуальной установки. В отличие от других способов измельчения липосом процесс экструзии включает также фильтрацию дисперсии от видимых и невидимых механических частиц, в том числе от «не включенного» в везикулы активного гидрофобного вещества, и стерилизацию препарата при соблюдении асептических условий. Эффективность экструзии определяется рядом факторов таких как природа материала и размер пор мембранного фильтра, состав липосом и концентрация липидов, скорость потока дисперсии и число циклов ее пропускания, величина давления. Экструзия обеспечивает получение однородных по размеру липосом, является относительно мягким и быстрым процессом и обладает воспроизводимостью. В данном обзоре приведены общие сведения о методе экструзии и его механизме; технологических факторах, которые могут влиять на сам процесс экструдирования и качество получаемого в результате липосомального продукта; применяемых оборудовании и мембранах.

Ключевые слова: липосомы, фармацевтическая технология, экструзия, размер везикул

Липосомы являются первыми наноразмерными системами доставки лекарственных веществ (ЛВ), которые были успешно применены в клинике. К настоящему времени для практического применения в различных областях медицины FDA разрешено 16 липосомальных препаратов и около 30 разработок находятся на различных фазах клинических испытаний. Основные преимущества липосом включают контроль свойств фармакокинетики и фармакодинамики, улучшенную биодоступность и ограниченную токсичность, что способствует преодолению ограничений традиционной терапии [1].

© Дмитриева М. В., Бу Лугэнь, Оборотова Н. А., Краснюк И. И., Краснюк И. И. (мл.), Беляцкая А. В., Степанова О. И., Боков Д. О., Нарышкин С. Р., Мазяркин Е. В., 2020

Одним из ключевых параметров, которые могут влиять на поведение липосом *in vivo*, является их размер. Дисперсность или размер частиц в значительной степени влияет на скорость элиминации и характер распределения ЛВ, концентрацию в биологических жидкостях и тканях. Установлено, что наночастицы диаметром более 200 нм могут активировать систему комплемента в организме человека и удаляться из кровотока купферовскими клетками. Однако липосомы размером менее 100 нм имеют высокую тенденцию к образованию кластеров и агрегатов, которые так же могут приводить к эмболизации и далее вызывать инсульт, инфаркты миокарда и других органов. В связи с вышеизложенным, в настоящее время исследова-

Дмитриева М. В., Бу Лугэнь, Оборотова Н. А., Краснюк И. И., Краснюк И. И. (мл.), Беляцкая А. В., Степанова О. И., Боков Д. О., Нарышкин С. Р., Мазяркин Е. В.

ния в области нанофармации сосредоточены на частицах размером 100–200 нм [2, 3].

Для получения липосом требуемого размера используются различные методы. На базовом уровне существует два основных способа образования липосом — это восходящие методы, при которых образуются малые везикулы из отдельных липидных мономеров, и альтернативные нисходящие методы получения больших везикул с последующим уменьшением их размера посредством обработки дисперсии ультразвуком, экструзии, замораживания-оттаивания, гомогенизации и др. [4–11]. Среди них метод экструзии имеет несколько преимуществ: обеспечивает получение однородных по размеру липосом, является относительно мягким процессом с возможностью регулирования температуры, обладает быстротой и воспроизводимостью. Кроме того, этот метод дает относительно гомогенную дисперсию везикул с контролируемым средним размером без добавления органических растворителей или детергентов [12, 13].

Общая характеристика метода экструзии

Экструзия — это технологический способ обработки липосом, при котором дисперсию везикул пропускают через мембранный фильтр с определенным размером пор [14]. Мембраны, используемые для экструзии, например поликарбонатные, имеют цилиндрические поры. Поры длинные и узкие; они могут быть изготовлены с большим диапазоном номинальных диаметров и имеют длину 6 мкм. На практике номинальный размер пор является верхней границей, а средний размер пор несколько меньше. Когда мультиламеллярные липосомы проталкиваются через эти поры, они распадаются на более мелкие пузырьки, как схематически показано на рис. 1. Как средний размер везикул, так и ширина распределения по размеру уменьшаются при последующих проходах через мембранные фильтры до окончательного распределения везикул по размеру, которое характерно для приложенного давления и используемой липидной композиции. Среднее окончательное распределение сопоставимо с размером пор [15].

Mui *et al.* [16] показали, что метод экструзии приводит к получению однослойных везикул с несферической морфологией, обычно овальной или вытянутой (цилиндрической) формы. Предполагается, что силы сдвига, вызванные приложенным давлением во время расширения (через поры), создают цилиндрические двухслойные фрагменты, когда мультиламеллярные везикулы (МЛВ) проходят через поры фильтра. Эмпириче-

ские результаты показывают, что площадь бислоя и внутренний объем цилиндрических фрагментов сохраняются при деформации, и что полученные однослойные липосомы являются несферическими (отмечено, что отношение площадь/объем для цилиндрических фигур больше, чем сферических). Эти наблюдения согласуются с данными, получаемыми при анализе размера методом динамического светорассеяния. Эффективный диаметр, определенный методом динамического рассеяния света, принимает форму сферической частицы и рассчитывает диаметр эквивалентной сферы для несферических частиц. Следовательно, несферическая везикула будет иметь больший эффективный диаметр, чем сферическая везикула, состоящая из того же количества липидов. В результате релаксации формы после экструзии пузырьки становятся все более сферическими, и средний эффективный диаметр одновременно уменьшается до стабилизации [17].

Экструзия — это хорошо зарекомендовавший себя метод, который играет важную роль в процессах производства полимеров, фармацевтических препаратов и пищевых продуктов [18]. Экструзия является золотым стандартом в технологии производства липосомальных препаратов [19]. По сути, этот метод универсален и сочетает в себе несколько технологических операций: во-первых, фильтрацию липосомальной дисперсии от видимых и невидимых механических частиц, которые представляют собой случайные подвижные нерастворимые частицы, в том числе фракцию «не включенного» в везикулы гидрофобного ЛВ, за исключением пузырьков газа; во-вторых, собственно диспергирование везикул для получения структур заданного размера и, в-третьих, стерилизацию дисперсии при соблюдении асептических условий [20, 21].

Недостатком метода является необходимость в частой смене фильтра из-за засорения пор в мембране, особенно при обработке концентрированных дисперсий и масштабном производстве липосомального препарата. Кроме того, общая площадь поверхности пор составляет всего лишь около 20% от общей площади поверхности мембраны, что ограничивает площадь поверхности, доступную для экструзии, и, таким образом, ограничивает общую производительность [12].

На эффективность экструзии влияют различные факторы: скорость потока и число циклов, размер пор и материал мембраны, липидный состав, давление [12, 15, 22]. В исследовании D.G.

Hunter and B. J. Frisken [22] проводили оценку размера и полидисперсности экструдированных липосом в зависимости от давления, липидного состава и температуры. В результате авторы обнаружили, что невозможно выдавливать пузырьки ниже минимального липидзависимого давления, которое соответствует напряжению лизиса, необходимому для разрыва двухслойной мембраны. При повышении давления экструзии увеличивается скорость потока везикул через поры и уменьшается их размер. При этом при высоких давлениях скорости экструзии дисперсий с различными липидными смесями с одинаковой величиной вязкости и концентрацией неразличимы. Кроме того, установлено, что полидисперсность везикул не зависит от давления экструзии и липидных свойств, и скорее всего, определяется типом используемой мембраны.

ОБОРУДОВАНИЕ И ТЕХНИКИ ЭКСТРУЗИИ

Для экструзии используют специальный аппарат – экструдер, оснащенный насосом, который проталкивает жидкости через мембраны. Наиболее известными производителями экструдеров являются американская компания Avanti Polar Lipids Inc., канадские компании Avestin Inc. и Northern Lipids, выпускающие экструдеры под торговыми марками Liposo-Fast™ и Lipex® соответственно.

В зависимости от использованного оборудования и характера процесса различают экструзию непрерывного и прерывного типа, ручную и под давлением.

Обычный способ получения небольших объемов везикул (1 мл) основан на использовании мелкомасштабной ручной экструзии с использованием мини-экструдеров (Avanti® mini extruder, Liposo-Fast™ Basic). МЛВ механически распадаются на везикулы меньшего размера путем многократного пропускания дисперсии через поликарбонатные мембраны с определенным размером пор. Таким образом, метод ручной экструзии генерирует меньшие везикулы из больших МЛВ. Как правило, липосомальная дисперсия МЛВ загружается в газонепроницаемый шприц и помещается в один конец мини-экструдера, тогда как пустой газонепроницаемый шприц помещается на другой конец мини-экструдера. В самом мини-экструдере находится поликарбонатная мембрана с определенным размером пор. Дисперсию МЛВ в шприце приводят в движение вручную до тех пор, пока весь объем не будет полностью перенесен

во второй шприц. Затем поршень второго шприца приводят в движение вручную, чтобы перенести дисперсию обратно в исходный шприц. Этот цикл повторяется в общей сложности 20 раз, чтобы получить более мелкие везикулы одинакового размера. Мини-экструзионная система закрыта для окружающей среды и может рассматриваться как процесс экструзии с непрерывной переработкой [23, 24]. Ручная экструзия с использованием газонепроницаемых шприцев является обычной практикой, но часто наблюдается неоднородность при использовании фильтров с диаметром пор менее 100 нм из-за изменчивости приложенного ручного давления [25].

Для получения липосомальных дисперсий в больших объемах и увеличения производительности процесса разработаны экструдеры Liposo-Fast™ LF-50 (Avestin Inc., Оттава, Канада), предназначенный для обработки образцов до 50 мл, и Lipex® (Northern Lipids, Ванкувер, Канада), выпускаемые объемом 10, 100 и 800 мл. Данные экструдеры представляют собой герметичную стальную цилиндрическую конструкцию различного объема, на дно которой помещается сменный мембранный фильтр соответствующего диаметра и требуемого размера пор. Экструзия липосомальной дисперсии производится путем ее про-

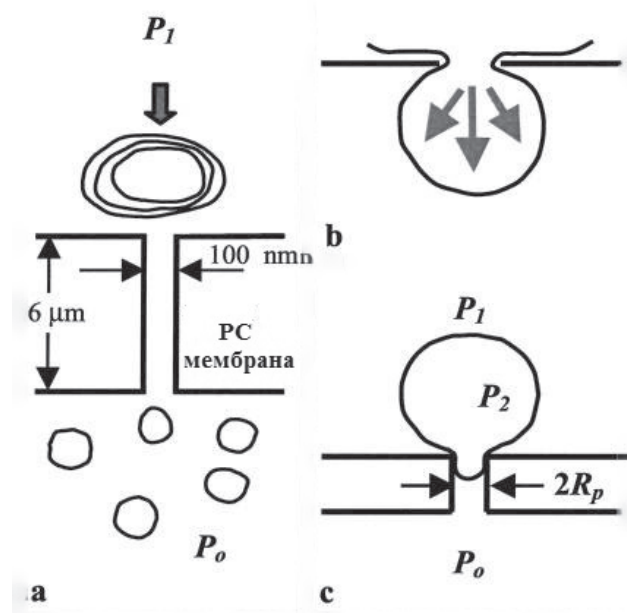


Рис. 1. Схематическое изображение процесса экструзии липосом (адаптировано по [15]). Обозначения: P_1 – давление, оказываемое на везикулу, P_2 – давление внутри пузырька, P_o – давление среды, R_p – радиус поры, PC мембрана – поликарбонатная мембрана.

Дмитриева М. В., Бу Лугэнь, Оборотова Н. А., Краснюк И. И., Краснюк И. И. (мл.), Беляцкая А. В., Степанова О. И., Боков Д. О., Нарышкин С. Р., Мазяркин Е. В.

давления через фильтр под действием контролируемого давления газа, подаваемого в систему по трубке, прикрепленной к крышке экструдера. Величина давления, необходимого для умеренной скорости экструдирования зависит от размера пор фильтра, липидного состава и концентрации, состава буфера и рабочей температуры. Поэтому рабочее давление экструзии должно быть определено для каждого образца индивидуально [26].

Кроме того, наряду с коммерческими экструдерами, для экструзии могут быть использованы различные конструкции. Например, в исследовании [12] экструзионный аппарат был изготовлен с использованием легкодоступного и относительно недорогого устройства, состоящего из насоса для ВЭЖХ и перезаправляемой колонки с мембранным фильтром различного диаметра пор. При этом, как замечают авторы, данная система позволяет получать однородные дисперсии с размером липосом менее 200 нм вне зависимости от скорости потока жидкости в течение трех циклов экструзии.

Shahid Rameez с соавт. [24] предложил масштабируемый метод экструзии липосом с использованием мембранных картриджей с полыми волокнами. Данный метод заключается в непрерывном перекачивании и рециркуляции липосомальной дисперсии через мембрану с помощью перистальтического насоса до получения везикул меньшего диаметра с равномерным распределением по размеру. Экспериментальная установка, используемая для экструзии в данном случае такая же как и для иной мембранной фильтрации (рис. 2). Производительность процесса можно повысить путем увеличения площади поверхности мембраны. Получаемая таким образом дисперсия однородна и имеет схожие биофизические свойства по сравнению с везикулами, получаемые в процессе ручной экструзии.

Нередко для измельчения липосом экструзию сочетают с другими методами — гомогенизацией [27], ультразвуковой обработкой [28]. Также одним из вариантов экструзии является ее комбинирование с диализом.

Метод экструзионного диализа для получения монодисперсных везикул представляет собой гибридный метод приготовления/очистки, в котором экструзию используют для приготовления везикул, которые меньше заданного размера, а затем диализ используют для удаления везикул, меньших, чем желательный порог размера (рис. 3). Этот подход можно использовать для получе-

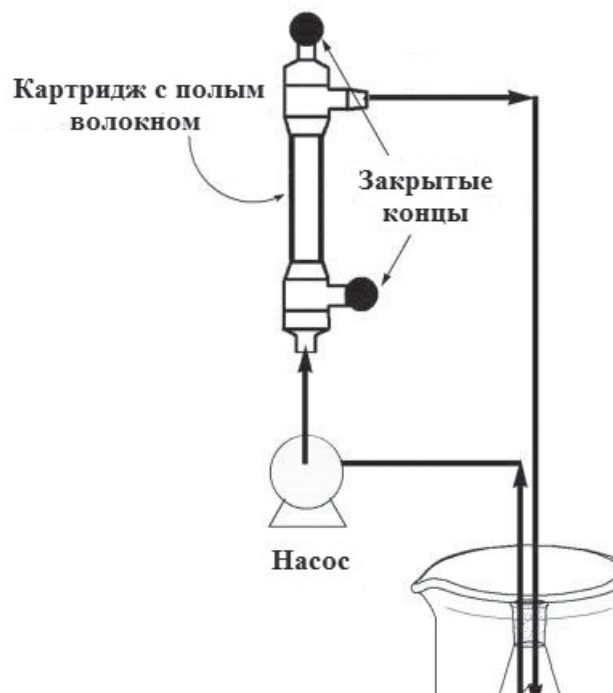


Рис. 2. Экспериментальная установка для экструзии липосом [24]

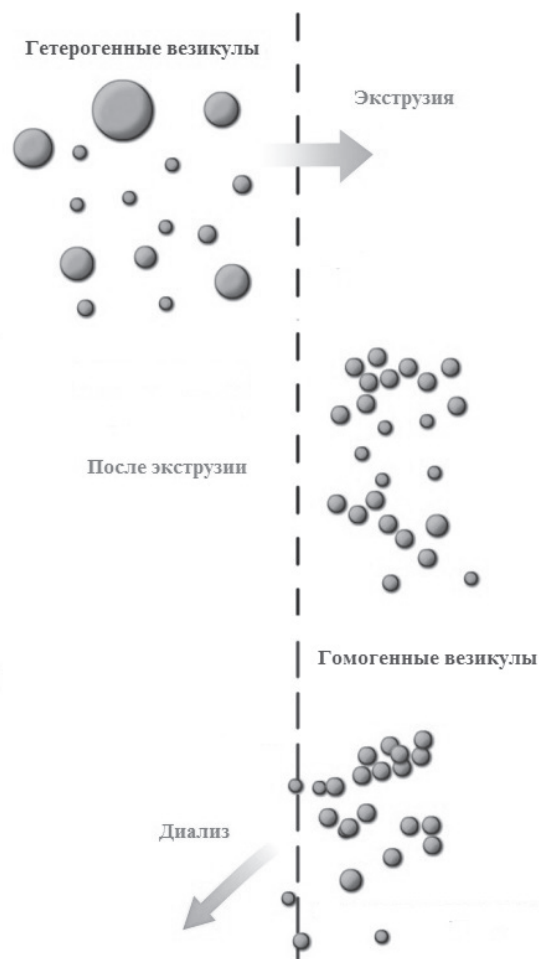


Рис. 3. Схематическое изображение метода экструзионного диализа (адаптировано по [29])

ния везикул с различными диапазонами размеров и составами липидов. Поскольку процедуры экстракции-диализа не зависят от того, как изначально готовятся везикулы, этот метод применим к липосомам, полученным различными способами. Кроме того, метод подходит для получения дисперсии больших однослойных везикул, что особенно актуально при приготовлении липосом для флуоресцентной диагностики, поскольку везикулы размером в несколько микрон идеально подходят для получения изображений, а предел оптического разрешения обычного микроскопа составляет от 0.25 до 0.5 мкм. Метод обладает высокой воспроизводимостью, поскольку процесс не чувствителен к изменению рабочих параметров. Практическое применение этого метода в настоящее время ограничено общей продолжительностью (приблизительно 24 ч) и низким выходом однородных дисперсий. С другой стороны, простота и универсальность метода должны сделать возможность внедрения экструзионного диализа в практическую деятельность [29].

МЕМБРАННЫЕ ФИЛЬТРЫ

Согласно определению ИЮПАК (1996 г.), мембрана – это структура, горизонтальные размеры которой больше толщины и через которую под воздействием разнообразных сил может осуществляться перенос массы [30].

Мембраны характеризуют по двум группам параметров — морфологическим и разделительным. Наиболее важными морфологическими параметрами для мембраны являются гравиметрическая пористость, размер пор, распределение пор по размерам, извилистость, шероховатость поверхности, обрезание молекулярной массы и толщины. Мембраны также можно оценить по их производительности (скорости) и разделительной способности (селективности) [31].

Мембраны можно разделить на 4 типа в зависимости от их применения: для микрофльтрации, ультрафльтрации, нанофльтрации и осмоса. Классификация соответствует их средним размерам пор, которые находятся в диапазоне 50–500 нм, 1–50 нм, ≤ 1 нм и 0.3–0.6 нм соответственно. Со структурной точки зрения мембрана может быть определена как асимметричная, если распределение пор по размерам не является равномерным по толщине мембраны, тогда как симметричные мембраны являются однородными. У асимметричных мембран присутствует очень тонкий плотный поверхностный слой, действующий

в качестве функционального слоя поверх пористого слоя с определенным диаметром пор и поддерживающего слоя ниже. Сегодня в большинстве промышленных применений используются асимметричные мембраны, а их производство закладывает основы технологии мембранного разделения [31].

Как правило, мембранные фильтры бывают двух типов: обычные (извилистые) и ядерные (трековые). Мембрана извилистого типа состоит из волокон, перекрещенных друг с другом, чтобы получить матрицу, в которой образуются каналы из случайных пространств, естественным образом возникающих между волокнами, которые ведут извилистую траекторию от одной стороны мембраны к другой. Средний диаметр этих каналов контролируется плотностью волокон в матрице. Из-за запутанной природы каналов фильтр легко забивается при прохождении через него липосом размером больше диаметра канала. Напротив, ядерный фильтр состоит из тонкого непрерывного листа полимера, в котором сквозные отверстия с точными диаметрами были пробурены путем лазерного и химического травления. Поскольку поры проходят прямо с одной стороны на другую, они оказывают гораздо меньшее сопротивление материалу, через который проходят мембраны извилистого характера [12].

С практической точки зрения основное внимание должно быть уделено мембранным материалам, обеспечивающим наибольшую эффективность разделения [32, 33]. На основе материалов мембраны могут быть разделены на органические и неорганические. Для получения неорганических мембран (керамические или металлические мембраны) используют глинозем, диоксид циркония, диоксид титана, необработанные минералы, глину, цеолит, кварцевый песок, апатит, золу и др. Керамические мембраны применяют в основном для очистки воды от промышленных отходов [34].

Важнейший класс мембранных материалов – органические полимеры, причем выбор конкретного полимера обусловлен его строением и специфическими свойствами. Из одного и того же полимера могут быть приготовлены мембраны разной морфологии (структуры). Последняя определяет механизм разделения и, следовательно, области применения мембран [33]. Органические мембраны, которые широко применимы в фармацевтической технологии, изготавливаются из различных полимеров - из ацетата целлюлозы, полиакрилонитрила, полисульфона, полиэтилена,

Дмитриева М. В., Бу Луэнь, Оборотова Н. А., Краснюк И. И., Краснюк И. И. (мл.), Беляцкая А. В., Степанова О. И., Боков Д. О., Нарышкин С. Р., Мазяркин Е. В. полипропилена, поливинилиденфторида, полиамида и др. [35].

Для фильтрации и измельчения липосом в основном используют ядерные мембранные фильтры, получаемые из поликарбоната [6, 36–40], реже применяют обычные нейлоновые [41–43], поливинилиденфторидовые фильтры [44] и другие типы микропористых мембран [45, 46]. Также некоторые исследователи для экструзии липосом не исключают использование неорганических мембран, например фильтры Anotor® на основе высокоочищенного оксида алюминия [47].

Поликарбонатные мембраны характеризуются точными размерами пор, высокой скоростью фильтрации, химической и термической устойчивостью. Их производят из поликарбонатной пленки, которую подвергают воздействию тяжелых высокоэнергетических заряженных частиц в ядерном реакторе. Проходя через поликарбонат, они оставляют треки с нарушенной (то есть другой, отличной от остального массива) структурой. Затем эти треки вытравливаются в концентрированном растворе щелочи и таким образом формируются однородные сквозные цилиндрические поры. Их плотность определяется продолжительностью пребывания мембраны в реакторе [48]. При экструзии липосомальной дисперсии используют поликарбонатные мембраны с различным диаметром пор – 400, 200, 100 и 50 нм. При этом число циклов пропускания дисперсии через фильтр может варьироваться от 1 до 5 и более раз в зависимости от режима экструзии конкретного образца липосом [49–54].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bulbake U., Doppalapudi S., Kommineni N., Khan W. // *Pharmaceutics*. 2017. Vol. 9. № 2. p. 12.
2. Барышников А.Ю. // *Вестник РАМН*. 2012. № 3. С. 23–30.
3. Дёмина Н.Б., Скатков С.А. // *Рос. Хим. Ж. (Ж. Рос. Хим. Об-ва им. Д.И. Менделеева)*. 2012. Т. LVI. № 3–4. С. 5–10.
4. Joshi S., Hussain M.T., Roces C.B., Anderluzzi G., Kastner E., Salmaso S., Kirby D.J., Perrie Y. // *International Journal of Pharmaceutics*. 2016. Vol. 514. № 1. pp. 160–168.
5. Zhou T., Tang X., Zhang W., Feng J., Wu W. // *Drug delivery*. 2019. Vol. 26. № 1. pp. 673–679.
6. Moyá M.L., López-López M., Lebrón J.A., Ostos F.J., Pérez D., Camacho V., Beck I., Merino-Bohórquez V., Camean M., Madinabeitia N., López-Cornejo P. // *Pharmaceutics*. 2019. Vol. 11. № 2. pp. 69.
7. Okamoto Y., Taguchi K., Sakuragi M., Imoto S., Yamasaki K., Otagiri M. // *ACS Omega*. 2019. Vol. 4. № 5. pp. 8693–8700.
8. Tsai M.J., Huang Y.B., Fang J.W., Fu Y.S., Wu P.C. // *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10. № 7. p. e0131026.
9. Yuan J., Zhou X., Cao W., Bi L., Zhang Y, Yang Q., Wang S. // *Nanoscale Research Letters*. 2017. Vol. 12. № 1. p. 585.
10. Wang F.C., Acevedo N., Marangoni A.G. // *Food Funct*. 2017. Vol. 8. № 11. pp. 3964–3969.
11. Nele V., Holme M.N., Kauscher U., Thomas M.R., Douth J.J., Stevens M.M. // *Langmuir*. 2019. Vol. 35. № 18. pp. 6064–6074.
12. Ong S.G., Chitneni M., Lee K.S., Ming L.C., Yuen K.H. // *Pharmaceutics*. 2016. № 8. p. 36.
13. Crites T.J., Maddox M., Padhan K., Muller J., Eigsti C., Varma R. // *Curr Protoc Cell Biol*. 2015. № 68. pp. 24.5.1–24.5.31.
14. Olson F., Hunt C.A., Szoka F.C., Vail W.J., Papahadjopoulos D. // *Biochimica et biophysica acta (BBA) – Biomembranes*. 1979. Vol. 557. № 1. pp. 9–23.
15. Patty P.J., Frisken B.J. // *Biophysical Journal*. 2003. Vol. 85. № 2. pp. 996–1004.
16. Mui B.L., Cullis P.R., Evans E.A., Madden T.D. // *Biophys. J*. 1993. Vol. 64. № 2. pp. 443–453.
17. Cho N.J., Hwang L.Y., Solandt J.J.R., Frank C.W. // *Materials*. 2013. Vol. 6. № 8. pp. 3294–3308.
18. Crawford D.E. // *Beilstein J. Org. Chem*. 2017. № 13. pp. 65–75.
19. Shah V.M., Nguyen D.X., Patel P, Cote B., Al-Fatease A., Pham Y., Huynh M.G., Woo Y., Alani A.W. // *Nanomedicine*. 2019. № 18. pp. 146–156.
20. Санарова Е.В., Чжан Си, Дмитриева М.В., Ланцова А.В., Орлова О.Л., Полозкова А.П., Оборотова Н.А., Краснюк И.И. // *Российский биотерапевтический журнал*. 2016. Т. 15. № 4. С. 78–84.
21. Тимофеева Т.А., Дмитриева М.В., Николаева Л.Л., Орлова О.Л., Оборотова Н.А., Полозкова А.П., Краснюк И.И. // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019. Т. 8. № 2. С. 10–14.
22. Hunter D.G., Frisken B.J. // *Biophysical Journal*. 1998. Vol. 74. № 6. pp. 2996–3002.
23. Simonsen J.B. // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2016. № 1. pp. 186–90.
24. Rameez S., Bamba I., Palmer A.F. // *Langmuir*. 2010. Vol. 26. № 7. pp. 5279–5285.
25. Morton L.A., Saludes J.P., Yin H. // *J. Vis. Exp*. 2012. № 64. p. 4151.
26. Leung A.W.Y., Amador C., Wang L.C., Mody U.V., Bally M.B. // *Pharmaceutics*. 2019. Vol. 11. № 3. p. 124.

27. Pupo E., Padrón A., Santana E., Sotolongo J., Quintana D., Dueñas S., Duarte C., de la Rosa M.C., Hardy E. // *Journal of Controlled Release*. 2005. Vol. 104. № 2. pp. 379–396.
28. Huang Y.B., Tsai M.J., Wu P.C., Tsai Y.H., Wu Y.H., Fang J.Y. // *J Drug Target*. 2011. Vol. 19. № 8. pp. 709–18.
29. Zhu T.F., Szostak J.W. // *PLoS ONE*. 2009. Vol. 4. № 4. p. e5009.
30. Терминология // Мембраны и мембранные технологии. 2013. № 3. С.74.
31. Tan X., Rodrigue D. // *Polymers*. 2019. Vol. 11. № 7. p. 1160.
32. Воронин Г.Ф. Основы термодинамики. Москва, издательство МГУ, 1987, 191 с.
33. Мулдер М. Введение в мембранную технологию. Москва, Мир, 1999, 513 с.
34. Abdullayev A., Bekheet M.F., Hanaor D.A.H., Gurlo A. // *Membranes*. 2019. Vol. 9. № 9. p. 105.
35. Ali I., Bamaqa O.A., Gzara L., Bassyouni M., Abdel-Aziz M.H., Soliman M.F., Drioli E., Albeirutty M. // *Membranes*. 2018. Vol. 8. № 1. p. 13.
36. Porfire A., Muntean D.M., Rus L., Sylvester B., Tomuța I. // *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2017. Vol. 25. № 7. pp. 981–992.
37. Zhou X., Zhang M., Yung B., Li H., Zhou C., Lee L.J., Lee R.J. // *International Journal of Nanomedicine*. 2012. № 7. pp. 5465–5474.
38. Drechsler C., Markones M., Choi J.Y., Frieling N., Fiedler S., Voelker D.R., Schubert R., Heerklotz H. // *Biophysical Journal*. 2018. Vol. 115. № 8. pp. 1509–1517.
39. Работкина М.А., Себякин Ю.Л. // *Биофармацевтический журнал*. 2011. Т. 3. № 4. С. 21–26.
40. Стадниченко А.В., Краснопольский Ю.М., Швец В.И. // *Тонкие химические технологии*. 2015. Т. 10. № 1. С. 60–65.
41. Николаева Л.Л., Гулякин И.Д., Санарова Е.В., Ланцова А.В., Оборотова Н.А., Бунятян Н.Д. // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2015. № 3(12). С. 68–71.
42. Гулякин И.Д., Хашем А., Николаева Л.Л., Дмитриева М.В., Афанасьева Д.А., Барышникова М.А., Оборотова Н.А., Ланцова А.В. // *Российский биотерапевтический журнал*. 2016. Т. 15. № 2. С. 55–60.
43. Дмитриева М.В., Оборотова Н.А., Орлова О.Л., Полозкова А.П., Агапов И.И., Кирпичников М.П. и др. // *Российский биотерапевтический журнал*. 2014. Т. 13. № 1. С. 31–36.
44. Chiang Y.T., Lyu S.Y., Wen Y.H., Lo C.L. // *Int. J. Mol. Sci*. 2018. Vol. 19. № 6. p. 1615.
45. Lv Z., Yang Y., Wang J., Chen J., Li J., Di L. // *Molecules*. 2018. Vol. 23. № 2. p. 303.
46. Lv X., Yin J., Yang X., Liu S., Sun K. // *Chin J Lung Cancer*. 2018. Vol. 21. № 9. pp. 663–669.
47. Kozhikhova K.V., Ivantsova M.N., Tokareva M.I., Shulepov I.D., Tretiyakov A.V., Shaidarov L.V., Rusinov V.L., Mironov M.A. // *Pharm Dev Technol*. 2018. Vol. 23. № 4. pp. 334–342.
48. Федосюк В. // *Наука и инновации*. 2006. Vol. 8. № 42. pp. 31–35.
49. Zappacosta R., Cornelio B., Pilato S., Siani G., Estour F., Aschi M., Fontana A. // *Molecules*. 2019. Vol. 24. № 7. p. 1387.
50. Song M., Wang J., Lei J., Peng G., Zhang W., Zhang Y., Yin M., Li J., Liu Y., Wei X., Li X., Li G. // *Nanoscale Research Letters*. 2019. Vol. 14. № 1. p. 138.
51. Zhu R., Tian Y. // *Drug Design, Development and Therapy*. 2017. Vol. 11. pp. 3481–3489.
52. Grillone A., Li T., Battaglini M., Scarpellini A., Prato M., Takeoka S., Ciofani G. // *Nanomaterials*. 2017. Vol. 7. № 9. p. 276.
53. Wang Y., Ying X., Xu H., Yan H., Li X., Tang H. // *International Journal of Nanomedicine*. 2017. № 12. pp. 1369–1384.
54. Peralta M.F., Guzmán M.L., Pérez A.P., Apezteguia G.A., Fórmica M.L., Romero E.L., Olivera M.E., Carrer D.C. // *Scientific reports*. 2018. Vol. 8. № 1. p. 13253.

ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина"
Минздрава России

*Дмитриева М. В., кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории разработки лекарственных форм

E-mail: dmitrieva.m@ronc.ru

Оборотова Н. А., профессор, доктор фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории разработки лекарственных форм

E-mail: oborotova@mail.ru

N.N. Blokhin National Medical Research Center
of Oncology

*Dmitrieva M. V., candidate of pharmaceutical sciences, senior researcher at the laboratory for the development of dosage forms

E-mail: dmitrieva.m@ronc.ru

Oborotova N. A., PhD., DSci., Full Professor, leading researcher at the laboratory for the development of dosage forms

E-mail: oborotova@mail.ru

Дмитриева М. В., Бу Лугэнь, Оборотова Н. А., Краснюк И. И., Краснюк И. И. (мл.), Беляцкая А. В., Степанова О. И., Боков Д. О., Нарышкин С. Р., Мазяркин Е. В.

Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Лугэнь Бу, аспирантка кафедры фармацевтической технологии

E-mail: blg5020844@gmail.com

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Lugen Bu, post-graduate student, department of
of pharmaceutical technology

E-mail: blg5020844@gmail.com

Краснюк И. И., профессор, доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармацевтической технологии

E-mail: krasnyuki@mail.ru

Krasnyuk I. I., PhD., DSci., Full Professor, head
of department of pharmaceutical technology

E-mail: krasnyuki@mail.ru

Краснюк И. И. (мл.), доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой аналитической, физической и коллоидной химии

E-mail: krasnyuk.79@mail.ru

Krasnyuk I. I. (jr.), PhD., DSci., Full Professor,
head of department of analytical, physical and colloid
chemistry

E-mail: krasnyuk.79@mail.ru

Беляцкая А. В., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии

E-mail: av.beliatskaya@mail.ru

Beliatskaya A. V., PhD., Associate Professor,
department of pharmaceutical technology

e-mail: av.beliatskaya@mail.ru

Степанова О. И., кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры фармакологии

E-mail: o.i.nikulina@mail.ru

Stepanova O. I., PhD., teacher, department of
pharmacology

E-mail: o.i.nikulina@mail.ru

Боков Д. О., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры аналитической, физической и коллоидной химии

E-mail: fmmsu@mail.ru

Bokov D. O., PhD., Associate Professor,
department of analytical, physical and colloid
chemistry

E-mail: fmmsu@mail.ru

Нарышкин С. Р., аспирант кафедры аналитической, физической и коллоидной химии

E-mail: lonely.sloka@yandex.ru

Naryshkin S. R., post-graduate student, dept. of
analytical, physical and colloid chemistry

E-mail: lonely.sloka@yandex.ru

Мазяркин Е. В., студент

E-mail: jeick.long@yandex.ru

Mazyarkin E. V., student

E-mail: jeick.long@yandex.ru

EXTRUSION METHOD IN THE TECHNOLOGY PREPARATION OF LIPOSOMES

M. V. Dmitrieva¹, B. Lugen², N. A. Oborotova¹, I. I. Krasnyuk², I. I. Krasnyuk (jr.)²,
A. V. Belyackaya², O. I. Stepanova², D. O. Bokov², S. R. Naryshkin², E. V. Mazyarkin²

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology

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

Abstract. Significant interest in the pharmaceutical market is represented by research on the development and creation of liposomal forms of various drugs that are used in the diagnosis and treatment of various diseases in the field of oncology, immunology, surgery, ophthalmology, neurology, etc. Methods of their production significantly affect the properties of liposomes. The size of vesicles, the degree of oxidation of lipids that make up the shell, their internal volume, storage stability, and other parameters depend on the preparation technology. Currently, there are various methods for obtaining liposomes, each of which has its own advantages and disadvantages, so the choice of method mainly depends on the tasks set when developing a particular liposomal dosage form. Extrusion is the gold standard in the production of liposomal

preparations and one of the widely used methods for producing unilamellar liposomes. The method consists in passing liposomal dispersion through a membrane filter with a certain pore size under pressure using special equipment – an extruder or a suitable individual installation. Unlike other methods of liposome grinding, the extrusion process also includes filtration of dispersion from visible and invisible mechanical particles, including from an active hydrophobic substance "not included" in the vesicles, and sterilization of the drug under aseptic conditions. The extrusion efficiency is determined by a number of factors such as the nature of the material and the pore size of the membrane filter, the composition of liposomes and the concentration of lipids, the flow rate of dispersion and the number of cycles of its transmission, and the pressure value. Extrusion provides homogeneous liposomes in size, is a relatively soft and fast process, and is reproducible. This review provides general information about the extrusion method and its mechanism; technological factors that can affect the extrusion process itself and the quality of the resulting liposomal product; used equipment and membranes.

Keywords: liposomes, pharmaceutical technology, extrusion, vesicle size

REFERENCES

1. Bulbake U., Doppalapudi S., Kommineni N., Khan W., *Pharmaceutics*, 2017, Vol. 9, № 2, p. 12.
2. Baryshnikov A.Yu., *Vestnik RAMN*, 2012, № 3, pp. 23–30.
3. Demina N.B., Skatkov S.A., *Ros. Him. ZH. (ZH. Ros. Him. Ob-va im. D.I. Mendeleeva)*, 2012, Vol. LVI, № 3–4, pp. 5–10.
4. Joshi S., Hussain M.T., Roces C.B., Anderluzzi G., Kastner E., Salmaso S., Kirby D.J., Perrie Y., *International Journal of Pharmaceutics*, 2016, Vol. 514, № 1, pp. 160–168.
5. Zhou T., Tang X., Zhang W., Feng J., Wu W., *Drug delivery*, 2019, Vol. 26, № 1, pp. 673–679.
6. Moyá M.L., López-López M., Lebrón J.A., Ostos F.J., Pérez D., Camacho V., Beck I., Merino-Bohórquez V., Camean M., Madinabeitia N., López-Cornejo P., *Pharmaceutics*, 2019, Vol. 11, № 2, pp. 69.
7. Okamoto Y., Taguchi K., Sakuragi M., Imoto S., Yamasaki K., Otagiri M., *ACS Omega*, 2019, Vol. 4, № 5, pp. 8693–8700.
8. Tsai M.J., Huang Y.B., Fang J.W., Fu Y.S., Wu P.C., *PLoS ONE*, 2015, Vol. 10, № 7, p. e0131026.
9. Yuan J., Zhou X., Cao W., Bi L., Zhang Y, Yang Q., Wang S., *Nanoscale Research Letters*, 2017, Vol. 12, № 1, p. 585.
10. Wang F.C., Acevedo N., Marangoni A.G., *Food Funct.*, 2017, Vol. 8, № 11, pp. 3964–3969.
11. Nele V., Holme M.N., Kauscher U., Thomas M.R., Douth J.J., Stevens M.M., *Langmuir*, 2019, Vol. 35, № 18, pp. 6064–6074.
12. Ong S.G., Chitneni M., Lee K.S., Ming L.C., Yuen K.H., *Pharmaceutics*, 2016, № 8, p. 36.
13. Crites T.J., Maddox M., Padhan K., Muller J., Eigsti C., Varma R., *Curr Protoc Cell Biol.*, 2015, № 68, pp. 24.5.1–24.5.31.
14. Olson F., Hunt C.A., Szoka F.C., Vail W.J., Papahadjopoulos D., *Biochimica et biophysica acta (BBA)–Biomembranes*, 1979, Vol. 557, № 1, pp. 9–23.
15. Patty P.J., Frisken B.J., *Biophysical Journal*, 2003, Vol. 85, № 2, pp. 996–1004.
16. Mui B.L., Cullis P.R., Evans E.A., Madden T.D., *Biophys. J.*, 1993, Vol. 64, № 2, pp. 443–453.
17. Cho N.J., Hwang L.Y., Solandt J.J.R., Frank C.W., *Materials*, 2013, Vol. 6, № 8, pp. 3294–3308.
18. Crawford D.E., *Beilstein J. Org. Chem.*, 2017, № 13, pp. 65–75.
19. Shah V.M., Nguyen D.X., Patel P, Cote B., Al-Fatease A., Pham Y., Huynh M.G., Woo Y., Alani A.W., *Nanomedicine*, 2019, № 18, pp. 146–156.
20. Sanarova E.V., CHzhan Si, Dmitrieva M.V., Lantsova A.V., Orlova O.L., Polozkova A.P., Oborotova N.A., Krasnyuk I.I., *Rossiiskij bioterapevticheskij zhurnal*, 2016, Vol. 15, № 4, pp. 78–84.
21. Timofeeva T.A., Dmitrieva M.V., Nikolaeva L.L., Orlova O.L., Oborotova N.A., Polozkova A.P., Krasnyuk I.I., *Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv*, 2019, Vol. 8, № 2, pp. 10–14.
22. Hunter D.G., Frisken B.J., *Biophysical Journal*, 1998, Vol. 74, № 6, pp. 2996–3002.
23. Simonsen J.B., *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2016, № 1, pp. 186–90.
24. Rameez S., Bamba I., Palmer A.F., *Langmuir*, 2010, Vol. 26, № 7, pp. 5279–5285.
25. Morton L.A., Saludes J.P., Yin H., *J. Vis. Exp.*, 2012, № 64, p. 4151.
26. Leung A.W.Y., Amador C., Wang L.C., Mody U.V., Bally M.B., *Pharmaceutics*, 2019, Vol. 11, № 3, p. 124.
27. Pupo E., Padrón A., Santana E., Sotolongo J., Quintana D., Dueñas S., Duarte C, de la Rosa M.C., Hardy E., *Journal of Controlled Release*, 2005, Vol. 104, № 2, pp. 379–396.
28. Huang Y.B., Tsai M.J., Wu P.C., Tsai Y.H., Wu Y.H., Fang J.Y., *J Drug Target*, 2011, Vol. 19, № 8, pp. 709–18.
29. Zhu T.F., Szostak J.W., *PLoS ONE*, 2009, Vol. 4, № 4, p. e5009.

Дмитриева М. В., Бу Луэнь, Оборотова Н. А., Краснюк И. И., Краснюк И. И. (мл.), Беляцкая А. В., Степанова О. И., Боков Д. О., Нарышкин С. Р., Мазяркин Е. В.

30. Terminologiya, Membrany i membrannyye tekhnologii, 2013, № 3, p.74.
31. Tan X., Rodrigue D., Polymers, 2019, Vol. 11, № 7, p. 1160.
32. Voronin G.F. Osnovy termodinamiki. Moskva, izdatel'stvo MGU, 1987, 191 p.
33. Mulder M. Vvedenie v membrannuyu tekhnologiyu. Moskva, Mir, 1999, 513 p.
34. Abdullayev A., Bekheet M.F., Hanaor D.A.H., Gurlo A., Membranes, 2019, Vol. 9, № 9, p. 105.
35. Ali I., Bamaga O.A., Gzara L., Bassyouni M., Abdel-Aziz M.H., Soliman M.F., Drioli E., Albeirutty M., Membranes, 2018, Vol. 8, № 1, p. 13.
36. Porfire A., Muntean D.M., Rus L., Sylvester B., Tomuța I., Saudi Pharmaceutical Journal, 2017, Vol. 25, № 7, pp. 981–992.
37. Zhou X., Zhang M., Yung B., Li H., Zhou C., Lee L.J., Lee R.J., International Journal of Nanomedicine, 2012, № 7, pp. 5465–5474.
38. Drechsler C., Markones M., Choi J.Y., Frieling N., Fiedler S., Voelker D.R., Schubert R., Heerklotz H., Biophysical Journal, 2018, Vol. 115, № 8, pp. 1509–1517.
39. Rabotkina M.A., Sebyakin YU.L., Biofarmaceuticheskiy zhurnal, 2011, Vol. 3, № 4, pp. 21–26.
40. Stadnichenko A.V., Krasnopol'skiy YU.M., SHvec V.I., Tonkie himicheskie tekhnologii, 2015, Vol. 10, № 1, pp. 60–65.
41. Nikolaeva L.L., Gulyakin I.D., Sanarova E.V., Lantsova A.V., Oborotova N.A., Bunyatyan N.D., Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv, 2015, № 3(12), pp. 68–71.
42. Gulyakin I.D., Hashem A., Nikolaeva L.L., Dmitrieva M.V., Afanasieva D.A., Baryshnikova M.A., Oborotova N.A., Lantsova A.V., Rossijskiy bioterapevticheskiy zhurnal, 2016, Vol. 15, № 2, pp. 55–60.
43. Dmitrieva M.V., Oborotova N.A., Orlova O.L., Polozkova A.P., Agapov I.I., Kirpichnikov M.P. Rossijskiy bioterapevticheskiy zhurnal, 2014, Vol. 13, № 1, pp. 31–36.
44. Chiang Y.T., Lyu S.Y., Wen Y.H., Lo C.L., Int. J. Mol. Sci., 2018, Vol. 19, № 6, p. 1615.
45. Lv Z., Yang Y., Wang J., Chen J., Li J., Di L., Molecules, 2018, Vol. 23, № 2, p. 303.
46. Lv X., Yin J., Yang X., Liu S., Sun K., Chin J Lung Cancer, 2018, Vol. 21, № 9, pp. 663–669.
47. Kozhikhova K.V., Ivantsova M.N., Tokareva M.I., Shulepov I.D., Tretiyakov A.V., Shaidarov L.V., Rusinov V.L., Mironov M.A., Pharm Dev Technol., 2018, Vol. 23, № 4, pp. 334–342.
48. Fedosyuk V., Nauka i innovacii, 2006, Vol. 8, № 42, pp. 31–35.
49. Zappacosta R., Cornelio B., Pilato S., Siani G., Estour F., Aschi M., Fontana A., Molecules, 2019, Vol. 24, № 7, p. 1387.
50. Song M., Wang J., Lei J., Peng G., Zhang W., Zhang Y., Yin M., Li J., Liu Y., Wei X., Li X., Li G., Nanoscale Research Letters, 2019, Vol. 14, № 1, p. 138.
51. Zhu R., Tian Y., Drug Design, Development and Therapy, 2017, Vol. 11, pp. 3481–3489.
52. Grillone A., Li T., Battaglini M., Scarpellini A., Prato M., Takeoka S., Ciofani G., Nanomaterials, 2017, Vol. 7, № 9, p. 276.
53. Wang Y., Ying X., Xu H., Yan H., Li X., Tang H., International Journal of Nanomedicine, 2017, № 12, pp. 1369–1384.
54. Peralta M.F., Guzmán M.L., Pérez A.P., Apezteguia G.A., Fórmica M.L., Romero E.L., Olivera M.E., Carrer D.C., Scientific reports, 2018, Vol. 8, № 1, p. 13253.