

Монографія

Ю. М. Краснопольський  
Д. М. Пилипенко

СТВОРЕННЯ СИСТЕМ ДОСТАВКИ  
АНТИГЕНІВ ТА ЛІКІВ НА ОСНОВІ ШТУЧНИХ  
І ПРИРОДНИХ ЛІПІДНИХ НАНОЧАСТИНОК:

# ЛІПОСОМИ ТА ЕКЗОСОМИ

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
«ХАРКІВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ»

Ю. М. Краснопольський, Д. М. Пилипенко

СТВОРЕННЯ СИСТЕМ ДОСТАВКИ АНТИГЕНІВ ТА ЛІКІВ  
НА ОСНОВІ ШТУЧНИХ І ПРИРОДНИХ ЛІПІДНИХ  
НАНОЧАСТИНОК: ЛІПОСОМИ ТА ЕКЗОСОМИ

Монографія

Харків  
Друкарня Мадрид  
2023

УДК 615.012:615.014.23:615.371:615.456.3:576.314:576.5

К 78

Рецензенти:

*Г. С. Григор'єва*, д-р хім. наук, проф.,  
ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»;  
*Л. В. Кричковська*, д-р біол. наук, проф.,  
Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»

*Публікується за рішенням вченої ради Національного технічного  
університету «Харківський політехнічний інститут»,  
протокол № 2 від 28 лютого 2023 р.*

**Краснопольський Ю.М., Пилипенко Д. М.**

К 78 Створення систем доставки антигенів та ліків на основі штучних і природних ліпідних наночастинок: ліпосоми та екзосоми : монографія / Ю. М. Краснопольський, Д. М. Пилипенко. – Харків : Друкарня Мадрид, 2023. – 179 с. : іл. 22, табл. 7, бібліогр. 504 назви.  
ISBN 978-617-8254-13-1

У монографії обговорюються останні досягнення у галузі фармацевтичної біотехнології зі створення систем доставки ліків та антигенів на основі ліпосомальних наночастинок. Розглянуто основні аспекти одержання ліпосом, ліпосомальні ад'юванти у сучасних вакцинах, зареєстровані в Україні ліпосомальні форми препаратів, а також наведено дані останніх років з вивчення екзосомальних наночастинок та перспективи створення гібридних ліпосомально-екзосомальних наночастинок.

Монографія призначена для широкого кола читачів: студентів, аспірантів, науковців біотехнологічного та фармацевтичного напрямку.

УДК 615.012:615.014.23:615.371:615.456.3:576.314:576.5

ISBN 978-617-8254-13-1

© Ю.М. Краснопольський, Д.М. Пилипенко, 2023

© НТУ «ХПІ», 2023

© ТОВ «Друкарня Мадрид», 2023

## ПЕРЕДМОВА

До фундаментальних проблем біотехнології, фармації і медицини сьогодні належить створення системи доставки ліків (*drug delivery system*). Нині відбувається активний розвиток цих систем, причому використання завантажених в наночастинки активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ), які добре зарекомендували себе, створює не тільки нові фармацевтичні форми препаратів, але й надає цим АФІ унікальні властивості.

Термін «*drug delivery system*» описує технології, які доставляють в організм різноманітні ліки з підвищеною активністю. Системи доставки ліків – наночастинки, міцели або екзосоми – захищають АФІ від деградації і здатні доставляти його в цільову для нас точку організму. Біотехнологи, фармакологи та фармацевти зробили важливий внесок у краще розуміння фізіологічних бар'єрів для ефективної доставки ліків. Сьогодні завдяки дослідникам багато інноваційних способів доставки ліків успішно ввійшли до клінічної практики. У цій монографії обговорюються два типи наночастинок: штучних мембран (ліпосом) і за допомогою природних частинок (екзосом).

Ліпосоми на даний час є тою *drug delivery system*, яка міцно ввійшла до медицини. Відомо більше 50-ти оригінальних лікарських препаратів на основі ліпосом. Найважливішою перевагою ліпосом є зниження побічних ефектів ліків, що мінімально взаємодіють зі здоровими органами або тканинами, що пояснює використання ліпосомальних форм для лікування ракових захворювань. Перший розділ присвячено технологічним особливостям створення ліпосом.

У другому розділі узагальнено напрямки використання ліпосомальних наночастинок у складі вакцин. Важко уявити боротьбу з COVID-19 без ліпосомальних вакцин, які несуть у своєму складі мРНК вірусу SARS-CoV-2. «Упаковка», яка використовується для мРНК-вакцин, являє собою ліпідні наночастинки (ліпосоми), які не тільки переносять мРНК, але і захищають її, полегшуючи доставку в клітини. Заслуга *drug delivery system*

для вакцинології неоцінена: створені вакцини на основі ліпосом для профілактики багатьох захворювань, серед яких малярія, гепатит А, грип, оперізуючий лишай. Розробляються десятки інших ліпосомальних вакцин для профілактики гепатитів, туберкульозу, сказу та інших патогенів.

У третьому розділі обговорюються дані про створення в Україні кількох оригінальних ліпосомальних лікарських засобів. Препарати розроблялися з 1987 по 2007 роки, пройшли повний цикл досліджень і були зареєстровані в Україні. Застосування цих продуктів у клінічній практиці підтверджує їх ефективність при лікуванні хворих у пульмонології, кардіології, офтальмології та ін. Вкрай важливим є той факт, що ряд наведених технологій пройшли через руки та голови авторів і їм надано критичну оцінку.

Четвертий розділ присвячено використанню екзосом як *drug delivery system*. Створення лікарських препаратів на основі екзосом є наступним перспективним кроком для створення нового покоління таргетних систем доставки. Екзосоми та їх модифікації продемонстрували ряд переваг: високу спрямованість і специфічність, нетоксичність продуктів та біосумісність. Запропоновано використовувати екзосоми як тваринного, так і рослинного походження. Технології отримання та інкапсуляції екзосом близькі з рядом технологічних етапів виробництва ліпосом, таких як обробка ультразвуком, заморожування/відтаювання, екструзія та ін. Крім того для стабілізації обох видів частинок застосовують кріоконсервацію та ліофілізацію із використанням кріопротекторів. Розробка та застосування гібридів екзосом та ліпосом також підтверджує перспективність обох форм. Водночас, необхідне значне доопрацювання технології отримання екзосом та їх гібридів, методів інкапсуляції АФІ в екзосоми.

Проведені дослідження біотехнологів, імунологів, фармацевтів та інших фахівців ведуть до створення нового покоління лікарських препаратів, що дозволить більш ефективно впливати на хвороби.

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	7
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	9
1. СУЧАСНІ МЕТОДИ ОДЕРЖАННЯ ЛІПОСОМ .....	12
1.1. Класифікація ліпосомальних наночастинок. ....	12
1.2. Методи одержання ліпосом. ....	13
1.3. Ліпіди у складі ліпосомальних препаратів.....	17
1.4. Технологічні аспекти одержання ліпосомальних препаратів та включення АФІ. ....	23
1.5. Стандартизація та контроль ліпосомальних препаратів.....	24
2. ЛІПОСОМАЛЬНІ ВАКЦИНИ ТА АД'ЮВАНТИ .....	26
2.1. Віросомальні вакцини. ....	28
2.2. Вакцини на основі ад'ювантної системи AS01. ....	34
2.3. Імуностимулюючі комплекси ISCOM. ....	38
2.4. Ліпідні наночастинки (LNP). ....	40
2.5. Вакцини для профілактики туберкульозу. ....	46
Підсумок. ....	49
3. ЛІПОСОМАЛЬНІ ЛІКАРСЬКІ ПРЕПАРАТИ, РОЗРОБЛЕНІ В УКРАЇНІ .....	57
3.1. Ліпін. ....	57
3.2. Ліподокс – ліпосомальний доксорубіцин.....	64
3.3. Ліолів – ліпосомальний гепатопротектор. ....	66
3.4. Ліпофлавіон – ліпосомальний кверцетин.....	68

4.	ЕКЗОСОМИ – ПЕРСПЕКТИВНІ DRUG DELIVERY SYSTEM .....	77
4.1.	Утворення та склад екзосом. ....	78
4.2.	Класифікація екзосом. ....	81
4.3.	Виділення, очистка та стабілізація екзосом. ....	84
4.4.	Екзосоми як транспортери ліків у drug delivery system. ....	89
4.5.	Методи модифікації drug delivery system на основі екзосом. ....	90
4.6.	Використання екзосомальних drug delivery system для лікування COVID-19.....	91
4.7.	Використання екзосомальних drug delivery system для лікування пухлинних захворювань. ....	95
4.8.	Використання екзосомальних drug delivery system для лікування захворювань різної етіології. ....	102
4.9.	Екзосомальні продукти у клінічних дослідженнях.....	106
	Підсумок. ....	108
	СПИСОК ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ.....	115
	ДОДАТКИ .....	165

## ВСТУП

Ефективним підходом у фармації та медицині є розробка та застосування систем доставки ліків (*drug delivery system*). Дослідження проводяться за різними напрямками з використанням як неорганічних (наночастинки металів, фулерени та ін.) [1, 2], так і органічних (ліпосомальні, полімерні наночастинки та ін.) [3–7] наночастинок. Великі надії покладаються на екзосоми – невеликі позаклітинні везикули, природні наночастинки, що відіграють важливу роль у міжклітинних комунікаціях [8].

Використання *drug delivery system* дозволяє змінити фармакокінетику активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ), збільшити його біодоступність та ефективність [9]. З точки зору практичного застосування, *ліпосомальні drug delivery system* досягли найбільшого успіху в наномедицині [9]. Створення ліпосомальних препаратів є одним із перспективних напрямків сучасної нанофармакології, завдяки таким перевагам ліпосом [10, 11, 12, 13]:

- пролонгують дію введеного в організм АФІ;
- змінюють фармакокінетику лікарських препаратів, суттєво підвищуючи їхню фармакологічну ефективність;
- захищають лікарські речовини від деградації;
- захищають здорові клітини та органи від токсичної дії лікарських препаратів;
- здатні збільшувати біодоступність ліпофільних АФІ.

Слід зазначити, що ліпосомальні препарати є єдиним реальним прикладом застосування нанопрепаратів у медицині, наприклад, в Україні ліцензовані ліпосомальні препарати для застосування в кардіології, офтальмології, онкології та ін. [10, 12, 14, 15, 16, 17].

На сьогоднішній день у клініці використовуються понад 50 лікарських форм на основі ліпосом [10], причому, це переважно препарати для лікування та діагностики пухлин різної етіології [14, 11, 12, 15, 18–21].



За останні 40 років українськими вченими запропоновано кілька ліпосомальних лікарських препаратів, частина з яких успішно пройшла доклінічні та клінічні дослідження, вони були ліцензовані в Україні та знайшли широке застосування у клініці [22–26]. У таблиці 1 (див. Додатки) [10, 27] наведено перелік основних ліпосомальних ліцензованих препаратів, що використовуються сьогодні у світовій клінічній практиці.

Дане видання присвячено *drug delivery system* на основі наночастинок – ліпосом та екзосом, які містять ліпідні мембрани, та порівнянню їх ефективності.

## ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФІ	– активний фармацевтичний інгредієнт
ВЕРХ	– вискоєфективна рідинна хроматографія
ВООЗ	– Всесвітня організація охорони здоров'я
ГЕБ	– гематоенцефалічний бар'єр
ДФУ	– Державна Фармакопея України
МО	– Міжнародна одиниця
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція
ТБК	– тіобарбітурова кислота
BCG	– Бацила Кальметта-Герена (лат. – <i>Bacillus Calmette–Guérin</i> )
COVID-19	– коронавірусна хвороба 2019 (англ. – COrona VIRus Disease 2019)
DDA	– диметилдіоктадецил амонію бромід (англ. – dymethyldioctadecyl ammonium bromide)
DMPC	– диміристоїлфосфатидилхолін (англ. – dimirystoylphosphocholine)
DMPG	– диміристоїлфосфатидилгліцерин (англ. – dimyristoylphosphoglycerol)
DOPC	– диолеоїлфосфатидилхолін (англ. – dioleoylphosphocholine)
DOPE	– диолеоїлфосфатидилетаноламін (англ. – dioleoylphosphoethanolamine)
DOPS	– диолеоїлфосфатидилсерин (англ. – dioleoylphospho-L-serine)
DOTAP	– 1,2-диолеїлокси-3-[триметиламоній]-пропан (англ. – 1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium-propane)
DPPC	– дипальмітоїлфосфатидилхолін (англ. – dipalmitoylphosphatidylcholine)
DPPG	– дипальмітоїлфосфатидилгліцерин (англ. – dipalmitoylphosphatidylglycerol)
DPG	– дифосфатидилгліцерин (англ. – diphosphatidylglycerol)

- DSPC – дистеароїлфосфотидилхолін (англ. – distearoylphosphatidylcholine)
- DSPE-mPEG – 1,2-дистеароїл-sn-гліцero-3-фосфоетаноламін з кон'югованим метоксил-поліетиленгліколем (англ. – 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine with conjugated methoxyl polyethylene glycol)
- DSPE-PEG-2000 – 1,2-дистеароїл-sn-гліцero-3-фосфоетаноламін-N-[аміно(поліетиленгліколь)-2000] (англ. – 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-[amino(polyethylene glycol)-2000])
- DSPG – дистеароїлфосфотидилгліцерин (англ. – distearoylphosphatidylcholine)
- EPC – яєчний фосфатидилхолін (англ. – egg phosphatidylcholine)
- FDA – Food and Drug Administration (Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів)
- GMP – належна виробнича практика (англ. – Good Manufacturing Practice)
- HBsAg – поверхневий антиген гепатиту В (англ. – Hepatitis B surface Antigen)
- HSPC – гідрогенізований соєвий фосфатидилхолін (англ. – hydrogenated soybean phosphatidylcholine);
- ISCT – Міжнародне товариство клітинної та генної терапії (англ. – International Society for Cell & Gene Therapy)
- ISEV – Міжнародне товариство позаклітинних везикул (англ. – International Society for Extracellular Vesicles)
- LNP – ліпідні наночастинки (англ. – lipid nanoparticles)
- LUV – великі одношарові везикули (англ. – large unilamellar vesicles)
- MHC – головний комплекс гістосумісності (англ. – major histocompatibility complex)
- MVL – мультивезикулярні ліпосоми (англ. – multivesicular liposomes)
- PA – фосфатидна кислота (англ. – phosphatidic acid)
- PC – фосфатидилхолін (англ. – phosphatidylcholine)
- PE – фосфатидилетаноламін (англ. – phosphatidylethanolamine)
- PEG – поліетиленгліколь (англ. – polyethylene glycol)
- PG – фосфатидилгліцерин (англ. – phosphatidylglycerol)
- PI – фосфатидилінозит (англ. – phosphatidylinositol)

- POPC – пальмітоїлолеоїлфосфатидилхолін (англ. – palmitoyloleoyl-phosphocholine)
- SFPC – фосфатидилхолін соняшника (англ. – sunflower phosphatidylcholine)
- SPC – соєвий фосфатидилхолін (англ. – soybean phosphatidylcholine)
- PS – фосфатидилсерин (англ. – phosphatidylserine)
- TDB – D(+)-трегалоза 6,6-дибегенат (англ. – D(+)-trehalose 6,6-dibehenate)
- TLR – Toll-подібний рецептор (англ. – Toll-liked receptors)
- SUV – малі одношарові везикули (англ. – small unilamellar vesicles)

# 1. СУЧАСНІ МЕТОДИ ОДЕРЖАННЯ ЛПОСОМ

## 1.1. Класифікація ліпосомальних наночастинок.

Ліпосоми – являють собою колоїдні сферичні частинки нанодіапазону, утворені фосфоліпідним бішаром [28]. Виділяють одношарові (уніламельярні) та багатошарові (оліголамельярні та мультиламельярні) везикули, а також мультивезикулярні ліпосоми. Оліголамельярні та мультиламельярні везикули містять 2–5 і більше 5 концентричних ліпідних бішарів, відповідно. На відміну від мультиламельярних везикул мультивезикулярні ліпосоми включають сотні концентричних водних камер, обмежених однією двошаровою ліпідною мембраною.

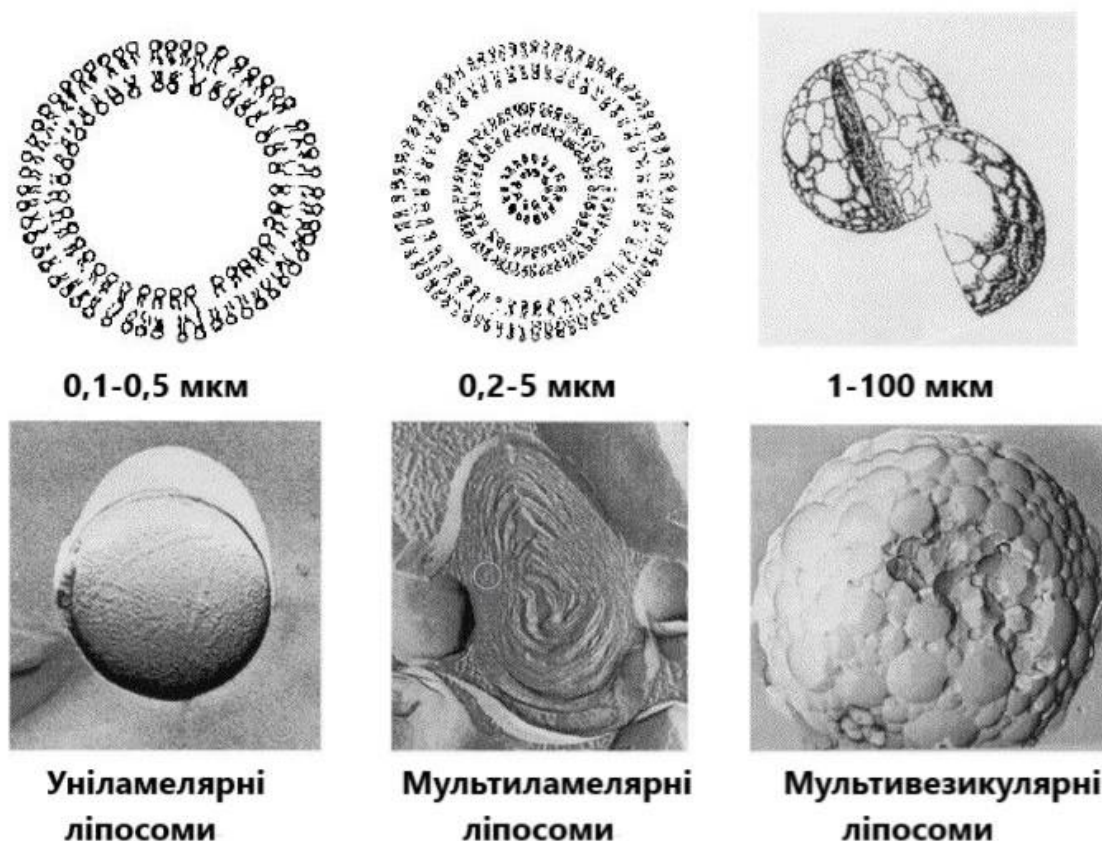


Рисунок 1.1 – Класифікація ліпосомальних наночастинок за розміром та кількістю фосфоліпідних шарів [29]

Залежно від розміру частинок одношарові везикули можна розділити на малі (30–100 нм), великі (100–1000 нм) і гігантські (більше 1000 нм).

Структура та ефективність ліпосом значною мірою залежать від ліпідного складу ліпосомальної мембрани. Ліпідний склад визначає розміри частинок, їхню стабільність, ступінь інкапсуляції АФІ, а також впливає на методи одержання ліпосом [30–32].

## 1.2. Методи одержання ліпосом.

Передусім необхідно розглянути основні методи одержання ліпосомальних наночастинок, які найактивніше використовуються в сучасній нанобіотехнології. Проаналізувавши технології, що використовуються для отримання ліпосомальних наночастинок, можна виділити такі основні методи:

- ✓ утворення ліпідної плівки,
- ✓ обробка ультразвуком,
- ✓ спонтанна везикуляція,
- ✓ інжекція,
- ✓ екструзія,
- ✓ метод подвійної емульгації,
- ✓ метод *in situ*.

**Метод ліпідної плівки.** Інкапсуляція АФІ в ліпосоми методом ліпідної плівки дозволяє отримувати лікарські препарати переважно з ліпофільними субстанціями. Цей метод у ряді випадків можна використовувати для гідрофільних речовин, однак, якщо для ліпофільних АФІ інкапсуляція в ліпосоми становить не менше 85–90%, то для гідрофільних – не більше 30–50%.

Принцип методу полягає в отриманні розчину ліпідів та ліпофільної лікарської субстанції в органічних розчинниках (етанол, метанол, хлороформ та ін.) з подальшим утворенням плівки, що містить ліпіди та АФІ [33, 34]. Одержання ліпідної плівки проводять при постійному перемішуванні розчину ліпідів в органічному розчиннику за температури 37–43 °С. При використанні ліпофільного АФІ його розчиняють у відповідному органічному розчиннику та змішують з розчином ліпідів.

Ліпідну плівку або плівку ліпідів з АФІ гідратують у буферному розчині (або воді) для отримання мультиламелярних везикул. При використанні гідрофільних речовин плівку гідратують буферним розчином, який містить АФІ. Необхідно зазначити, що температура в процесі ресуспендування повинна бути вищою за температуру фазового переходу використаного ліпиду. При отриманні везикул крім температури необхідно враховувати ряд факторів: величину рН та йонну силу буфера, концентрацію ліпідів та співвідношення «ліпід : АФІ», фізико-хімічні властивості використовуваних компонентів. Розмір утворюваних везикул визначається також інтенсивністю і часом перемішування. Крім цього, в кожному конкретному випадку необхідно враховувати заряд ліпідів. Для запобігання процесів перекисного окислення ліпідів отриману емульсію насичують інертним газом.

**Ультразвукова обробка** – процес отримання ліпосом за допомогою ультразвуку [35]. Недоліком цього методу є вкрай низька продуктивність, окиснення та гідроліз ліпідів, тривалість технологічного процесу, підвищення температури реакційної суміші. Серйозним недоліком даного методу також є те, що отримані ліпосоми недостатньо стійкі у процесі зберігання та вимагають додаткових заходів щодо стабілізації. Крім того, виявлено низьку стандартність отриманих препаратів, що виявляється в неоднорідності складу. Використання ультразвуку неефективне у тих випадках, коли лікарські речовини руйнуються під дією ультразвуку. Обробка ультразвуком призводить до розвитку процесів перекисного окиснення фосфоліпідних компонентів ліпосом. Так, за нашими даними, ультразвукова обробка фосфоліпідних сумішей різного складу при частоті 22 кГц протягом 10–45 хвилин та температурі  $25 \pm 5$  °С супроводжується збільшенням індексу окисленості в 1,5–2 рази.

Ряд авторів пропонують комбіноване використання методів отримання ліпосом. Наприклад, при отриманні ліпосом спочатку проводять ультразвукову обробку при 22 кГц протягом 3–5 хвилин, а потім заморожування в рідкому азоті, з наступним відтаюванням при кімнатній температурі, після чого процес повторюють 3–6 разів.

**Метод спонтанної везикуляції** – заснований на спонтанному утворенні ліпосом при швидкому підлогуванні водних дисперсій, які містять фосфоліпіди [10]. До недоліків даного методу можна віднести обмеже-

ність у використанні фосфоліпідного складу (фосфатидилсерин, фосфатидна кислота), високу швидкість процесу, що ускладнює використання цього методу в промислових умовах при отриманні великих об'ємів ліпосомальних препаратів. Крім того, високе значення рН (більше 9,0), а також визначальне значення температурного режиму робить даний метод неприйнятним для ряду лікарських та біологічно активних речовин.

**Інжекція** – отримання ліпосом шляхом впорскування у водне середовище розчину фосфоліпідів та гідрофобного АФІ у летючому органічному розчиннику. До недоліків цього методу відносять низьку ефективність інкапсуляції АФІ в ліпосоми, необхідність видалення розчинника з препарату, нестандартність складу ліпосом. Крім того, ліпосоми, отримані інжекцією або методом видалення детергенту, відрізняються низькою стабільністю. До переваг методу можна віднести можливість впливати на розмір ліпосом за рахунок температури водного середовища, розчинника, швидкості перемішування та концентрації фосфоліпідів. Для реалізації цього методу ліпідні компоненти та ліпофільні АФІ розчиняють змішуванням органічного розчинника з водою. Потім органічну фазу розбавляють великою кількістю відповідного водного буфера, у результаті чого утворюються невеликі одношарові ліпосоми. На наступному етапі необхідно позбутися органічного розчинника одним з відомих методів: випарювання за допомогою роторного випарника, ліофілізація, діаліз або ультрафільтрація на мембранах. Для отримання ліпосом цим методом найчастіше використовують етанол [36, 37].

На властивості наночастинок впливають різні параметри проведення процесу: швидкості потоку, температура розчинника та водної фази, швидкість перемішування та концентрація ліпідних компонентів [38–40].

**Отримання ліпосом *in situ*.** «*In situ*» розглядається як метод одержання ліпосом, які формуються безпосередньо перед клінічним використанням. АФІ та фосфоліпіди готують у вигляді нерозфасованого розчину з подальшою фільтрацією для стерилізації, наповнення та ліофілізації. У випадку препарату «Мераст» використовуються три компоненти: активний інгредієнт – мурамілтрипептидфосфатидилетаноламін (МТР-РЕ), РОРС) і DOPS при певному співвідношенні (РОРС : DOPS – 7 : 3, МТР-РЕ : фосфоліпіди – 1 : 250). Продукт являє собою суху ліпідну масу з пористою структурою, що забезпечує велику площу поверхні для контакту з навко-



лишнім середовищем. Перед клінічним застосуванням у флакон додають 0,9% фізіологічний розчин і гідратують суху речовину з утворенням мультиламелярних ліпосом з розміром частинок 2,0–3,5 мкм [41, 42]. Температура фазового переходу фосфоліпідів у воді становить близько 5 °С, що дозволяє одержувати ліпосоми *in situ* при кімнатній температурі.

**Екструзія.** Цей процес здійснюється в гомогенізаторах високого тиску, в результаті чого відбувається руйнування великих міцел при пропусканні ліпідної емульсії під високим тиском через спеціальний клапан при температурі вище температури фазового переходу ліпідів, які використовуються у складі ліпосом. Перевагами цього методу є стандартність складу ліпосом, висока продуктивність методу, мінімальне окислення та гідроліз фосфоліпідів, збереження лікарського препарату, стабільність ліпосом. Істотне значення має наявність стандартного промислового обладнання для робіт під високим тиском та одержання препарату в асептичних умовах у закритому режимі, при цьому під час процесу можливий контроль значень температури та тиску [10, 16, 24].

**Метод подвійної емульгації (DepoFoam Platform).** Технологія DepoFoam дозволяє отримати мультивезикулярні ліпосоми (рис. 1.2).

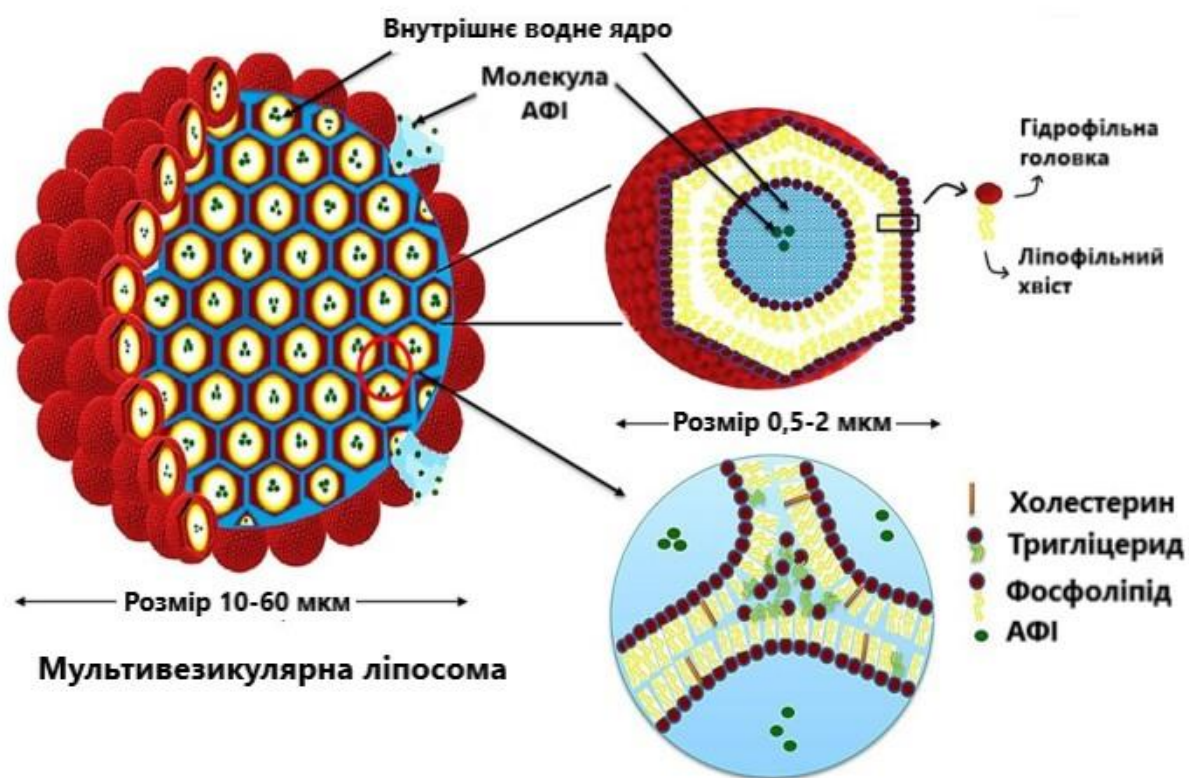


Рисунок 1.2 – Схематичне зображення мультивезикулярних ліпосом [43]

Метод можна описати як ряд послідовних операцій:

- ✓ формування емульсії «вода у маслі»;
- ✓ формування емульсії «вода у маслі у воді»;
- ✓ випарювання органічного розчинника за допомогою вакууму;
- ✓ ультрафільтрація для видалення неінкапсульованого в частинки АФІ, концентрування та заміна зовнішнього розчину [29, 44].

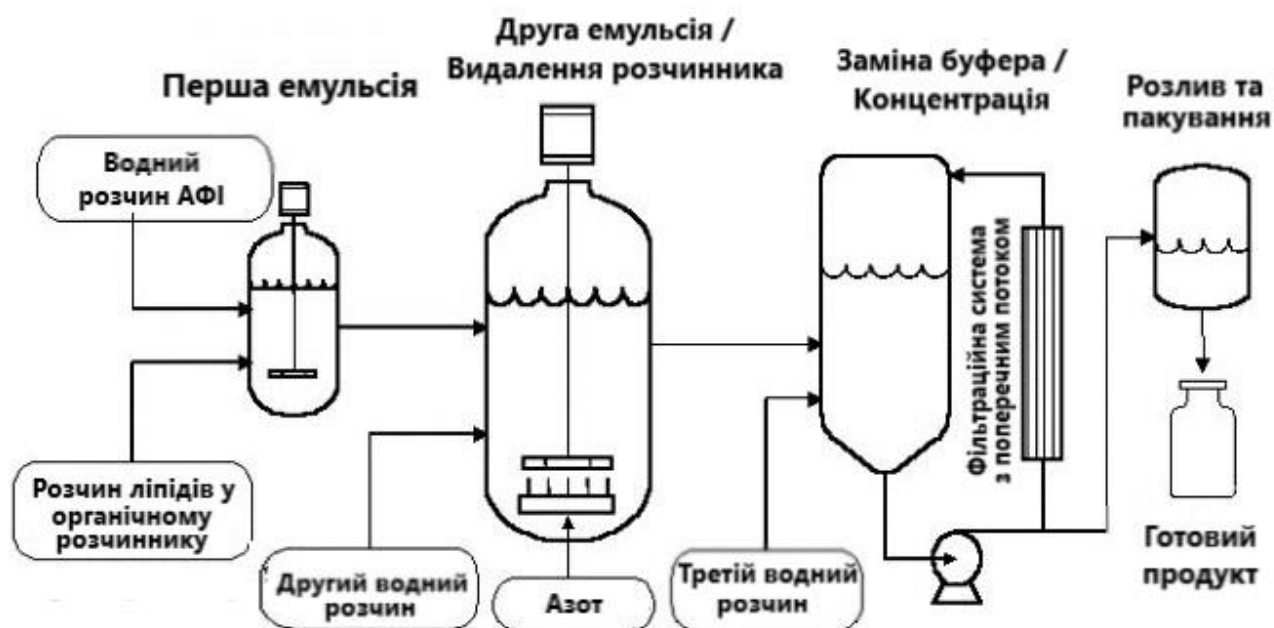


Рисунок 1.3 – Апаратурна схема отримання мультивезикулярних ліпосом за технологією DeroFoam [44]

З використанням даного методу отримано три ліцензовані препарати: «DeroCyt», «DeroDur», «Exparel» (див. Додатки – Табл. 1). До складнощів при отриманні ліпосом методом DeroFoam відносять неможливість стерилізуючої фільтрації через 0,22 мкм через розмір ліпосом, тому всі технологічні етапи отримання мультивезикулярних ліпосом необхідно проводити в умовах асептики.

### 1.3. Ліпіди у складі ліпосомальних препаратів.

Більшість представлених на ринку комерційних ліпосомальних препаратів є уніламельярними везикулами, здатними до пасивного націлювання на уражену ділянку і тривалого циркулювання в організмі. Ми зупинимося на ліпосомальних препаратах, розроблених в Україні у 1989–2021

роках в Україні (див. Додатки – Табл. 2). Препарати «Ліпін» [10, 45, 46], «Ліподокс» [10, 14, 46–50], «Ліюлів» [10, 26], «Ліпофлавіон» [10, 22, 24] ліцензовані в Україні та застосовуються в клініці починаючи з 1992 року. Ряд препаратів (див. Додатки – Табл. 3) пройшли етапи розробки та доклінічного вивчення: ліпосомальний іринотекан [32, 51], ліпосомальний цитохром С [52, 53], «Ліпотакс» – ліпосомальний доцетаксел [10, 32, 34, 54, 55], «Ліпоплат» – ліпосомальний цисплатин – проведено обмежені клінічні випробування [10, 56], ліпосомальний куркумін [4, 5, 57], ліпосомальний коензим Q10 [10, 58–60], ліпосомальний латанопрост [61–64].

Аналізуючи композицію ліпідних компонентів, які використовувались при отриманні ліпосомальних препаратів можна виділити такі ліпіди: ЕРС, DPG, DPPG, PG, PI і холестерин (рис. 1.4).

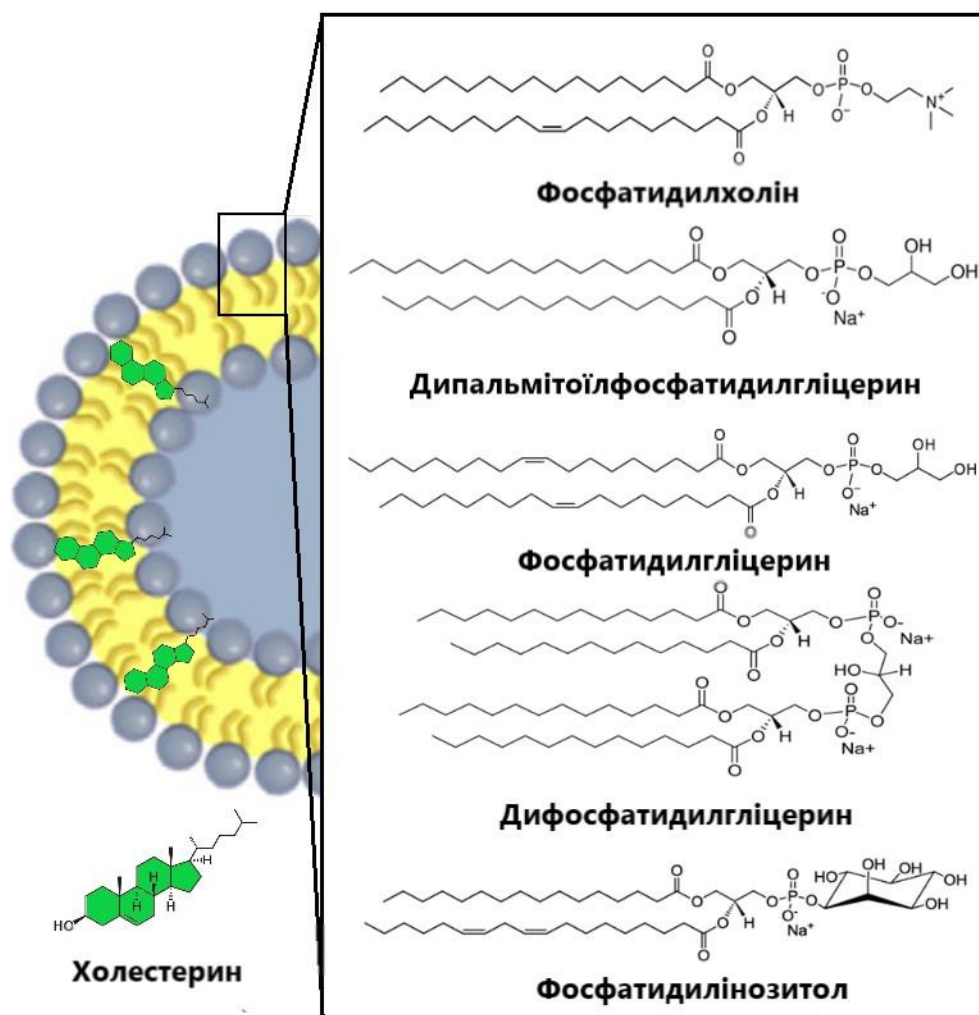


Рисунок 1.4 – Структура ліпідів-компонентів ліпосомальної мембрани [65]

При розробці ліпосомальних препаратів як основний мембраноутворюючий ліпід ми використовували ЕРС. Перевагою природного ЕРС у порівнянні з напівсинтетичними та синтетичними РС, такими як DSPC, DPPC, DOPC та ін., є невисока вартість виробництва. ЕРС представлений сімейством жирних кислот, тому широкий діапазон жирнокислотного складу не забезпечує достатньої стандартності ЕРС. У природному ЕРС, отриманому за раніше розробленою технологією [66], присутні лізофосфатидилхолін (1,0%) та сфінгомієлін (3,0%), очистка від яких призводить до підвищення собівартості продукту за рахунок значного зниження виходу. Можна припустити, що присутній в ЕРС сфінгомієлін здатний впливати на стабільність ліпосомальної структури [67], особливо при використанні кислого середовища з рН 2,0–3,0, яке використовується для отримання ліпосом методом трансмембранного градієнта рН при інкапсуляції гідрофільних АФІ (наприклад, доксорубіцину гідрохлориду або іринотекану гідрохлориду). Варто зазначити, що зразки ЕРС відомих виробників ліпідів, наприклад, фірми Lipoid (Німеччина), також містять аналогічну кількість лізофосфатидилхоліну.

Роль ЕРС у ліпосомах потребує подальшого вивчення. Як приклад варто навести дані, отримані при вивченні ліпосомальної форми латанопросту. Групою дослідників методом ліпідної плівки отримані великі одношарові везикули з DPPC, у бішар яких було інкапсульовано латанопрост. На кроликах з моделлю глаукоми вивчено можливість зниження внутрішньоочного тиску (ВОТ) шляхом кон'юнктивальних ін'єкцій ліпосомального латанопросту. Проведено порівняння ефективності ліпосомального латанопросту ін'єкційно та місцево у вигляді очних крапель. Як контроль використовували краплі з вільною формою латанопросту. Встановлено, що ефект зниження ВОТ при одноразовій субкон'юнктивальній ін'єкції ліпосом зберігається близько 50 днів, а ступінь зниження ВОТ був на рівні зі щоденним застосуванням крапель вільного латанопросту. В результаті досліджень доведено безпечність та ефективність ліпосомальної форми латанопросту [68]. Пізніше ці ж автори використовували для отримання ліпосом з латанопростом природний ЕРС. Використання ліпосомального латанопросту приводило до ефекту зниження ВОТ до 90 днів на відміну від описаних вище ліпосом, отриманих з використанням DPPC. Автори дійшли висновку, що латанопрост стабілізує ліпосоми, виконуючи

роль холестерину. Продукт отримав назву «LipoLat», розмір ліпосом становив  $109 \pm 18$  нм, індекс полідисперсності –  $0,19 \pm 0,004$ , включення латанопросту до ліпосом –  $94 \pm 5$  % [69, 70]. У пілотному дослідженні, у якому прийняли участь 6 пацієнтів з глаукомою, проведено субкон'юнктивальне введення ліпосомальної форми «LipoLat». Вперше показано зниження ВОТ протягом однієї години з  $27,55 \pm 3,25$  мм.рт.ст. до  $14,52 \pm 3,31$  мм.рт.ст. Зниження ВОТ після ін'єкції до 20% зберігалось протягом 3 місяців [71]. Відомо, що раніше були завершені клінічні випробування I та II фази, що підтвердили безпечність та ефективність ліпосомальної форми латанопросту при лікуванні гіпертензії при первинній відкритокутовій глаукомі [72].

В Україні запропоновано композицію оригінального ліпосомального складу латанопросту [61]. Дослідження запропонованої ліпосомальної форми латанопросту на моделі глаукоми на кролях показали безпечність та ефективність препарату для зниження ВОТ [63, 64].

Необхідно також відзначити, що останнім часом ліпосомальний латанопрост «LipoLat» досліджується при лікуванні й інших патологічних станів: алопеції [73], для локального зменшення жирової тканини нехірургічного лікування стеатоблефарону [74].

Напівсинтетичний DPPG був використаний нами при отриманні ряду ліпосомальних препаратів, наприклад, при отриманні комплексу з цитохромом С. DPPG може взаємодіяти з позитивно зарядженим АФІ, наприклад, з цитохромом С, з утворенням стабільного комплексу. Крім того, DPPG, маючи негативний заряд, здатний запобігти агрегації ліпосом [53]. DPPG також використовували при отриманні ліпосомальної композиції з інкапсульованими в бішар ліпофільними АФІ: куркуміном і коензимом Q10 (див. Додатки – Табл. 3). Введення аніонного фосфоліпиду DPPG дозволило не тільки підвищити включення АФІ (на 10–15%) до бішарової структури наночастинки, а й стабілізувати ліпосому [4, 5, 57]. При використанні ліпосомального куркуміну отримані дані, що підтверджують фармакологічну активність ліпосомального препарату, а саме його кардіопротекторні та антиоксидантні властивості [75, 76]. Створення гідрофільної форми куркуміну в ліпосомах, враховуючи високу фармакологічну активність даного АФІ [77–79], дозволяє сподіватися на можливість використання продукту в різних фармакологічних моделях. Використання приро-

дного DPG стабілізувало структуру ліпосомальної композиції, що містить доцетаксел [10, 32, 34, 54, 55].

При отриманні ліпосом, навантажених гідрофільними АФІ – доксорубіцином [10, 14, 46, 48–50] та іринотеканом [32, 51], нами використаний холестерин як компонент ліпідного бішару. Введення холестерину в бішар ліпосом сприяє упаковці ланцюгів жирних кислот, що у свою чергу формує та стабілізує ліпідний бішар. Варто зазначити, що присутність холестерину в наночастинках значною мірою визначає жорсткість мембрани, яка може впливати на включення АФІ у внутрішній водний простір і його вивільнення в організмі. Включення холестерину в мембрану наночастинок з інкапсульованим іринотеканом та доксорубіцином може стабілізувати АФІ у кислому середовищі.

Водночас, при отриманні ліпосом з ліпофільними АФІ (доцетаксел, куркумін та ін.), які включаються в ліпідний бішар, ми не використовували холестерин, оскільки, на нашу думку, включені у фосфоліпідний бішар ліпофільні речовини здатні самостійно стабілізувати мембрану ліпосоми. До таких сполук належать кверцетин, що входить до складу препарату «Ліпофлавіон» [10, 22, 23], який знайшов застосування у кардіології, офтальмології, онкології, та антраль – гепатопротектор, що використовується у складі препарату «Ліолів» [10, 26]. На високу фармакологічну активність ліпосомальних препаратів, які містять кверцетин, вказують й інші автори [80–82].

Вивчено вплив ліпідної композиції на структуру ліпосом та фармакокінетику ліпосомального препарату, навантаженого антрацикліновими антибіотиками та 5-фторурацилом [17]. Показано, що збільшення холестерину в препаратах призводить до збільшення розміру ліпосом, що в свою чергу призводить до зменшення інкапсуляції АФІ та ускладнює процес стерилізуючої фільтрації. Встановлено кумулятивний та пролонгуючий ефект даного ліпосомального продукту та проведено дослідження щодо розподілу протипухлинних компонентів в органах.

Як видно з таблиць 1 і 2 (див. Додатки) у складі ліпосомальних препаратів використані переважно добре відомі АФІ, які добре зарекомендували себе та отримали «нове життя» після надання їм нової форми і нового складу. Як приклад хотілося б розглянути добре відомий вже більше 65 років протигрибковий препарат амфотерицин В (дезоксихолат амфотери-

цину), який з 1958 року почали застосовувати для лікування багатьох інвазивних грибкових інфекцій [83]. Амфотерицин В як протигрибковий препарат застосовується проти грибкових інфекцій та лейшманіозу, він був виділений у 1955 році зі *Streptomyces nodosus*. Препарат виявляє потужний протигрибковий ефект за рахунок зв'язування з ергостерином, що міститься в мембрані клітин гриба [84]. До недоліків цього препарату можна віднести: неможливість прийому продукту хворими з нирковою недостатністю, високу токсичність, зокрема нефротоксичність, і низький терапевтичний індекс.

Для підвищення фармакологічної активності та зниження токсичності створена ліпосомальна форма амфотерицину В – «AmBisome», який представляє собою ліофілізовані невеликі одношарові ліпосоми, що складаються з HSPC, холестерину та DSPG у молярному співвідношенні 2:1:0,8. В одному флаконі міститься: 50 мг амфотерицину В, 52 мг холестерину, 213 мг HSPC, 84 мг DSPG, 0,64 мг  $\alpha$ -токоферолу, 900 мг сахарози та буферні солі для підтримки рН на рівні 7,1 [85, 86]. Холестерин у препараті «AmBisome» може ефективно знижувати зв'язування амфотерицину В з мембранами нормальних клітин. Негативно заряджений DSPG може стабільно зв'язуватися з позитивно зарядженим аміном трегалози. Дисахарид трегалоза запропоновано як мішень для розробки та використання протигрибкових препаратів [87]. Автори підтвердили ідею використання біосинтезу трегалози як потенційної мішені для протигрибкової терапії, зокрема, використання препарату «AmBisome». Ліпосомальна форма амфотерицину В істотно змінює фармакокінетичний профіль АФІ зі збільшенням часу циркуляції та високою експозицією *in vivo*. «AmBisome» накопичується в клітинах системи РЕС таких органів як печінка та спостерігається зниження концентрації «AmBisome» у тканині нирок [88]. Накопичення амфотерицину В у клітинах нирок становить 12,7 мкг/г, тоді як концентрація в нирках антибіотика при введенні в ліпосомальній формі становить 0,87 мкг/г, що свідчить про зниження накопичення амфотерицину В, введеного у складі препарату «AmBisome». При вивченні протигрибкової активності «AmBisome» на мишах інфікованих *Candida auris* з множинною лікарською стійкістю встановлена в 4,5 рази більша протигрибкова активність, ніж у вільного амфотерицину [89].

Припускають, що механізм протигрибкової дії амфотерицину В та «AmBisome» реалізується двома можливими шляхами: через зв'язування ергостеролу та через окисний стрес. Ліки взаємодіють з ліпідним бішаром гриба через його гідрофобні домени, що призводить до утворення пор, які збільшують проникність іонів (K, Ca, Mg), втрати внутрішньоклітинного середовища і подальшої загибелі клітин. Водночас, амфотерицин В може викликати окисний стрес, оскільки може діяти як прооксидант [90]. При використанні «AmBisome» у клініці показано, що препарат має вищий терапевтичний індекс, значно меншу нефротоксичність, тому застосування «AmBisome» можливе у хворих з нирковою недостатністю [10, 91]. «AmBisome» рекомендований для лікування тяжких форм мікозів та лікування лейшманіозу.

Таким чином, ліпосомальні форми відомих АФІ дозволяють використовувати їх для зниження токсичності, підвищення фармакологічної активності, пролонгованості дії, подолання резистентних форм бактерій і пухлин, а також створювати водорозчинні форми гідрофобних ліків.

#### **1.4. Технологічні аспекти одержання ліпосомальних препаратів та включення АФІ.**

Ліпосомальна композиція, що включає ліпідні компоненти та АФІ, значною мірою визначає технологію отримання лікарського препарату. Виробництво розроблених нами ліпосомальних препаратів детально описано у низці робіт [10, 32, 16]. Для одержання ліпосомальних препаратів з ліпофільними АФІ нами використано метод ліпідної плівки з наступною гомогенізацією при високому тиску, стерилізуючою фільтрацією та ліофілізацією. За вказаною схемою були отримані препарати «Ліпін» [23, 45], «Ліпофлавон» [25], «Ліолів» [26], «Ліпотакс» [55], «Латанопрост» [61].

Препарати, які містять гідрофільні АФІ, одержані методом ліпідної плівки, регідратації водної емульсії, гомогенізації високого тиску або ультразвуку, використання методу трансмембранного градієнта рН, стерилізуючої фільтрації та ліофілізації. Таким чином були отримані ліпосомальні форми доксорубіцину гідрохлориду («Ліподокс») [48] та іринотекану гідрохлориду [51]. Неінкапсульовані в наночастинки АФІ видаляли за допомогою використання стерилізуючої фільтрації через каскад мембранних



фільтрів, методами центрифугування, ультрафільтрації або гель-фільтрації препарату. Стерилізуючу фільтрацію проводили на таких етапах: при отриманні стерильних розчинів ліпідних компонентів в органічних розчинниках, розчинів кріопротекторів та буферних розчинів, фільтрації готового препарату. Крім цього, низку стадій здійснювали в умовах асептики [10]. Ліофілізацію проводили з використанням розчинів кріопротектора – лактози чи трегалози. Встановлено, що фізико-хімічні характеристики ліпосомальних препаратів залежать від таких факторів процесу отримання: тиску при гомогенізації, інтенсивності ультразвуку, температури проведення процесу, концентрації ліпідів, кількості циклів і т.д. Навіть незначні відхилення від встановлених регламентних норм призводять до зміни властивостей ліпосомальних зразків. Водночас добре відомо, що розмір ліпосом, їх заряд, окисленість жирних кислот визначають їх фармакологічні властивості, що насамперед пов'язано зі зміненою фармакокінетикою при введенні в організм. Вивчено вплив режимів ліофілізації на стабільність фізико-хімічних показників ліпосомальних препаратів. На властивості продукту також впливають структура та властивості АФІ [10, 32].

### **1.5. Стандартизація та контроль ліпосомальних препаратів.**

Особливу увагу слід приділяти стандартизації та контролю ліпосомальних препаратів, які містять різну композицію ліпідів та АФІ. Контроль ліпосомальних композицій здійснювали відповідно до міжнародних [92] та національних [93, 94] вимог. При розробці ліпосомальних препаратів ми виходили з визначення трьох груп показників [95]:

- 1) показники, які характеризують ідентифікацію та кількість індивідуальних компонентів препарату: АФІ, ліпідів (ЕРС, холестерин, аніонних фосфоліпідів), кріопротектора;
- 2) показники, які характеризують готову форму препарату (стерильність, величина рН, аномальна токсичність, пірогенність (ендотоксини));
- 3) показники, які характеризують властивості ліпосом (включення АФІ в ліпосоми, розмір і заряд ліпосом та ін.).

Випробування мають стосуватися тих властивостей продукту, які схильні до змін при зберіганні і можуть впливати на якість готового пре-

парату, причому методи кількісного визначення мають дозволяти характеризувати стабільність. Так, повинні бути ідентифіковані і вказані граничні кількості утворених домішок, наприклад, для ЕРС – лізопродукти або вільні жирні кислоти, для АФІ – домішки і продукти деградації. При розробці ліпосомальних препаратів підтверджували ідентичність якісного та кількісного складу активної субстанції після ліофільного висушування та подальшої регідратації зразків ліпосом.

При отриманні ліпосом необхідно враховувати ряд найважливіших факторів, що визначають специфічність дії препарату, його ефективність і нешкідливість. Склад і технологія одержання ліпосом значною мірою визначає однорідність та розподіл розмірів наноструктур (індекс полідисперсності, або PDI) та дзета-потенціал [96]. Значення PDI менше 0,3 сприяє гомогенності та стабілізації ліпосом. Стабільність ліпосом також оцінюють за величиною дзета-потенціалу. Дзета-потенціал з величиною більше +30 мВ і менше –30 мВ за рахунок високого електростатичного відштовхування вказує на стабільність ліпосом. Нейтральні наночастинки характеризуються меншою стабільністю і здатні до агрегації. Крім того, необхідно враховувати вплив дзета-потенціалу на поведінку ліпосом в кров'яному руслі і можливість їх взаємодії з тканинами організму і розпізнавання клітин [97]. Наприклад, катіонні ліпосоми інтенсивніше поглинаються клітинами у порівнянні з аніонними ліпосомами за рахунок негативно зарядженої клітинної мембрани. Водночас необхідно враховувати, що заряджені ліпосоми демонструють велику ефективність інкапсуляції АФІ з протилежним зарядом.

Таким чином, основним завданням ліпосомальної *drug delivery system* є збільшення біодоступності та ефективності АФІ. Ліпідна композиція визначає структуру та фізико-хімічні властивості ліпідної мембрани, механізм та ступінь включення АФІ до ліпосомальної наночастинки, що кардинально впливає на фармакологічну ефективність цієї *drug delivery system*. Склад ліпосомального препарату (як ліпіди, так і АФІ) має найбільший вплив на вибір технологічних методів отримання ліпосом та основних контрольних показників готового продукту.

## 2. ЛІПОСОМАЛЬНІ ВАКЦИНИ ТА АД'ЮВАНТИ

Протягом останніх років активно розвивається напрямок використання наночастинок для отримання нових лікарських форм (рис. 2.1). Одними з перспективних наночастинок є штучні мембрани – ліпосоми [98–100]. Ліпосомам притаманні унікальні властивості, зумовлені їх регульованими нанорозмірами, великою площею поверхні, підвищеною реактивністю та можливістю модифікації [11, 16, 101].

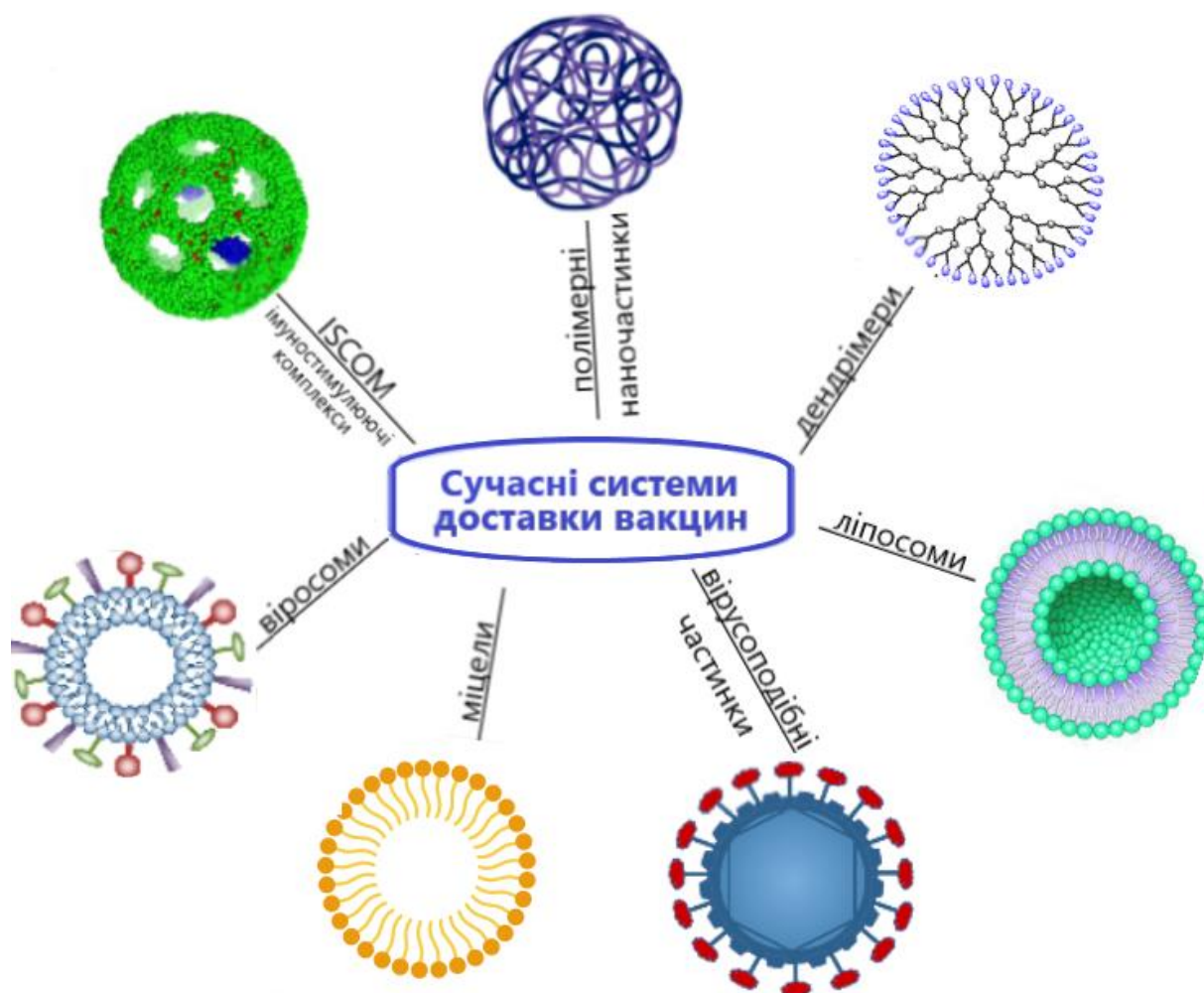


Рисунок 2.1 – Сучасні системи доставки вакцин [102]

Сьогодні важко уявити сучасну медицину, фармакологію та імунологію без ліпосомальних лікарських препаратів. До складу ліцензованих ліпосомальних форм інкапсульовано антибіотики, гормони, антиоксиданти, цитостатики, офтальмологічні та інші АФІ [10, 103]. Ліпосомальні наночастинки мають низку переваг [101, 104–106]: захищають клітини організму від токсичної дії АФІ; пролонгують дію введеного в організм лікарського засобу; захищають АФІ від деградації; сприяють прояву орієнтованої специфічності за рахунок селективного проникнення з крові в тканини; змінюють фармакокінетику лікарських препаратів, підвищуючи їхню фармакологічну ефективність; дозволяють створити водорозчинну форму ряду ліпофільних АФІ, збільшуючи їхню біодоступність. Ліпосоми можуть нести АФІ у водній фазі, всередині ліпідного бішару або експонувати на поверхні наночастинки, що може приводити до різних результатів його впливу на організм.

У зв'язку з викладеним вище стає зрозумілим інтерес, який виник до ліпосом як до перспективних ад'ювантних компонентів. Серед основних вимог до ад'ювантів – здатність посилювати імунну відповідь, розщеплюватися та виводитися з організму. Ліпосоми повною мірою відповідають цим вимогам. Ліпосоми на основі природних або синтетичних фосфоліпідів ЕРС, СПС, РІ, РS, ДОРЕ та ін. з певною кількістю природного холестерину легко біодеградують та нешкідливі для організму. Крім того, методи очищення ліпідів дозволяють отримувати високоочищені компоненти, в яких кількість домішок не перевищує 2–10 %, причому ці домішки є також переважно фосфоліпідної природи. Компоненти ліпосом мають бути апірогенні та нетоксичні. Ліпосоми знижують токсичність вбудованих у них антигенів і ад'ювантів, мають хорошу біосумісність.

Протягом 40 років проводяться роботи зі створення ліпосомальних форм вакцин та ад'ювантів. Проведено роботи зі створення ліпосомальних вакцин проти туберкульозу [107, 108], сказу [109–111] та інших захворювань [107–111].

Проведено дослідження залежності впливу ліпідного складу ліпосом, які містять ЕРС, холестерин, DPG, РS та РІ, на їхню ад'ювантну активність при використанні як антигену анатоксину *Clostridium oedematiens novyi*. Показано, що аніонні ліпосоми, що містять анатоксин *C. oedematiens novyi*, виявляють більшу імуногенність, ніж ліпосоми тіль-

ки з ЕРС та холестерину [112]. Продемонстровано ефективність використання ліпосомальної форми правцевого анатоксину, на основі ЕРС та холестерину [113–115]. Показано, що ліпосомальні форми соматичних антигенів *Bordetella pertussis* та *Corynebacterium diphtheriae* викликають розвиток специфічного імунітету при пероральному введенні [116].

Проведено роботи з використання гангліозидів як імуномодуляторів та ад'ювантів з метою отримання протипухлинних та противірусних препаратів, зокрема вакцин [117, 118]. Ліпосоми, отримані з ЕРС, які містять комплекс полісіалогангліозидів, виділених з мозку *Raja clavata* (морська лисиця), вводилися внутрішньовенно мишам, зараженим рекомбінантним штамом грипу F94, отриманим у результаті схрещування лабораторного штаму A/PRB/94 з вірусом грипу А (штам Філіпіни 2/82). Групі тварин тричі вводили ліпосоми з ЕРС. Показано, що в експериментах на мишах лінії Balb/c при грипозній пневмонії середньої тяжкості, а також при важкій формі пневмонії, викликаній вірусом грипу, вдалося досягти зниження летальності та одужання тварин, незважаючи на широке ураження легеневої тканини. Автори припускають, що в процесі одужання брали участь специфічні імунологічні механізми, про що свідчить імунологічна пам'ять, що зберігалася протягом 2 місяців після першого зараження і подальшого введення препарату тваринам [119]. Встановлена ефективність ліпосомальної вакцини, що містить гангліозиди, наприклад, GM3, для стимуляції Т-клітинної імунної відповіді [120–122]. Запропоновані протипухлинні ліпосомальні вакцини для лікування раку простати [123–126].

За останні роки опубліковано сотні робіт, присвячених ліпосомальним формам ад'ювантів та вакцин, у тому числі й оглядових матеріалів [126–128]. Даний розділ присвячений огляду та обговоренню матеріалів, що стосуються переважно ліцензованих ліпосомальних вакцин.

## 2.1. Віросомальні вакцини.

**Віросома** являє собою ліпосомальну наночастинку, на поверхні якої закріплені поверхневі антигени вірусу. Зовнішня поверхня віросоми схожа на вірусну частинку з поверхневими білками-антигенами, але віросома не містить генетичний матеріал вірусу (ДНК або РНК). Подібно до вірусів,

віросоми швидко захоплюються шляхом опосередкованого рецепторами ендцитозу.

Швейцарська фармацевтична компанія Berna Biotech Ltd. випускає віросомальні вакцини проти грипу «Inflexal V» та гепатиту А «Eраxal». Фосфоліпідний склад наночастинок представлений DOPC і DOPE у співвідношенні 75 : 25.

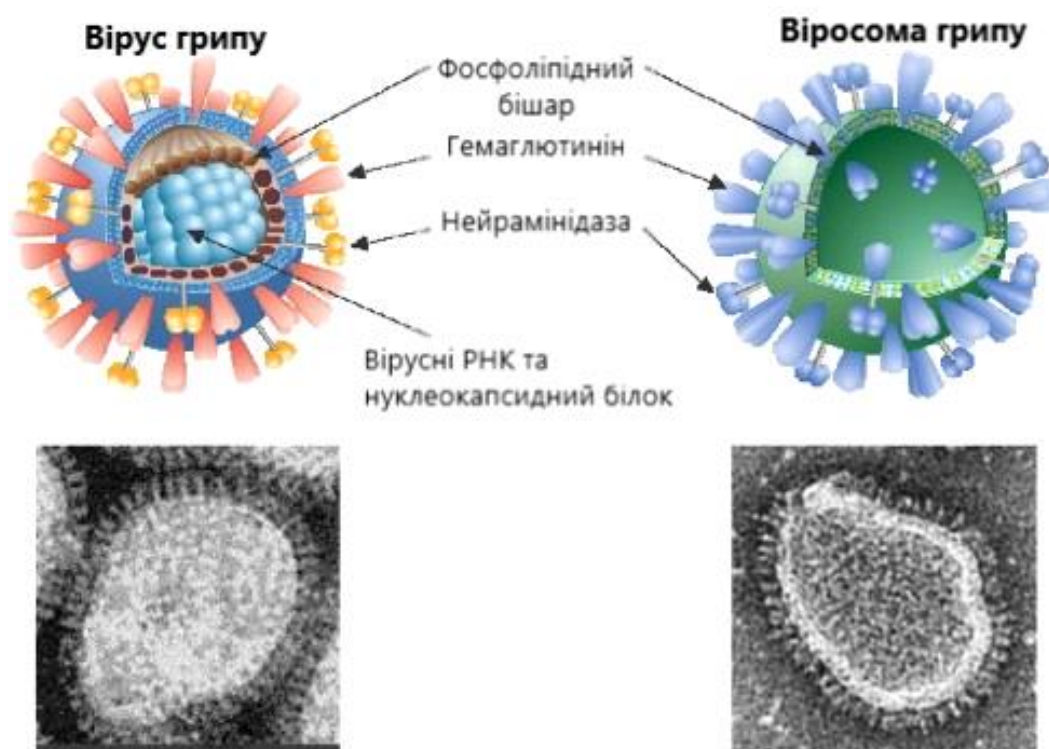


Рисунок 2.2 – Схематичне зображення віросомальної вакцини проти грипу [129]

**Вакцина проти гепатиту А «Eраxal».** Спроби отримання вакцин проти різних типів гепатиту було розпочато у 90-х роках ХХ століття. Запропоновано ліпосомальні препарати проти гепатиту В [130], гепатиту А [131], гепатиту С [132] гепатиту Е [133]. Фірма Лірохеп розробила першу у світі вакцину для профілактики гепатиту Е, яка містить рекомбінантний білок гепатиту Е в ліпосомах, отриманих за відомою технологією Imuxep.

Авторами [130] отримана ліпосомальна вакцина проти гепатиту В, в яку був інкапсульований рекомбінантний поверхневий антиген гепатиту В (HBsAg) розміром 22 нм. Ліпосоми отримували з DMPC і DMPG у молярному співвідношенні 9 : 1. При порівнянні вільного HBsAg, ліпосомальної вакцини і HBsAg, адсорбованого на гелі гідроксиду алюмінію, встановле-

но, що ліпосомальний препарат приводив до вищого рівня гуморальної відповіді – титру специфічних антитіл.

В даний час єдиною ліпосомальною (віросомальною) вакциною для профілактики гепатиту є вакцина «Ераxal». «Ераxal» – вакцина для профілактики гепатиту А, яка була ліцензована в 1994 році [134, 135]. Розмір наночастинок становить близько 150 нм. Одна доза вакцини містить не менше 24 МО інактивованого вірусу гепатиту А (штам RG-58), вирощеного на культурі диплоїдних клітин людини (MRC-5) та інактивованого формальдегідом [134].

До складу віросом як ад'юванти входять вірусні глікопротеїни – гемаглютиніни (10 мкг), виділені з інактивованого вірусу грипу А (штам Сінгапур 61/86 H1N1). В одній дозі препарату міститься 100 мкг нейтральних фосфоліпідів: 80 мкг DOPC та 20 мкг DOPE у молярному співвідношенні 75 : 25. Зазначені ліпіди забезпечують поглинання антигену вірусу гепатиту А імунокомпетентними клітинами, забезпечуючи його імуногенність.

Вакцина «Ераxal» отримана з використанням методу видалення детергенту [136]. Перевагою цього методу є відносна простота технології, невеликий розмір ліпосом, однорідність продукту за розміром частинок [136]. Вакцина демонструє високу імуногенність та нешкідливість. При вивченні рівня захисних антитіл методом імуноферментного аналізу у крові імунізованих тварин виявлено, що сероконверсія на 14-ий та 28-ий день становила 97% та 98%, відповідно. Після другої ін'єкції ліпосомальної вакцини рівень сероконверсії становить 100% [134]. Застосування вакцини «Ераxal» приводить до високої гуморальної та клітинної імунної відповіді.

**Вакцина проти грипу «Inflexal V».** Грип та його ускладнення дають високу захворюваність і смертність у людей похилого віку. У людей молодого віку імуногенність при вакцинації забезпечує 70–90% захисту, а у літніх людей – близько 50%. Сьогодні існують різні вакцин проти грипу як ліцензовані, так і ті, що знаходяться на різних стадіях розробки та клінічного вивчення: живі ослаблені, інактивовані з цілісним вірусом, спліт-віріонні, субодиничні, вакцини з вірусним вектором (аденовірусом, аренавірусом, вірусом хвороби Н'юкасла, вірусом герпесу), вакцини на основі ліпосом (віросоми).

Дослідження ліпосомальних вакцин проти грипу проводяться протягом багатьох років [137–140]. Вивчення нешкідливості та імуногенності комерційних тривалентних протигрипозних вакцин проводили на двох групах хворих: першій групі вводили вакцину, яка містить виділений з вірусу гемаглютинін, а другій групі – вакцину, отриману шляхом введення гемаглютиніна в мембрану ліпосом, на основі природного ЕРС. Обидві вакцини викликали достовірне збільшення середнього титру протигемаглютинінових антитіл проти всіх трьох компонентів вакцини через місяць після імунізації. Однак, пацієнти, імунізовані ліпосомальною формою вакцини, демонстрували більш ніж чотириразове підвищення титру антитіл проти штамів Сінгапур та Пекін вірусу грипу порівняно з неліпосомальною вакциною. Відсоток хворих, у яких титр антитіл при імунізації ліпосомальною формою досягав захисного рівня, був також достовірно вищим. Особливе клінічне значення мав той факт, що у 68,4% осіб, імунізованих ліпосомальною вакциною, отримано захисний рівень антитіл проти всіх трьох компонентів вакцини, на відміну від 38% при вакцинації звичайною вакциною.

Запропоновано ліпосомальну тривалентну вакцину, яка містить по 15 мкг гемаглютиніну кожного вірусного штаму та 33 мкг інтерлейкіну-2 людини [139]. Проведено вивчення імуногенності та нешкідливості запропонованої ліпосомальної вакцини при порівнянні зі стандартною ліцензованою вакциною. Вакцину вводили внутрішньом'язово людям похилого віку (середній вік – 80 років). При вивченні рівня захисних антитіл методом імуноферментного аналізу встановлено наявність захисного титру антитіл у 33% людей при використанні стандартної вакцини та у 48% при імунізації ліпосомальною формою вакцини. Дослідження показали нешкідливість обох вакцин, тоді як імуногенність була вищою у ліпосомального зразку. Причому антитіл до інтерлейкіну-2 не виявлено.

Багаторічні дослідження ліпосомальних вакцин, які містять вірус грипу або його високоочищені компоненти, привели до створення ліпосомальної вакцини для профілактики грипу «Inflexal V» виробництва Berna Biotech, Швейцарія, яка була ліцензована у 1997 році [135]. «Inflexal V» являє собою полівалентну ліпосомальну (віросомальну) інактивовану вакцину проти грипу, до складу якої входять поверхневі антигени трьох штамів вірусу грипу: двох штамів вірусу грипу типу А і одного штаму типу В



– субодиниці гемаглютиніну і нейрамінідази [141]. Вірус розмножують на культурі курячих ембріонів, після чого з них виділяють і очищують гемаглютинін. Препарат являє собою ліпосоми розміром близько 150 нм. В одній дозі вакцини міститься по 15 мкг гемаглютиніну кожного штаму, а також нейтральні ліпіди – 80 мкг DOPC і 20 мкг DOPE у молярному співвідношенні 75:25 [129, 142]. Вакцина «Inflexal V» отримана з використанням методу видалення детергенту [136, 143]. Переваги цього методу викладені вище. Хворі добре переносять введення вакцини. Встановлено, що застосування вакцини «Inflexal V» забезпечує високу гуморальну і клітинну імунну відповідь. Вакцина «Inflexal V» має імуногенність у 4 рази більше, ніж звичайні протигрипозні вакцини [144].

**Ліпідний склад віросом.** Використання DOPC (неламелярний ліпід) та DOPE (ламелярний ліпід) у складі вакцини «Inflexal V» і «Ерахал» обґрунтовано, оскільки ці ліпіди входять до складу природної клітинної мембрани.

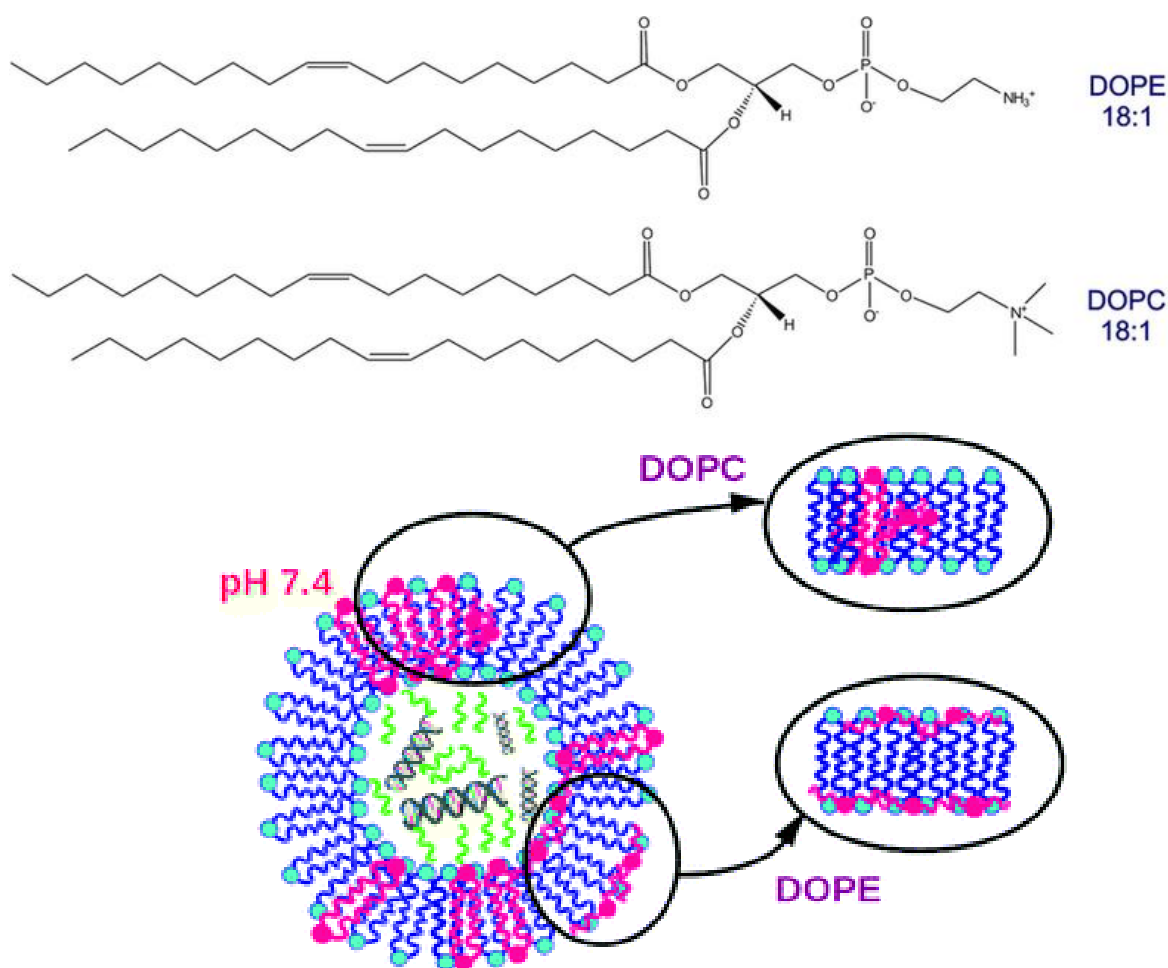


Рисунок 2.3 – Структурні формули DOPC та DOPE [148]

Дуже показовою є робота [145], присвячена вивченню модельної суміші DOPC та DOPE, взятих у співвідношенні та кількості аналогічних складу цих вакцин. При визначенні сумарної енергії (енергії Ван-дер-Ваальса та енергії електростатичної взаємодії) показано, що розроблена еліптична ліпосомальна структура має високу стабільність. Результати дослідження підтвердили, що фосфоліпіди DOPC та DOPE за рахунок їх геометричної форми та фізико-хімічних властивостей мають тенденцію до утворення двошарової ліпосомальної мембрани. Дзета потенціал модельної суміші DOPC та DOPE при концентрації 50 мг/мл становив мінус 20,78 мВ [146]. Роль вказаних ліпідів при утворенні ліпосом різна: DOPE сприяє формуванню сильно викривлених інвертованих гексагональних структур, тоді як DOPC сприяє утворенню більш стабільної ламілярної структури [147].

**Використання віросом супроводжується рядом переваг [149]:**

- ✓ висока ефективність антитілоутворення та тривалість їх знаходження в організмі;
- ✓ забезпечення конформаційної стабільності антигену;
- ✓ захист антигену від деградації;
- ✓ безпечність та придатність для всіх груп населення;
- ✓ можливість імітації віросомами вірусних частинок.

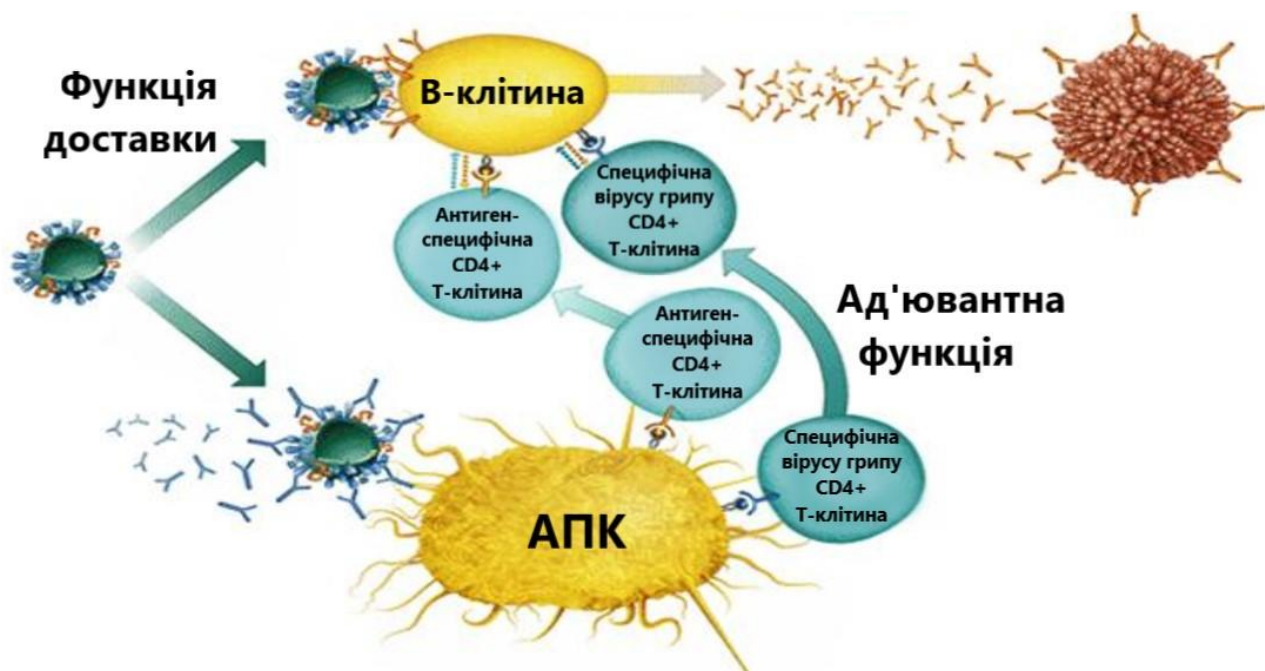


Рисунок 2.4 – Принцип дії віросомальної вакцини [150]: АПК – антигенпрезентуюча клітина

**Механізм дії віросом** можна представити наступним чином:

- ✓ доставка інкапсульованого у віросоми антигену в цитозоль антигенпрезентуючих клітин і згодом викликати відповіді цитотоксичних Т-лімфоцитів;
- ✓ фагоцитоз віросом імунокомпетентними клітинами;
- ✓ активація CD4+-хелперів для вироблення цитокінів;
- ✓ цитокіни стимулюють клітини для вироблення антитіл до антигену вірусу.

На думку дослідників імуногенність віросом можна підвищити включенням до їх складу відповідних ад'ювантів [115]. Розглядається можливість активації сигнальних шляхів за допомогою Toll-подібних рецепторів (TLR), яка є важливою для захисту від зараження вірусом грипу. Введення тваринам агоністів TLR3, TLR9, TLR7 і TLR7/8 призвело до інгібування вірусу та підвищення виживання мишей. Комбінації синтезованих лігандів TLR4, TLR7, TLR7/8 були ефективними ад'ювантами для рекомбінантних вакцин проти грипу [152]. Захисний рівень антитіл у крові зазвичай досягається через 2–3 тижні після вакцинації, а тривалість поствакцинального імунітету становить 6–12 місяців [152]. Віросоми біодеградують, нетоксичні та не призводять до появи антифосфоліпідних антитіл, що було підтверджено імуноферментним методом.

## **2.2. Вакцини на основі ад'ювантної системи AS01.**

Перспективним є використання ліпосом як контейнерів для ад'ювантів різної структури. Одним з таких ліпосомальних ад'ювантів є ад'ювантна система AS01 розроблена 20 років тому і являє собою ад'ювант на основі ліпосоми, до складу якої входить два імуностимулятори – монофосфорилліпід А і сапонін (QS-21) [153].

Ліпід А (3-О-дезацил-4'-монофосфорилліпід А) є детоксифікованим синтетичним похідним виділеного з грамнегативних бактерій *Salmonella minnesota* ліпополісахариду, який зберігає ад'ювантну активність, але при цьому має пірогенність та мінімальну токсичність. Висока ад'ювантна активність ліпиду А встановлена численними дослідженнями протягом останніх 20 років [154–156]. Однак застосування вакцин, у складі яких як ад'ювант використовується ліпід А, гальмується його високою пірогенніс-

ттю. Введення ліпиду А до складу ліпосом значно зменшує пірогенність ліпополісахариду. Так, ліпід А, виділений з *S. minnesota* R 595 та інкапсульований у ліпосому, виявляв меншу пірогенність порівняно з вільною формою ліпиду А: непірогенна доза ліпиду А у вільному стані становила 0,32 мкг/кг маси кролика, а у ліпосомальній формі вдавалося вводити 8,1 мкг/кг маси кролика без прояву пірогенної реакції та токсичності. Другим компонентом системи AS01 є молекула сапоніну QS21 виділеного з екстракту *Quillaja saponaria* (мильне дерево). Обидва компоненти введені до складу ліпосоми, що складається з DOPC та холестерину в фосфатному буфері.

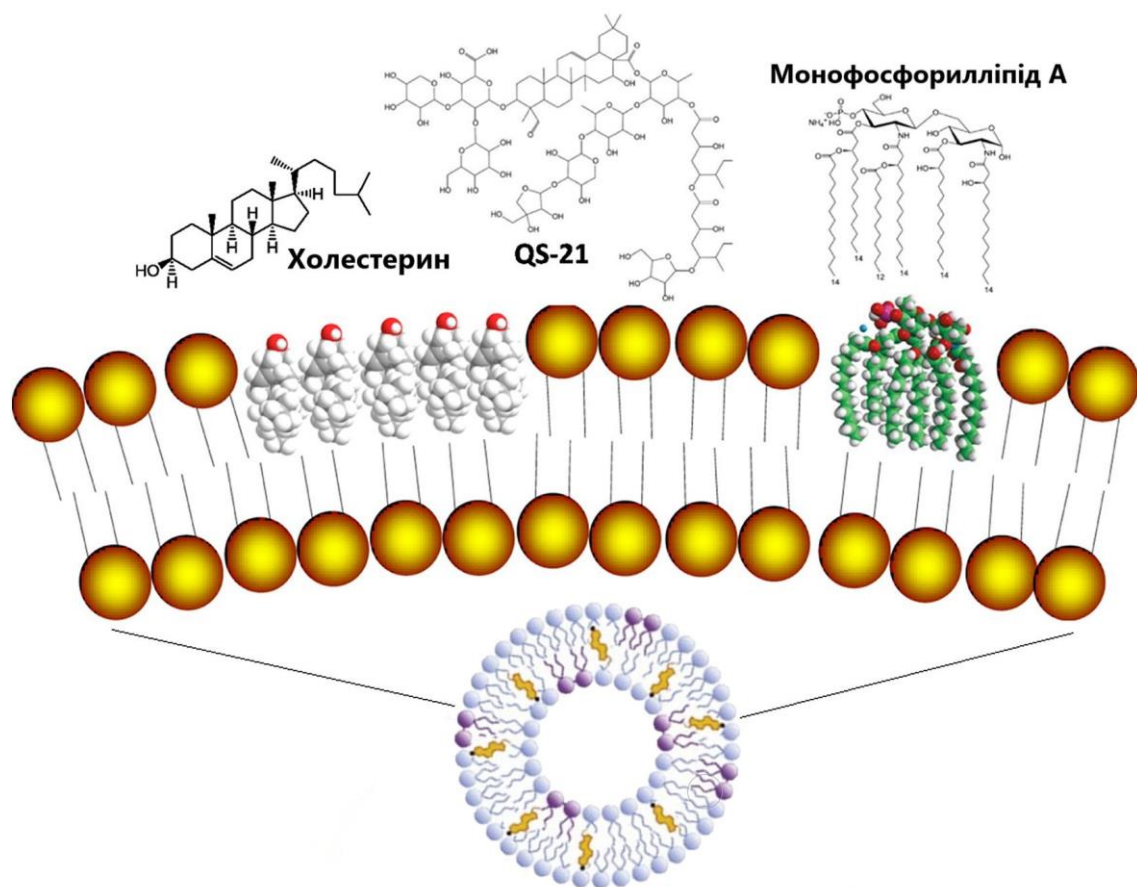


Рисунок 2.5 – Ліпідний склад ад'ювантної системи AS01 [157]

На ринку представлені дві ліцензовані вакцини на основі ліпосомальної ад'ювантної системи AS01, які випускаються компанією GlaxoSmithKline (Бельгія): «Mosquirix» проти малярії та «Shingrix» проти оперізуючого лишая.

**Вакцина проти малярії «Mosquirix».** Сьогодні у світі проходять різнопланові дослідження щодо створення вакцин проти малярії різного складу [158]. Проведено вивчення імуногенності ліпосомального антигену малярійного плазмодія на мавпах, у якому як ад'ювант використовували систему AS01. Ліпосомальна рекомбінантна вакцина проти малярії «Mosquirix» на основі білка була схвалена ВООЗ у жовтні 2021 року (розробник – Армійський НДІ Волтера Ріда, США, виробник – GlaxoSmithKline, Бельгія). Ефективність захисту від малярійного плазмодія становить від 26 до 50% для немовлят та дітей молодшого віку. Для отримання антигену використовувалися гени центральної повторюваної області та Т-клітинного епітопу прееритроцитарного циркумспорозітного білка малярійного паразиту *Plasmodium falciparum*, генетично злитих з поверхневим антигеном вірусу гепатиту В – HBsAg. Ці два білкові компоненти збираються в розчинні вірусоподібні частинки на основі ліпосом з AS01, подібні до зовнішньої оболонки вірусу гепатиту В. Індукція високих титрів антитіл запобігає розвитку інфекції, яка полягає у зараженні печінки паразитом *P. falciparum*.

Малярія викликається паразитами *Plasmodium* та передається від людини самкам комарів *Anopheles*. Вакцини, які блокують передачу паразитів хазяїну (людині) були запропоновані як стратегія зменшення поширення хвороби та націлені на запобігання передачі паразитів іншим людям після укусів комарами неінфікованих, але імунізованих вакциною людей. Господар повинен виробляти циркулюючі антитіла, які при попаданні в середню кишку комара блокують запліднення гамето та/або запобігають розвитку ооцитів. Вакцина викликає тривале підвищення рівня функціональних антитіл в організмі господаря, а передача антитіл комарам під час їжі з кров'ю зазвичай вважається найбільш життєздатним функціональним механізмом вакцинації проти малярії [159–162].

**Вакцина проти оперізуючого лишая «Shingrix».** Значним успіхом вакцинології можна вважати вакцину «Shingrix». Вакцина «Shingrix» (виробник GlaxoSmithKline, Бельгія) спрямована на профілактику оперізуючого лишая і являє собою суспензію для внутрішньом'язового введення, що складається з ліофілізованого рекомбінантного антигену ліпопротеїну Е вірусу вітряної віспи, який перед застосуванням відновлюється суспензією AS01, яка виконує функцію імунологічного ад'юванта. Ліпопротеїн Е

є найпоширенішим глікопротеїном, який виявляється на клітинах, інфікованих вірусом вітряної віспи. Він є основною мішенню для вірусоспецифічних антитіл та Т-клітин. Антиген являє собою очищену усічену форму глікопротеїну, який був усічений до 546 амінокислот шляхом вставки стоп-кодону перед трансмембранною послідовністю, щоб забезпечити утворення розчинної секретованої молекули, яка реагує на моноклональні та поліклональні антитіла до нативного білка. Усічений глікопротеїн експресується у клітинах яєчників сирійського хом'ячка.

У складі вакцини «Shingrix» використовується ад'ювантна система AS01, обидва компоненти якої (ліпід А і сапонін QS21) введені до складу ліпосоми, що складається з DOPC та холестерину в фосфатному буфері. Вакцина випускається у двох флаконах: в одному знаходиться суспензія ад'юванта (50 мкг ліпиду А; 50 мкг QS21, 1 мг DOPC, 0,25 мг холестерину, 0,160 мг натрію дигідрофосфату, 0,54 мг калію дигідрофосфату); у другому – ліпопротеїн Е у кількості 50 мкг. Зберігання препарату рекомендовано при 2–8 °С. Як допоміжні компоненти використовують 20 мг сахарози (стабілізатор), 4,385 мг натрію хлориду і 0,08 мг полісорбату 80. Перед використанням суспензія ад'юванта вводиться у флакон з антигеном (після приготування суміш може зберігатися тільки протягом 6 годин при 2–8 °С). Вакцина продемонструвала високі протективні властивості при захисті від оперізуючого лишая [163, 164].

**Механізм дії ад'ювантної системи AS01.** Ад'ювант AS01 у вигляді ліпосом містить:

- ✓ ліпід А, який діє як агоніст рецептора TLR4, активізуючи Т-хелпери 1-го типу для продукції цитокінів (інтерферон- $\gamma$ , інтерлейкін-2 і фактор некрозу пухлини TNF- $\alpha$ ), які пов'язані з опосередкованим фагоцитозом захистом від внутрішніх інфекційних агентів,
- ✓ фракцію QS21, яка ініціює активацію дендритних клітин для індукції імунних відповідей опосередкованих Т-клітинами [165, 166].

Таким чином, ліпід А як агоніст TLR4 індукує активацію системи вродженого імунітету при зв'язуванні з цим рецептором, стимулюючи транскрипційну активність ядерного фактора NF- $\kappa$ B, що призводить до посиленого синтезу протизапальних цитокінів та інтерферону- $\gamma$ , а далі –

до розвитку імунної відповіді Т-хелперів 1-го типу. Крім того, ліпід А підвищує продукцію хемокинів. Ад'ювант AS01 ефективний при стимуляції імунної відповіді опосередкованої CD4<sup>+</sup>-Т-клітинами і є перспективним ад'ювантом для включення до вакцин проти різних вірусів.

Вивчення механізму дії сапоніну QS21 дозволяє зробити висновок, що його стимулююча дія впливає на розвиток гуморальної та клітинної імунної відповіді опосередковано [156]:

- ✓ через вплив на антиген-презентуючі клітини та Т-клітини, що приводить до активації синтезу цитокінів Т-хелперів 1-го типу та сприяє елімінації внутрішньоклітинних патогенів;
- ✓ продукцію важливих для розвитку відповіді Т-хелперів 1-го типу цитокінів інтерлейкіну-1 $\beta$ , інтерлейкіну-18,
- ✓ синергітичний ефект ліпиду А і QS-21, інкапсульованих у ліпосоми, що виявляється в ранній відповіді інтерферону- $\gamma$ , що сприяє підвищенню імунної відповіді.

### **2.3. Імуностимулюючі комплекси ISCOM.**

Особливу роль при виробництві ряду вакцин відіграють імуностимулюючі комплекси (ISCOM). У вакцинах для ветеринарії використовуються кілька ад'ювантів та антигенпрезентуючих систем, включаючи сапоніни та імуномодулюючі комплекси ISCOM. Сапоніни сприяють посиленню клітинних імунних відповідей на відміну від інших ад'ювантів, таких як гідроксид алюмінію, який посилює гуморальну імунну відповідь.

В основі отримання комплексу ISCOM лежить об'єднання антигену та ад'юванту у спільні частинки. Ці частинки представлені сферичними утвореннями діаметром близько 40 нм. Частинки ISCOM високостабільні за рахунок взаємодії сапонінів та холестерину. У такій структурі сапоніни є досить стабільними на відміну від вільних сапонінів, які легко розкладаються. ISCOM є гомогенною популяцією, що містить сапоніни, холестерин і PC [168].

Ідея використання ISCOM полягає у спільній доставці антигену та ад'юванту до антигенпрезентуючих клітин. У клітині антиген і ад'ювант розподіляються по ендосомним та цитозольним компартаментам, що у свою чергу супроводжується ефектом індукції Т-хелперів та цитотоксичних Т-

клітин. На відміну від більшості ад'ювантів ISCOM при введенні не призводить до утворення депо та повільного вивільнення, а комплекс антиген / ад'ювант швидко видаляється з місця ін'єкції.

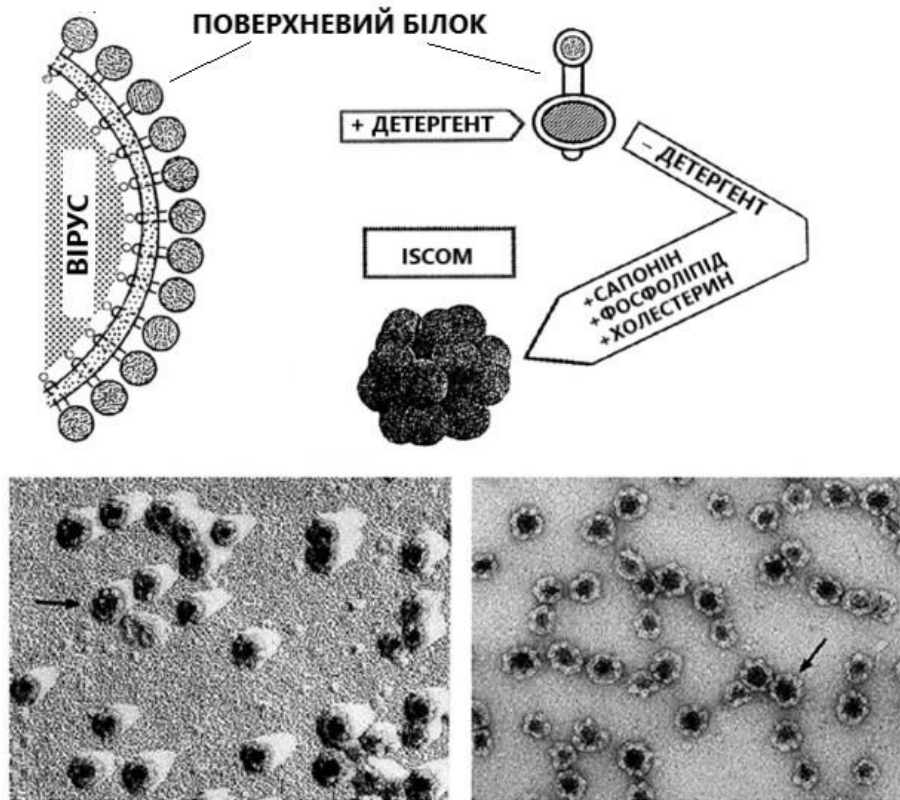


Рисунок 2.6 – Зображення ISCOM, отримані методом електронної мікроскопії [167]

Інтерес представляє вакцина проти малярії на основі Pfs25 білка, який є ефективним білком-мішенню для блокування передачі малярії [169]. Запропонована вакцина являє собою білкові наночастинки, в яких антиген Pfs25 генетично злитий з доменом олігомеризації IMX313. Білок Pfs25 представлений послідовністю зі штаму *P. falciparum* 3D7 з трьома мутантними потенційними сайтами N-глікозилювання. Рекombінантний білок експресується і секретується за допомогою системи експресії *Pichia pastoris*. Використання ISCOM-технології дозволяє отримати наночастинки розміром 40 нм, що містять антиген, сапоніни, DOPC та холестерин.

В даний час проводяться роботи зі створення вакцин з використанням матриці ISCOM для отримання препаратів наступного покоління для профілактики інфекційних захворювань людини: грипу, COVID-19, сказу та ін. [170, 171]. Проведено клінічні випробування віросомальної вакцини



проти штаму H5N1 (грип) з ад'ювантним матриксом ISCOM у 60 дорослих. Вакцина проти H5N1 з ад'ювантом приводить до появи високоспецифічних нейтралізуючих антитіл. Антитіла були специфічні для використаного у вакцині штаму та меншою мірою перехресно реагували з іншими штамами.

Фірмою Novavax розроблено чотиривалентну рекомбінантну вакцину «NuvaXovid» з використанням клітин моли проти COVID-19, яка принципово відрізняється від мРНК вакцин («Pfizer» і «Moderna») та вірусної векторної вакцини «Johnson & Johnson». Запропонована вакцина являє собою субодичну білкову вакциною, що містить шипоподібні білки коронавірусу. Технологія отримання вакцини представлена рядом стадій:

- ✓ відбір необхідних генів, які відповідають за певні антигени SARS-CoV-2 (спайкові білки);
- ✓ відібрані гени вводять у бакуловірус;
- ✓ зараження клітин моли бакуловірусом та розмноження вірусу;
- ✓ накопичення в клітинах моли шиповидних білків;
- ✓ виділення та очищення білків-антигенів;
- ✓ одержання композиції з білків-антигенів та матриксу ISCOM.

До складу комплексу входять високоактивний сапоніновий ад'ювант (фракція сапоніну С) і слабкий сапоніновий ад'ювант (фракція сапоніну А), DPPC та холестерин. Вакцина індукує високий мультифункціональний клітинно-опосередкований імунітет. Одна доза вакцини містить 5 мкг спайкових білків, 42,5 мкг фракції сапоніну А і 7,5 мкг фракції сапоніну С [172]. Одержанню вакцин проти COVID-19, з використанням матриксу ISCOM присвячені й інші дослідження [173–175]. 7 липня 2022 року консультативний комітет FDA проголосував за рекомендації для використання вакцин «NuvaXovid» у дорослих на території США.

#### **2.4. Ліпідні наночастинки (LNP).**

Протягом 2020–2021 років на світовому фармацевтичному ринку для боротьби з пандемією COVID-19 з'явилися вакцини різної структури та ефективності. Досить швидко розробку вакцин проти COVID-19 визначили значні досягнення в галузі вакцинних технологій за останні 10–15 років, зокрема, напрацювання платформи для отримання вакцин на основі

матричної РНК (мРНК) значно прискорили розробку вакцин проти вірусу SARS-CoV-2, що викликає COVID-19 [176, 177]. В результаті досліджень було створено платформу на основі мРНК, яка була використана як Pfizer-BioNTech, так і Moderna для своїх вакцин проти COVID-19.

Технологія мРНК була розроблена для експресії антигену *in situ* і являє собою інноваційну платформу для створення вакцин з тією перевагою, що на відміну від ДНК, вакцини на основі мРНК не інтегруються в хромосоми, що дозволяє уникнути ризиків онкогенезу та інсерційного мутагенезу [178–180]. мРНК містить інформацію про первинну структуру білків і синтезується на основі ДНК у ході транскрипції, після чого використовується у ході трансляції як матриця для синтезу білків [181]. Технологія вакцин на основі мРНК розроблялася понад два десятиліття. На відміну від традиційних вірусних вакцин, які можуть доставляти інактивовану або ослаблену версію вірусу або частину вірусу, наприклад, капсульний білок, вакцини з мРНК доставляють генетичну інформацію в клітини людини. Потім клітини організму продукують білок-антиген, необхідний для створення імунної відповіді. На молекулі мРНК записана інформація вірусу SARS-CoV-2 – збудника COVID-19. мРНК-вакцина проти COVID-19 кодує вірусний спайковий глікопротеїн (S), який використовується вірусом для проникнення в клітини людини.

Слід зазначити, що найважливішим компонентом вакцин на основі мРНК є ліпідні наночастинки (LNP), в які інкапсульована молекула мРНК. На думку багатьох експертів створення ліпідних компонентів та одержання на їх основі LNP мало вирішальне значення для створення мРНК-вакцин. LNP захищають мРНК і переносять її у клітини. мРНК-вакцини не могли бути створені без LNP [182, 183].

При внутрішньом'язовому введенні система LNP забезпечує захоплення клітинами-господарями та доставку мРНК всередину цитозолу, де в рибосомах відбувається трансляція послідовності мРНК у S-білок. Після посттрансляційної обробки клітинами господарями S-білок представлений як мембранозв'язаний антиген у його конформації до злиття на клітинній поверхні, забезпечуючи антигенну мішень для В-клітин. Внутрішньом'язове введення мРНК-вакцини на основі LNP приводить до тимчасового точкового запалення, яке сприяє залученню нейтрофілів та антиген-презентуючих клітин до місця доставки [184]. В останні роки вакцини з

матрицею мРНК вивчаються в галузі імунотерапії раку та інфекційних захворювань через їхню високу ефективність та безпечність. мРНК є частиною генетичного коду вірусу, яка відповідає за синтез антигену білкових структур, у відповідь на які в організмі синтезуються специфічні антитіла [184]. Коли мРНК потрапляє в клітини людини при вакцинації, починають вироблятися вірусні спайкові білки, а нейтралізуючі антитіла проти спайкових білків і клітинні імунні реакції можуть запобігти інфікуванню SARS-CoV-2. Внутрішньоклітинна доставка мРНК за допомогою LNP дозволяє експресувати майже будь-який бажаний білок всередині клітин хазяїна.

Починаючи з кінця 1990-х років були розроблені LNP для доставки нуклеїнових кислот. Наночастинки, що входять до складу вакцин для COVID-19, представляють собою суміш чотирьох ліпідних молекул, три з яких стабілізують структуру LNP, а четвертий ліпід (іонізований ліпід) є основним при використанні LNP. Цей іонізований ліпід заряджається позитивно при отриманні LNP, що дає ті ж переваги, що і відомі ліпосомальні частинки, але іонізований ліпід згодом перетворюється на нейтральний у фізіологічних умовах, наприклад, у кровотоці, що обмежує його токсичну дію на організм. Більше того, суміш із чотирьох ліпідів дозволяє підвищити стабільність вакцини в процесі виготовлення, транспортування та зберігання. Крім того, LNP підтримує стабільність вакцин в організмі. До середини 2000-х років було розроблено новий спосіб змішування та виробництва цих наночастинок. Він включав використання апарату з T-подібним з'єднанням, що поєднує ліпіди, розчинені в етанолі, з нуклеїновими кислотами, розчиненими в кислому буфері. Коли потоки двох розчинів зустрічаються, компоненти мимовільно утворюють упаковані LNP. Кожен розробник, який випускає вакцини на основі мРНК, використовує різні варіації цієї платформи доставки LNP [185].

У складі вакцини Pfizer-BioNTech присутні чотири ліпідних компоненти:

- 1) іонізований ліпід: ((4-гідроксибутил) азандиіл) біс(гексан-6,1-диіл) біс (2-гексилдеcanoат);
- 2) 2[(поліетиленгліколь)-2000]-N,N-дитетрадецилацетамід (PEG-ліпід);
- 3) DSPC;

#### 4) холестерин.

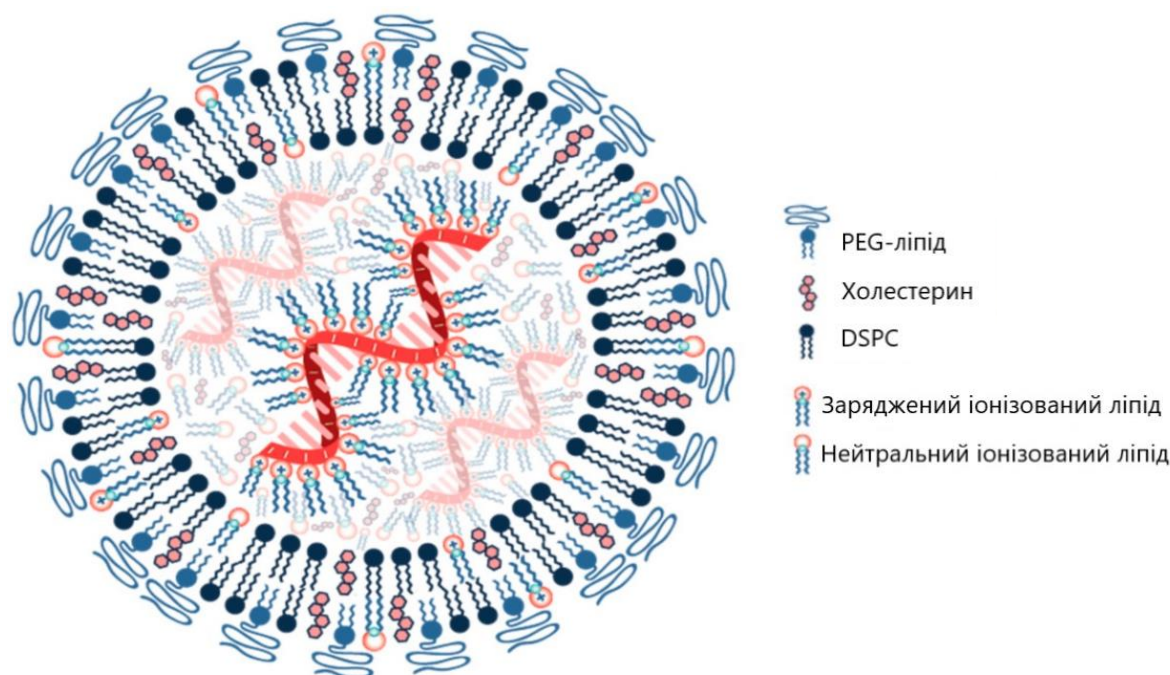


Рисунок 2.7 – Схема ліпідної наночастинки мРНК вакцини [176]

Формування ліпідних наночастинок з мРНК відбувається кількома методами:

1) шляхом швидкого змішування в мікрорідинному змішувачі або змішувачі з Т-подібним з'єднанням чотирьох ліпідів (іонізований ліпід, DSPC, холестерин і PEG-ліпід), розчинених в етанолі, з мРНК, розчиненої у водному буфері;

2) шляхом зустрічі іонізованого ліпиду з водною фазою – він стає протонуваним при рН 5,5, що є проміжним між рК буфера і рК іонізованого ліпиду;

3) іонізований ліпід електростатично зв'язує аніонну фосфатну групу мРНК і водночас виявляє гідрофобність у водному середовищі, стимулюючи утворення везикул та інкапсуляцію мРНК;

4) після початкового утворення везикул рН підвищується за рахунок розведення діалізом або фільтрацією, що приводить до нейтралізації іонізованого ліпиду, роблячи його більш гідрофобним і тим самим змушуючи зливатися везикули, викликавши в подальшому зв'язування іонізованого ліпиду з мРНК всередині ліпідної наночастинки.

PEG-ліпід зупиняє процес злиття, забезпечуючи наночастинки гідрофільним зовнішнім шаром і визначаючи його термодинамічну стабільність і розмір, а DSPC формує бішар, присутній безпосередньо під цим PEG-ліпідним шаром наночастинки. Склад вакцини Pfizer-BioNTech представлений: 50 % іонізованого ліпиду, 10 % DSPC, 38,5 % холестерину, 1,5 % PEG-ліпиду. Розмір ліпідних наночастинок становить 100–170 нм.

У роботі [186] проведено вивчення структури ліпосом, які входять до складу вакцини проти COVID-19. Автори використовували комбінацію атомно-силової мікроскопії, динамічного світлорозсіювання, трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) та визначення градієнта рН. Виявлено зернисте тверде ядро, оточене моно- та бішарами. Негативне забарвлення ТЕМ показує електронно-щільні плями розмірами 2-5 нм всередині LNP, які вирівнюються у вигляді ланцюжків, півкіл або лабіринтоподібних сіток, що може вказувати на наявність стабілізованих поперечними зв'язками суперспіралей. Нейтральне ядро всередині LNP ставить під сумнів домінування іонних взаємодій, які разом утримують цей каркас, що підвищує альтернативну можливість утворення водневих зв'язків між мРНК і ліпідами. Така взаємодія мРНК/ліпід узгоджується зі стеричною структурою іонізованого ліпиду, що має вільні карбонільні та гідроксильні сильні групи. Імовірно, що ці групи можуть займати стеричні положення, що забезпечують утворення водневих зв'язків з азотистими основами мРНК. Ці структурні особливості взаємодії мРНК/ліпід можуть мати важливе значення для ефективності вакцини проти COVID-19.

Очевидно, подальший розвиток препаратів на основі мРНК призведе до створення оригінальних складів LNP. Проводяться дослідження щодо використання у складі вакцин проти COVID-19 не лише LNP зазначеного складу, а й інших LNP. Проводяться дослідження використання у складі вакцини проти COVID-19 як LNP, так і ліпосом. Так, у Південній Кореї проведено роботи зі створення ліофілізованої ліпосомальної мРНК вакцини-кандидата – EG-COVID [187]. Для отримання вакцини використовували ліпосоми, отримані з таких ліпідів: DOTAP, DOPE і холестерин. Розмір отриманих ліпосом до ліофілізації становив  $191,7 \pm 8,5$  нм (дзета-потенціал –  $-54,5 \pm 3$  мВ), а після ліофілізації –  $266,7 \pm 12,2$  нм (дзета-потенціал –  $-44,4 \pm 2,1$  мВ). Для порівняння авторами отримано препарат з ліпідами аналогічними вакцині Pfizer. Ліпосомальні та ліпідні наночастинки включали

мРНК. Активність двох препаратів порівнювали при внутрішньом'язовому введенні. Вакцина EG-COVID викликала стійкий гуморальний і клітинний імунітет до вірусу SARS-CoV-2. Сироватка, отримана від імунізованих мишей, пригнічувала вірусну інфекцію SARS-CoV-2 у клітинах Vero. На думку авторів досліджень, ліофілізована вакцина краща за рідкий препарат, оскільки сухий препарат можна зберігати і транспортувати при більш високих температурах, порівняно з вакциною фірми Pfizer.

Gregoriadis G. [188, 189] обґрунтував переваги ліпосом при отриманні вакцин на основі мРНК таким чином:

- ✓ ліпосоми біодеградують в організмі;
- ✓ ліпосоми можуть кількісно включати мРНК та прості у приготуванні;
- ✓ інкапсульована в ліпосоми мРНК повністю захищена від нуклеазної атаки у кров'яному руслі;
- ✓ ліпосомальна мРНК потрапляє до цитоплазми клітин шляхом ендцитозу;
- ✓ катіонні ліпосоми з мРНК уникають лізосомотропного шляху та залишаються інтактними у цитоплазмі;
- ✓ усередині цитоплазми мРНК експресується у вигляді білка шипа, після чого ліпосоми або їх фрагменти ще за невизначеним механізмом проявляють свою імунологічну ад'ювантну дію.

Перевагою використання LNP у складі вакцин є їх багатофункціональність та здатність до біодеградації. Крім того, що наночастинки є *drug delivery system*, вони можуть мати значні терапевтичні ефекти, синергетичні з білками, які кодуються мРНК [185].

Завдяки дії вакцинації заговорили про революцію в біотехнології та фармації. Вакцини проти SARS-CoV-2 стали масовими препаратами, які базуються як на принципово нових біотехнологіях – на мРНК («Pfizer», «Moderna», США) та аденовірусних векторах («AstraZeneca», Великобританія; «Covishield», Індія; «Спутник V», Росія), так і на класичних біотехнологіях (Coronovac, Sinovac, Китай) [190]. Вакцини виявляють різну ефективність від 85 до 95%. За наявними на сьогодні даними, вакциновані проти COVID-19 демонструють на 94% менше випадків протікання інфекції із симптомами, ніж у контрольній групі невакцинованих людей. Серед

тих, хто був вакцинований і заразився коронавірусом, спостерігається на 92% менше випадків тяжкого перебігу захворювання.

Сьогодні вакцинація проти SARS-CoV-2 – єдина можливість боротьби проти пандемії COVID-19 та збереження людських життів. Ефективність LNP підтверджено використанням мільярдів доз вакцин проти SARS-CoV-2.

мРНК вакцини на основі LNP пройшли клінічні випробування проти різних інфекційних захворювань, які викликають віруси Зіка, цитомегаловірусу, вірусу грипу, а також туберкульозу. Терапевтичні вакцини з мРНК мають великий потенціал в імунотерапії раку проти меланоми, раку яєчників, молочної залози та інших солідних пухлин [182, 183]. Вектори LNP мають вирішальне значення для успішної внутрішньоклітинної доставки мРНК до цитозолу імунних клітин, особливо антигенпрезентуючих клітин, які відповідальні за запуск необхідних імунних відповідей.

У таблиці 4 (див. Додатки) наведено ліпосомальні ліцензовані вакцини для використання у людини.

## **2.5. Вакцини для профілактики туберкульозу.**

При розгляді ліпосомальних вакцин необхідно зупинитись ще на одному питанні. До нинішньої пандемії COVID-19 туберкульоз вважався лідером за рівнем смертності від інфекційного агента, збудником якого є *Mycobacterium tuberculosis*. Щороку від туберкульозу гинуть до 1,7 млн осіб. Єдиною ліцензованою вакциною для профілактики захворювання є жива вакцина BCG, яка використовується у світі понад 100 років, починаючи з 1921 року. Однак, незважаючи на вакцинацію BCG, кількість хворих перебуває на досить високому рівні, хоча на сьогодні імунізовано 4 млрд. осіб [191, 192]. Крім того, вакцина BCG не забезпечує ефективного захисту дорослих від туберкульозу.

ВООЗ у програмі боротьби з туберкульозом має на меті знизити смертність від туберкульозу на 95% до 2035 року. Звичайно це вимагає створення нової протитуберкульозної вакцини. Нова протитуберкульозна вакцина може працювати як ефективна бустерна вакцинація при використанні BCG, оскільки малоімовірно, що жива вакцина BCG буде повністю замінена, враховуючи її ефективність проти важких форм туберкульозу у

дітей та її можливості зниження смертності від інфекційних захворювань у дітей загалом через неспецифічні механізми імунітету [193]. В даний час на різних стадіях доклінічного та клінічного вивчення знаходяться десятки вакцин-кандидатів для профілактики туберкульозу. Субодиничні вакцини ґрунтуються на відборі відповідного захисного антигену. Вибір антигену для протитуберкульозних вакцин ускладнюється багатостадійністю інфекції та великим розміром геному *Mycobacterium tuberculosis*. Найчастіше використовують антигени, які являють собою консервативні секреторні білки (наприклад, Ag85B і ESAT-6), імуногенність яких доведена на моделях тварин [194]. Ліпосомальні вакцини та ад'юванти займають у цих дослідженнях заслужене місце.

У складі протимікобактеріальних вакцин використовуються різні антигени та ад'юванти, включені в ліпосоми різного складу. Найчастіше використовуються рекомбінантні білки Ag85B і ESAT-6, отримані при культивуванні *E. coli* з подальшим їх виділенням з тілець включення після денатурації у 8М сечовині за допомогою металохелатної хроматографії та рефолдингу діалізом. Ліпосоми отримували з використанням PS [191]. Розмір ліпосом становив близько 240 нм. Використання PS у складі ліпосом обґрунтоване його високою біологічною активністю та передбачуваним протизапальним потенціалом [195]. PS утворюється на поверхні ранніх апоптичних клітин, що «помічає» вмираючі клітини як ціль антигенпрезентуючих клітин, таких як макрофаги і дендритні клітини. Вважається, що це явище може посилювати презентацію антигену, що приводить до покращення відповіді Т-клітин. Коли клітина ініціює апоптоз, PS зазвичай розташовується на внутрішній стороні ліпідного бішару клітинної мембрани. PS бере участь у виявленні апоптичних клітин завдяки його взаємодії з рецепторами TIM4 і TIM1 (T-cell immunoglobulin and mucin domain) на антигенпрезентуючих клітинах, що може забезпечувати фагоцитоз. Ліпосоми були стабільними при зберіганні, вони легко поглинаються антигенпрезентуючими клітинами і вантаж ліпосом доставляється, проникає та обробляється в компартментах ендосомальних клітин. У складі ліпосомального антигену був використаний ад'ювант PolyIC. Ад'ювант PolyIC являє собою поліінозинову:поліцитидинову кислоту – синтетичний аналог дволапцюгової РНК. Вакцина індукувала змішану імунну відповідь Th1/Th17-Th2 на Ag85B, але лише слабку відповідь на ESAT-6. Однак найбільш ва-



жливим є те, що коли ліпосомальну вакцину-кандидат вводили мишам, імунізованим BCG, а потім заражали їх низькою дозою аерозолу *Mycobacterium tuberculosis* автори спостерігали значне зниження бактеріального навантаження у легенях і селезінці порівняно з вакцинацією однією BCG. Автори дійшли висновку, що імунізація мікобактеріальними антигенами, що доставляються ліпосомами на основі PS у поєднанні з ад'ювантом PolyIC, може представляти нову стратегію бустерної вакцинації BCG [191]. До складу ліпосомальної вакцини входили: 1 мкг Ag85B та 0,2 мкг ESAT-6, 20 мкг PolyIC.

Групою дослідників [196] проведено експерименти з тестування протитуберкульозної вакцини, що складається з ID93, поліпротеїнового злитого антигену та ліпосомальної композиції, яка включає синтетичний агоніст TLR4 – GLA (глюкопіранозил-ліпідний ад'ювант) і сапонін QS21, на мишиній моделі туберкульозу. Злитий антиген ID93 складається із чотирьох білків *Mycobacterium tuberculosis*, охоплюючи широкий спектр інфекції: Rv2608 (сімейство PE/PPE білків), Rv1813 (експресія при стрес-гіпоксії), Rv3619c (ESAT-6 подібний білок 1), Rv3620c (ESAT-6 подібний білок 10). GLA являє собою молекулу аналогічну синтетичному монофосфорилліпиду А як агоніста TLR4. Ліпосоми були отримані з DPPC, DPPG, холестерину рослинного походження і DSPE-PEG-2000. Проведено порівняння ID93+GLA+LSQ з добре відомим ад'ювантом і вакциною ID93+GLA-SE у вигляді емульсії «масло у воді». Раніше було показано успішне випробування вакцини кандидати M72, яка включає лише 2 білка *Mycobacterium tuberculosis*: *Mycobacterium tuberculosis* 39A (Rv1196, PPE18) і *Mycobacterium tuberculosis* 32A (Rv01251 серинова протеїназа) у поєднанні з ад'ювантом AS01 [197]. Встановлено зниження прогресування захворювання в активній формі, що є багатообіцяючим і знову викликає інтерес до експериментальних вакцин проти туберкульозу, які зараз перебувають на стадії розробки. Автори використовували ад'ювант AS01, що містить ліганд TLR4, монофосфорилліпід А і сапонін QS-21 у ліпосомальній формі. Ліпід А – похідне ліпополісахариду, виділеного зі штаму *Salmonella minnesota*, здатний зв'язуватися з TLR4. QS-21 є сумішшю 2 ізомерних тритерпенових глікозидів, арабінози (QS21A) і ксилози (QS21X), отриманих із дерева *Quillaja saponaria Molina*. Тоді як AS01 продемонстрував потужну ад'ювантну активність як компонент для ліцен-

зованих і експериментальних вакцин, автори показали, що і ID93+GLA-SE (який містить емульсійний ад'ювант), і ID93+GLA+LSQ (який містить ліпосомальний ад'ювант) індукують ID93 специфічний клітинний імунітет, включаючи CD4+CD44+T-клітини, які експресують інтерферон-γ та вакцино-специфічні відповіді. Крім того, обидві вакцини ефективно знижують бактеріальне навантаження у легенях мишей, інфікованих *Mycobacterium tuberculosis*. Вакцини на основі цього ліпосомального ад'юванту можуть стати альтернативою ад'ювантній системі AS01 [196, 197].

Ключовим завданням протитуберкульозних вакцин є створення сильних імунних відповідей Т-хелперів 1-го типу. Багато стратегій були зосереджені на використанні TLR та наступної секреції інтерлейкіну-12, щоб сприяти поляризації Т-хелперів 1-го типу. Це було досягнуто за рахунок використання ад'ювантів, які зв'язують різні TLR, таких як PolyIC (TLR3), ліпід А (TLR4) або CpG-олігонуклеотиди (TLR9). У складі вакцин використовуються ліпосомальні та емульсійні композиції: AS01, CAF01 та GLA-SE [193].

Проведено обмежені клінічні випробування терапевтичної вакцини ID93+GLA-SE, яка індукувала сильну та стійку відповідь антитіл та специфічні поліфункціональні відповіді Т-клітин на антигени вакцини [200]. Ці дані підтверджують подальшу оцінку ID93+GLA-SE у стратегіях терапевтичної вакцинації для покращення результатів лікування туберкульозної інфекції, при попередній вакцинації BCG. Вакцину ID93+GLA-SE вводили внутрішньом'язово по 2 мкг двічі. Вакцина продемонструвала безпечність та високу імуногенність як терапевтична вакцина для лікування та профілактики туберкульозу.

## **Підсумок.**

Історія розвитку людства переконливо довела, що вакцини – це найефективніший підхід до профілактики інфекційних захворювань. Економічні витрати на імунопрофілактику мізерні порівняно з вартістю лікування інфікованих людей. Підтвердженням цьому можуть бути вакцини на основі мРНК, які викликають експресію антигену *in situ* після імунізації, тим самим ініціюючи імунну відповідь.

Аналізуючи дані наведені у таблиці 4 (див. Додатки), можна говорити про перспективність створення ліпосомальних вакцин та ад'ювантів. Серед переваг ліпосомальних вакцин та ад'ювантів можна назвати такі:

- ✓ антигени з низькою імуногенністю можуть бути перетворені на високоімуногенні антигени;
- ✓ у ліпосоми можна включати гідрофобні антигени;
- ✓ за допомогою ліпосомальних вакцин можна досягти тривалого продовження специфічної дії антитіл;
- ✓ використання ліпосом дозволяє зменшити токсичність та пірогенність антигенів та ад'ювантів.

При розробці складу вакцин необхідно враховувати як функціонує імунна система організму (вроджений і адаптивний імунітет). Ад'ювантна активність ліпосомальних вакцин заснована на їх здатності залучати, взаємодіяти та активувати антигенпрезентуючі клітини, наприклад, дендритні клітини, макрофаги та В-клітини, завдяки їхнім фізико-хімічним (розмір, заряд) та імунним властивостям (включення інших ад'ювантів та націлюючих лігандів). Наприклад, позитивно заряджені поверхні катіонних ліпосом сприяють взаємодії з негативно зарядженою поверхнею дендритних клітин, забезпечуючи поставку та поглинання антигену. Вони є одними з основних індукторів Т-клітинних опосередкованих імунних відповідей [201, 202].

Ліпосоми значною мірою підвищують імуногенність за рахунок посилення презентації антигену та/або запуску вродженої імунної системи через розпізнавання та активацію специфічних клітинних рецепторів, що може привести до тривалого захисту від патогенних агентів [203]. Крім того, слід зауважити, що багато типів клітинних рецепторів беруть участь у вродженому імунітеті, наприклад, TLR, NLR (нуклеотидзв'язуючий домен і рецептор повторів, багатих на лейцин) або CLR (рецептор лектину С-типу). Кожен рецептор робить свій внесок у значну відповідь, яка приводить до активації та диференціювання Т-хелперів, з можливою адаптивною імунною відповіддю, опосередкованою антитілами та CD8+ Т-клітинами [203].

При отриманні ліпосомальних вакцин та ад'ювантів *визначальними факторами* є безпечність, фізико-хімічні характеристики ліпідів, у тому числі ступінь очищення від баластних домішок. У випадку невідповіднос-

ті цим вимогам використовувати ліпосомальні компоненти вакцин не можна. Також, необхідно довести стабільність ліпідних молекул у вакцині, структуру ліпосоми та ступінь включення антигену у наночастинки.

Ліпосоми є ефективними наночастинками як при включенні в них гідрофобних антигенів (у бішар мембрани), так і водорозчинних протеїнів (внутрішній водний простір) або антигенів, зв'язаних із поверхнею наночастинки. *Локалізація антигену* в бішарі, на поверхні або у внутрішньому водному об'ємі ліпосомальної наночастинки може суттєво впливати на імунногенність вакцини і відповідно змінювати імунну відповідь організму [204, 205].

Необхідно також враховувати *заряд ліпідних наночастинок та їх розміри*, що також визначає ефективність імунної відповіді. Заряд наночастинки значною мірою впливає на адсорбцію або взаємодію антигену з ліпосомами. Ряд авторів вказують на те, що позитивно заряджені антигени з більшою ймовірністю взаємодіятимуть з катіонними ліпосомами. Саме ця взаємодія може визначати ступінь інкапсуляції антигену у ліпосомі [203]. Катіонні ліпосоми мають значну імуномодулюючу та ад'ювантну дію та їх використання призводить до більшої імунної відповіді [206]. Ліпідний склад визначає заряд частинок. Наприклад, нейтральні ліпосоми з DSPC (дзета-потенціал мінус 8 мВ) проникають у лімфоцити набагато швидше, ніж катіонні ліпосоми (дзета-потенціал +50 мВ). Як правило позитивні заряджені ліпосоми поглинаються антиген-презентуючими клітинами більшою мірою, ніж негативно заряджені або нейтральні [207]. *Розмір ліпосом* визначає подальші реакції Т-хелперів 1-го та 2-го типу на захоплений антиген [207]. Підвищення імуномодулюючої активності може бути досягнуто включенням у вакцини низки молекул, наприклад, ліпиду А або ганліозидів.

На *катіонних ліпосомах* хотілося б зупинитися окремо. Катіонні ліпосоми широко використовуються як для доставки АФІ, так і антигенів при отриманні вакцин. Для отримання катіонних ліпосом використовують катіонні ліпіди, а також до складу композицій вводять нейтральні допоміжні ліпіди, такі як диолеїлфосфатидилетаноламін, різні PC (DOPC) та холестерин. Як катіонні ліпідні компоненти вводять DDA, DOTAP та ін. Отримання катіонних ліпосом проводять декількома методами [208, 209].

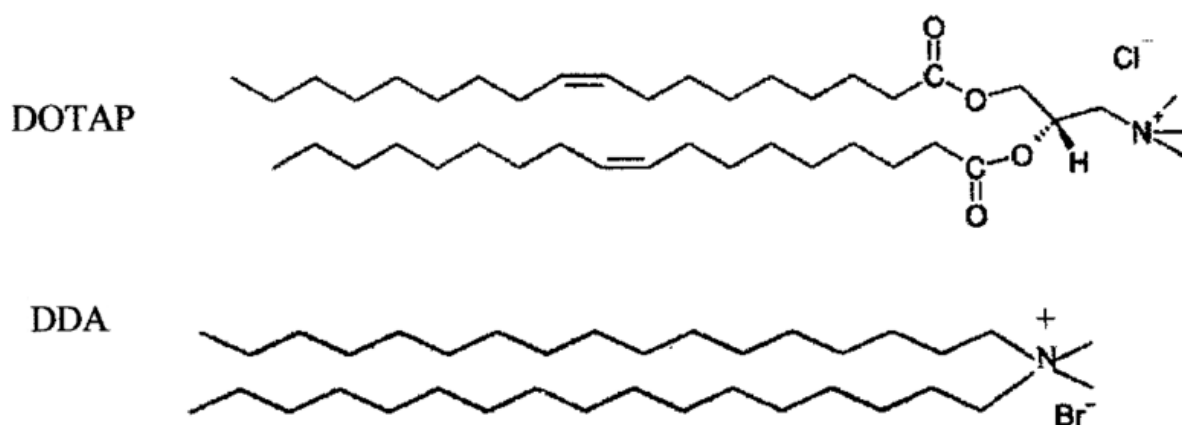


Рисунок 2.8 – Структурні формули DOTAP і DDA.

На основі катіонних ліпосом проводять дослідження з отримання протипухлинних вакцин, наприклад, при використанні протипухлинних пептидів [209]. Для отримання катіонних ліпосом використовували DOPC та DOTAP у молярному співвідношенні 1 : 1. Ліпосоми отримували методом дегідратації / регідратації з наступною гомогенізацією, розмір частинок становив близько 200 нм. Як антигени використовували синтетичні довгі пептиди. Отримані протиракові вакцини на основі пептидів та катіонних ліпосом вивчали з метою дослідження потенціалу вакцин для імунотерапії раку.

Показано, що у складі вакцин можуть використовуватися катіонні ліпосоми як системи доставки антигенів [210]. Ліпосоми можуть доставляти антигени до антигенпрезентуючих клітин і таким чином посилювати антиген-специфічні імунні відповіді. Субодичні вакцинні антигени повинні розкладатися в ендосомальному компартменті, щоб бути представлені в контексті молекул головного комплексу гістосумісності II класу на поверхні антигенпрезентуючих клітин. Дендритні клітини важливі завдяки їхній здатності ефективно стимулювати первинні імунні відповіді. У своєму незрілому стані дендритні клітини знаходяться на периферії, де вони постійно відбирають білки зі свого оточення. Після дозрівання дендритні клітини активують функції, пов'язані з процесингом, презентацією антигену та активацією Т-клітин, включаючи підвищену експресію головного комплексу гістосумісності класу II та костимулюючих молекул CD40, CD80, CD86. Автори припускають, що первинний ад'ювантний механізм катіонних ліпосом (наприклад, з DDA) полягає у націлюванні на клітинну

мембрану антигенпрезентуючих клітин, що згодом приводить до посиленого поглинання і представлення антигену, адсорбованого на ліпосомі з DDA, посилення поглинання антигену клітинами перитонеального ексудату після внутрішньочеревного введення ліпосом.

Носії антигену, які здатні вибірково доставляти антигени до антигенпрезентуючих клітин і одночасно активувати ці клітини (ад'ювантна дія), необхідні для ефективної імунотерапії раку або вакцинації [211]. Доставка модельного антигену в цитозоль дендритних клітин була досягнута авторами за допомогою рН-чутливих модифікованих полімером ліпосом за допомогою дестабілізації ендосомальних мембран, які реагують на кислий рН, що стимулювало антиген-специфічний клітинний імунітет. Крім того, рН-чутливі полісахариди на основі  $\beta$ -глюкану продемонстрували не тільки ефективність доставки цитозольного антигену, але й ад'ювантні властивості, які ще більше посилюють клітинні імунні відповіді. Оскільки рН-чутливі полісахариди мають аніонні карбоксильні групи, в цьому дослідженні у ліпосоми вводили катіонні ліпіди для підвищення ефективності модифікуючих рН-чутливих полісахаридів і покращення їх ад'ювантних і імуностимулюючих функцій. Ліпосоми, що містять рН-чутливі полісахариди на основі  $\beta$ -глюкану та катіонні ліпіди, збільшують продукцію цитокинів дендритними клітинами набагато більше, ніж інші похідні полісахаридів. Крім того, за рахунок покращення протипухлинної імунодепресії та індукції антиген-специфічного клітинного імунітету, введення цих ліпосом викликало пригнічення пухлини навіть при невеликій дозі антигену (1/10 від кількості антигену, яке використовувалось раніше). Ці результати свідчать про те, що введення катіонних ліпідів та використання рН-чутливих полісахаридів, які мають внутрішню ад'ювантну функцію, є ефективним підходом для отримання ліпосомальних нановакцин, які виявляють сильну імуностимулюючу функцію.

*Вплив ліпосомальних носіїв на процеси інтерналізації антигену* імуннокомпетентними клітинами та шляхи індукції імунної відповіді залежить від заряду, розміру, фазового стану бішару, що у свою чергу залежить від ліпідного складу [212]. Причому, інтерналізація віросом проходить на більш високому рівні в епітеліальні клітини, ніж ліпосом [213]. Гемаглютинін та нейрамінідаза сприяють поглинанню віросом імунними клітинами, а залишки сіалової кислоти у надлишку експресуються на дендритних

клітинах. Макрофаги викликали швидке поглинання клітинами ендосомально-опосередкованим шляхом, що активізує головні комплекси гістосумісності I і II класу та лімфоцити.

Цікавою є робота, присвячена скринінгу ліпосомальних композицій при отриманні вакцинних препаратів. Сьогодні для скринінгу нових ліпосомальних композицій використовуються моделі на тваринах *in vivo*, зокрема на мишах. Аналіз даних, отриманих на тваринах, часто погано корелює з даними людини. Крім того, моделі на тваринах відрізняються високою вартістю та тривалістю, що значно обмежує їх застосування. Рядом авторів на прикладі катіонних ліпосом запропоновано методику скринінгу, яка дозволяє прискорити розробку нових вакцин [214]. У цій роботі використовуються катіонні ліпосоми на основі DDA і TDB (відомі як SAF01 – катіонний ад'ювантний склад 01). У деякі зразки катіонних ліпосом додатково вводили катіонний ліпід DOTAP. Для скринінга імунної функції ліпосом *in vitro* використовували клітинну лінію моноцитів людини – THP-1. Ці клітини дозволяють оцінити здатність ліпосом взаємодіяти та активувати антигенпрезентуючі клітини. За допомогою цієї методики встановлено склади ліпосом, які забезпечують ефективну імунну відповідь.

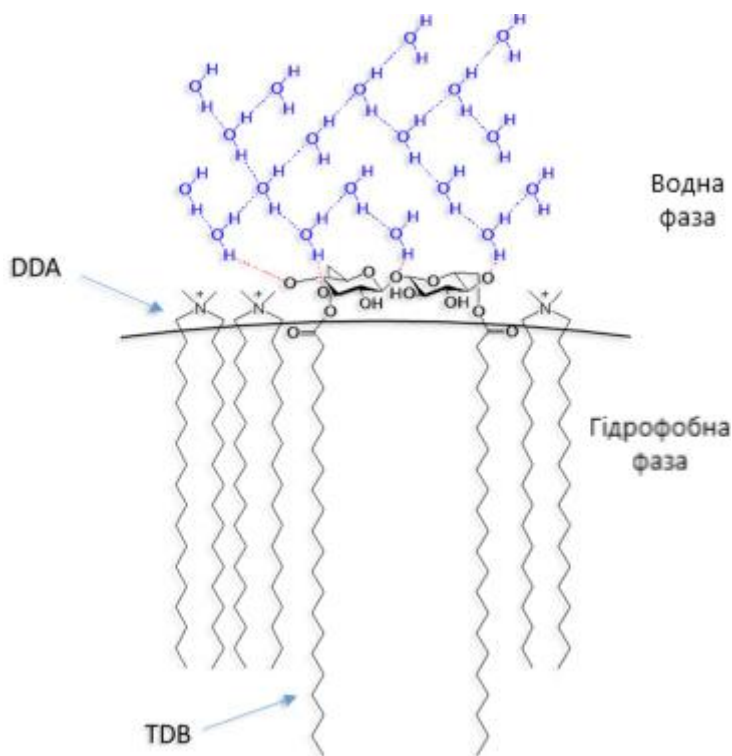


Рисунок 2.9 – Структура катіонного ад'ювантного складу SAF01 [215].

Ліпосомальні вакцини можна вводити підшкірно, внутрішньом'язово або *per os* [216]. Наприклад, катіонні ліпосоми з DDA формують депо у місці ін'єкції завдяки розміру ліпосом, навантажених антигеном. Крім того, інкапсуляція антигену всередину ліпосоми може знижувати реакції гіперчутливості. На ефективність імунної відповіді впливає взаємодія ліпосом з комплементом і рядом інших білків, що призводить до опсонізації. Встановлено, що досить багато білків можуть прикріплюватися до ліпосом з утворенням «білкової корони» [217].

Взаємодія ліпосом та інших типів частинок з біологічними рідинами *in vivo* та *in vitro* приводить до адсорбції білків, які змінюють хімічні та фізичні характеристики частинок, і таке явище в області наномедицини називають «білковою короною» [218]. На думку авторів, «білкова корона» може представляти складну проблему для спрямованої внутрішньосудинної доставки ліпосом терапевтичних препаратів, наприклад до пухлинних клітин, оскільки ліпосоми швидко покриваються опсонінами, включаючи комплемент, що призводить до поглинання фагоцитарними клітинами [219]. Водночас «білкова корона» з точки зору доставки ліпосомальних вакцин, покритих опсонінами, такими як комплемент, до клітин імунної системи, включаючи фагоцитарні клітини, може приводити до позитивного ефекту. Раніше нами було показано [220], що ліпосоми, які містять негативно заряджені фосфоліпіди та цереброзидсульфат взаємодіють із комплементом. Тому можна припустити, що ліпосоми з негативно зарядженим цереброзидсульфатом здатні активувати комплемент, викликаючи його виснаження та, можливо, опсонізацію ліпосом. Таким чином, можливо будь-які ліпосоми, які несуть негативний заряд певної щільності, модулюють дію комплементу. Для запуску активації та опсонізації комплементу необхідно лише кілька молекул імуноглобуліну зв'язаних з поверхнею. Показано, що природний імуноглобулін забезпечує зв'язком між «короною» біомолекул і опсонізацією C3 комплементу і може визначати індивідуальні реакції комплементу на наночастинки. На основі цих фактів можна розглядати вплив поверхнево-зв'язаного білка на ліпосомальному носії антигену та ад'юванту для вакцин.

При вивченні ефективності ліпосомальних вакцин необхідно також враховувати фармакотерапевтичний статус ліпосом та його вплив на імунні реакції організму [23]. Самостійним питанням одержання ліпосомаль-



них форм препаратів є технологічні аспекти одержання цих наночастинок. Важливим фактором є можливість отримання ліпосомальних вакцин, які можуть піддаватися стерилізуючій фільтрації, на відміну ад'ювантів на основі мінеральних сорбентів та масляних емульсій. Це дозволяє проводити стерилізуючу фільтрацію кожному етапі отримання вакцин [221].

Основні властивості більшості ад'ювантів визначаються їх здатністю депонувати антиген: адсорбувати його на своїй поверхні або включати його до складу наночастинки, стабілізувати антиген і захищати його від руйнування та елімінації, що пролонгує вплив антигену на імунну систему. Ад'юванти на основі ліпосом переважно відповідають цим вимогам [132, 221].

Ліпосомальні ад'юванти знайшли широке застосування при вакцинації людей та тварин. Крім ліцензованих ліпосомальних вакцин проти гепатиту А, грипу, оперізуючого лишая, малярії та COVID-19, проводяться розробки ліпосомальних вакцин проти грипу, туберкульозу, дифтерії, правця, COVID-19, гепатитів А, В та інших інфекцій [135, 222, 223].

### 3. ЛПОСОМАЛЬНІ ЛІКАРСЬКІ ПРЕПАРАТИ, РОЗРОБЛЕНІ В УКРАЇНІ

У період з 1988 по 2020 роки в Україні проводилися дослідження зі створення ліпосомальних лікарських засобів, зареєстрованих в Україні (див. Додатки – Табл. 2), та препаратів, які пройшли різні стадії випробування (див. Додатки – Табл. 3).

#### 3.1. Ліпін.

Препарат «Ліпін» є першим ліцензованим ліпосомальним продуктом у світі (див. Додатки – Табл. 1 і 2). За минулі 30 років накопичено значний доклінічний та клінічний досвід застосування препарату «Ліпін». У попередніх публікаціях досить докладно описаний результат цих досліджень [10, 23, 47, 224].



Рисунок 3.1 – «Ліпін» та його діюча речовина – фосфатидилхолін.

Робота над створенням ліпосомальної форми ЕРС була розпочата у 1987 році [225, 226]. Дослідження, спрямовані на створення ліпосомальної форми РС («Ліпін»), проведені під керівництвом професора А.В. Стефанова 1989–2007 рр. [227–232]. На моделі гнійної інфекції собак вивчали можливість використання ліпосом на основі ЕРС для запобігання пору-

шень діяльності серцево-судинної системи [233]. Ін'єкція ліпосом у підшкірну клітковину тваринам з гнійною інфекцією зменшувала та попереджала розвиток порушень кардіо- та гемодинаміки порівняно з тваринами контрольної групи, які не отримували препарат. Показано, що обколювання підшкірної клітковини навколо рани ліпосомами з ЕРС в дозі 25 мг/кг маси запобігає розвитку виражених розладів кровообігу. Причому порівняння ліпосом з ЕРС і холестерину та вільних від холестерину ліпосом показало ідентичну захисну дію.

«Ліпін» рекомендований при синдромі гострої та хронічної дихальної недостатності різного генезу у дорослих та дітей, у тому числі у новонароджених із розладами регуляції дихання пов'язаними з перенесеною перинатальною гіпоксією та асфіксією при пологах. Препарат рекомендовано приймати для профілактики та лікування захворювань, пов'язаних із перебуванням в умовах підвищеної запиленості (силікоз, антракоз). При інгаляційному введенні ліпосомальний препарат сприяє збереженню легеневого сурфактанту, що покращує легеневу та альвеолярну вентиляцію легень, збільшуючи швидкість транспорту кисню через біологічні мембрани, підвищуючи дифузю кисню з легенів у кров та з крові у тканини, нормалізуючи процеси тканинного дихання. Особливий інтерес становлять дані, отримані при застосуванні препарату «Ліпін» для корекції газообміну у легенях новонароджених, які перенесли продовжену штучну вентиляцію легень. Ефективність його застосування визначалася за динамікою нормалізації газового складу крові, сатурацією кисню, зміною клінічних показників [234]. Вивчення «Ліпіну» при гострих захворюваннях нижніх дихальних шляхів у дітей з гострими обструктивними бронхітами та пневмонією призводило до нормалізації фагоцитарної активності, підвищення фагоцитарного індексу та кількості альвеолярних макрофагів. Проведено лікування хворих з хронічними бронхітами у фазі загострення, переважно робітників гірничовидобувної промисловості. Проводили ультразвукову інгаляцію ліпосомами «Ліпіну». В результаті лікування було встановлено, що використання інгаляторного введення «Ліпіну» приводить до ефективного вирішення обструкції дихальних шляхів, нормалізації  $pO_2$  крові, корекції порушень ліпідного та білкового обміну. Крім того, застосування препарату сприяло зменшенню тривалості лікування хворих на обструктивний хронічний бронхіт, в середньому, вдвічі [235]. Після 10-

денного курсу ін'єкцій «Ліпіну» у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень III ступеня тяжкості, які перенесли туберкульоз легень і які протікають у стані з анемічним синдромом, виявлено достовірне зростання рівня гемоглобіну [236]. Підтверджено ефект ліпосомального ЕРС при клінічному вивченні специфічної фармакологічної активності ліпосом за участю пацієнтів з гнійно-деструктивним захворюванням легень, ускладненим синдромом дихальної недостатності [237]. Проведено вивчення «Ліпіну» при впливі на оксидантну та антиоксидантну систему у хворих на рак товстої кишки [238].

Дослідження ліпосом на основі ЕРС при різних патологіях у модельних експериментах та клініці продемонстрували ефективність при застосуванні у педіатрії, для покращення дифузійної здатності легень у хворих на ревматичний порок серця, при лікуванні артеріальної гіпертензії різного генезу [239–242]. Встановлено позитивний вплив фосфоліпідів у ліпосомальній формі на функцію дихання та кровообігу через нормалізацію ультраструктури біологічних бар'єрів у тканинах легень та серця [243]. Показано можливість корекції сурфактантної системи легень у хворих з інфекціями нижніх дихальних шляхів при введенні «Ліпіну» [244].

Висока ефективність ліпосом на основі ЕРС підтверджена і для РС, виділеного з інших джерел, наприклад, сої. Запропоновано спосіб лікування геморагічного шоку [245] за допомогою внутрішньовенного введення препарату багатошарових ліпосом, отриманих із СПС. Продукт містить 0,5 мг/мл СПС, який вводять у дозі 1 мл/кг маси тіла. Випробування на тваринах з моделлю геморагічного шоку показало, що застосування ліпосом у пізньому періоді геморагічного шоку полегшує його лікування та значно збільшує тривалість життя тварин.

При використанні антиоксидантних препаратів «Ліпін» та «Корвітин» у лікуванні хронічної дисфункції ниркового алотрансплантату показано, що використовувані препарати зменшують процеси перекисного окислення, збільшуючи потенціал антиоксидантної дії [246].

Застосування «Ліпіну» позитивно впливає на показники гемодинаміки, знижуючи чистоту серцевих скорочень, нормалізує показники артеріального тиску. Показано, що «Ліпін» впливає на зниження ризиків тромботворення та летальних випадків, а також нормалізує функції нирок у хворих із супутньою патологією [247].

Враховуючи антиоксидантну та мембранопротекторну дію «Ліпіну», виправданим є використання препарату в пародонтології. Виникнення пародонтозу пов'язане з низкою причин: сублінгвальна пародонтальна мікрофлора, атеросклеротичні зміни судин, активація процесів перекисного окислення, гіпоксія пародонту. Ці причини дозволили запропонувати використання ліпосомальних препаратів – «Ліпін» та «Ліпоеф» (ліпосомальна форма хлорофіліпту) [248–251]. Для оцінки ефективності дії препаратів проводили візуальну клінічну оцінку стану тканин пародонту, визначення морфометричних показників у макропрепаратах та гістометричних показників у мікропрепаратах верхніх та нижніх щелеп щурів з експериментальним пародонтитом. Застосування «Ліпіну» покращувало клінічний стан зубощелепної системи. У всіх тварин зникла набряклість слизової оболонки ротової порожнини на 34%, зменшилася гіперемія ясен. Під впливом препарату достовірно зменшувалося оголення коренів зубів порівняно з рівнем у контрольній групі, яка не отримувала лікування. Причому показник, який характеризує оголення коренів молярів, не відрізнявся від нормального рівня. «Ліпін» запобігав деструктивним процесам у тканинах пародонту, що підтверджується зменшенням у 4,3 рази показників ступеня розсмоктування альвеолярних відростків. Застосування «Ліпіна» повністю усуває резорбцію стінок зубної альвеоли I-го моляра нижньої щелепи та I-го та II-го моляра верхньої щелепи щурів. Використання «Ліпоефа» приводило до зменшення мікрофлори пародонту. Як показали гістологічні дослідження, після лікувально-профілактичного введення «Ліпіну» та «Ліпоефа» вираженість патологічних процесів у м'яких та твердих тканинах пародонту суттєво знижувалася. Результати проведених досліджень підтверджують суттєву пародонто-протекторну активність ліпосомальних препаратів, яка обумовлена їх антиоксидантною, антигіпоксичною, мембрано-стабілізуючою та антибактеріальною дією. Проведено вивчення ефективності «Ліпіну» у комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту. Під спостереженням знаходилося 120 пацієнтів, які були поділені на 3 групи: 40 осіб, хворих на хронічний генералізований пародонтит легкого ступеня тяжкості; 40 осіб, хворих на хронічний генералізований пародонтит середнього ступеня тяжкості; контролем служили 40 хворих розділених на 2 аналогічні групи. Хворим перших двох груп додатково вводили ін'єкції «Ліпіну» у перехідну складку верхньої та нижньої щелепи.

Використання препарату приводило до значного зниження запалення тканин пародонту без використання масивного арсеналу лікарських засобів. Тривалість ліквідації клінічних симптомів запалення у хворих в основних групах виявилася значно коротшою, ніж у контрольних. Після лікування із застосуванням ліпосом виявлено стабільний позитивний ефект – кровотоковість ясен припинялася вже на третій процедурі. У процесі ліквідації запальних змін у тканинах пародонту зменшувалися глибина пародонтальних кишень та рухливість зубів. Нормалізація процесів перекисного окислення ліпідів проявляється зниженням вмісту малонового діальдегіду в крові [250, 252].

Використання «Ліпіну» було ефективним і при інших патологіях. Підтверджено ефективність препарату при лікуванні виразкової хвороби дванадцятипалої кишки у поєднанні з хронічним холециститом (без каменів) [253]. Лікування проведено на 120 хворих з пошкодженням дуоденобіліарної зони. Встановлено позитивний вплив препарату на клінічну симптоматику, зміну кислотності вмісту шлунка, кінетичні властивості жовчного міхура та жовчовивідних шляхів, показники перекисного окислення ліпідів, антиоксидантний захист, цитокіновий профіль. Вміст ТБК-продуктів зменшився в 1,5 рази і наблизився до нормального рівня. Виявлено зниження прозапальних цитокінів: інтерлейкінів 1 $\beta$  та 6, підвищення вмісту протизапальних цитокінів – інтерлейкіну 4. Вивчено вплив «Ліпіну» та естрогенів на стан гнійних ран у хворих похилого та старечого віку [254]. Показано активацію фагоцитозу, зменшення вираженості запалення та мікробної контамінації, збільшення інтенсивності репаративних процесів у рані.

Проведені доклінічні та клінічні дослідження дозволили рекомендувати «Ліпін» для застосування в пульмонології, кардіології, нефрології та акушерстві [255]:

✓ **пульмонологія** – «Ліпін» використовується при хронічній гострій дихальній недостатності у дітей та дорослих незалежно від генезу патології. Препарат призначається новонародженим, які мають порушення дихання, пов'язані з перенесеною гіпоксією перинатального періоду та асфіксією при пологах [47]. Проведено дослідження, спрямовані на застосування «Ліпіну» хворими на інфекцію дихальних шляхів при хронічній хворобі нирок [256]. Показано, що використання ліпосомального препара-

ту приводить до зменшення обструкції дихальних шляхів, відновлення зруйнованого шару сурфактанту та поліпшення еластичності легень через відновлення проникнення альвеолярно-капілярних мембран, усунення гіпоксії. Встановлено виражену антиоксидантну, мембранопротекторну та антигіпоксичну дію. Крім того, «Ліпін» сприяє покращенню мікроциркуляції, реологічній властивостей крові та стану неспецифічної ланки імунітету. Продовжуються доклінічні дослідження використання препарату «Ліпіну» при різних захворюваннях легень. При експериментальній опіковій хворобі проводили лікування тварин препаратом у дозі 50 мг/кг маси тіла. Його застосування відновлює легеневу тканину, сприяє зниженню активності вільнорадикальних процесів та активації ферментативної ланки антиоксидантної системи на всіх стадіях розвитку опікової хвороби, що підтверджується зниженням рівня ТБК-продуктів у 1,66 рази, окислено-модифікованих білків у 1,32 рази на стадії опікового шоку. Виявлено збільшення супероксиддисмутази у 1,67 рази, каталази у 1,5 рази на стадії пізньої токсемії [257]. «Ліпін» призводить до суттєвого зменшення гіпергідратації компонентів респіраторного відділу легень. Найбільший ефект від введення «Ліпіну» виявляється при його ранньому застосуванні (у перші 24 години після початку дослідження). Істотно зменшуються порушення в ультраструктурній організації ендотелеоцитів гемокапілярів.

✓ **кардіологія** – «Ліпін» призначають хворим на інфаркт міокарда та стенокардію нестабільного типу [10, 13, 258–260].

✓ **акушерство** – «Ліпін» призначають хворим при пізньому гестозі та внутрішньоутробній гіпоксії. Препарат був ефективно використаний при лікуванні хворих з пізнім гестозом, при гіпоксії плода та асфіксії новонароджених [261–265]. На фоні застосування «Ліпіну» при гестозі покращується плодово-плацентарний кровотік зі збільшенням діастолічного компонента кровотоку в артерії пуповини. Застосування «Ліпіну» як антиоксиданта: зниження процесів перекисного окислення супроводжується зниженням оперативних заходів при пологах на 22,4 %, а тривалість пологового акту зменшується на 1,9 години.

✓ **гастроентерологія** – «Ліпін» призначається у разі хронічних та гострих випадків гепатиту, не калькульозного холециститу, виразкового коліту, цирозу печінки. Препарат проявляє антиоксидантні, детоксикаційні, кардіопротекторні, протизапальні, гепатопротекторні властивості при

проведенні фармакотерапії захворювань органів шлунково-кишкового тракту у педіатрії, а також активізує мембранні ферменти та відновлює цілісність мембран гепатоцитів [266].

✓ **нефрологія** – «Ліпін» призначається для лікування гострого та хронічного пієлонефриту, діабетичної нефропатії, гломерулонефриту, полікістозу нирок, ниркової недостатності та входить до розроблених протоколів лікування захворювань сечовивідної системи [267]. Показано можливість лікування «Ліпіном» хворих на хронічний гломерулонефрит з ендотеліальною дисфункцією та супутніми хворобами серця [268]. Проведено оцінку ефективності корекції «Ліпіном» оксидантно-антиоксидантного статусу у хворих на хронічну хворобу нирок. Продемонстровано ефективне застосування препарату для нормалізації процесів окислення в організмі хворих [269]. Продовжуються доклінічні дослідження при захворюваннях нирок різного походження. Вивчено метаболічні зміни у тканинах нирок при експериментальній опіковій хворобі [270]. У динаміці експериментальної опікової хвороби «Ліпін» суттєво обмежує катаболічні порушення у тканинах нирок: протеолітичну активність, деполімеризацію білків сполучної тканини (колагену та протеогліканів), ліполіз, суттєво зменшується розвиток ендогенної інтоксикації, збільшується активність лактатдегідрогенази. Введення ліпосомальної форми на тлі експериментальної опікової хвороби покращує функціональний стан та структуру нирок, суттєво збільшує гломерулярну фільтрацію, коригує показники виведення азотистих речовин та натрій регулюючі функції нирок, обмежує порушення мікроциркуляції, набряки та запальну інфільтрацію у корковій та мозковій тканинах нирок.

Наведені дані переконливо доводять ефективність застосування препарату «Ліпін» при захворюваннях різної етіології. «Ліпін» застосовується при синдромі гострої та хронічної дихальної недостатності різного генезу у дорослих та дітей, при інфаркті міокарда та нестабільній стенокардії, гострих та хронічних гепатитах, холециститі, цирозі печінки, при пародонтозі, пієлонефриті та інших захворюваннях. Дія «Ліпіну» заснована на здатності інгібувати процеси перекисного окислення ліпідів у крові та тканинах, детоксикаційних властивостях, мембранопротекторному ефекті, підвищенні неспецифічного імунітету, антигіпоксичній дії, що підвищує



швидкість дифузії кисню з легенів у кров, а з крові у тканини, нормалізує функції тканинного дихання.

### 3.2. Ліподокс – ліпосомальний доксорубіцин.

В Україні з 1992 року розпочато роботи зі створення ліпосомальної форми доксорубіцину гідрохлориду, проведено доклінічні [17, 271, 272] та клінічні дослідження [273, 274], які завершилися у 1998 році реєстрацією в Україні препарату під назвою «Ліподокс» [46, 58, 275, 276]. З цього часу розпочато використання «Ліподоксу» в клініці. До складу препарату входять ліпосоми з ЕРС. Клінічні дослідження підтвердили відносно низький рівень токсичності ліпосомальної форми доксорубіцину, що дозволило застосовувати «Ліподокс» на фоні виражених явищ загальної інтоксикації організму як пухлинного генезу, так і пов'язаних із супутньою патологією. Ступінь прояву кардіотоксичності та мієлосупресії при використанні ліпосомальної форми була менш виражена у порівнянні з вільною формою доксорубіцину. Дослідники дійшли висновку, що за ефективністю «Ліподокс» перевершує вільний доксорубіцин, зокрема при резистентних до лікування та агресивних формах злоякісних лімфом, при істинних рецидивах, що розвинулися у зоні виражених фіброзних змін.

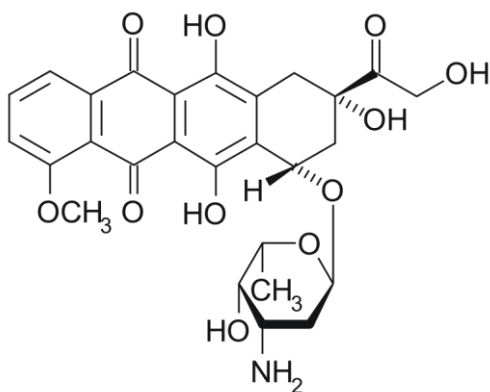


Рисунок 3.2 – «Ліподокс» та його діюча речовина – доксорубіцину гідрохлорид.

Зниження побічних ефектів (таких як мієлосупресія, гематологічна токсичності, кардіотоксичність) при використанні ліпосомальної форми доксорубіцину дозволило рекомендувати препарат у схемах лікування

хворих на лімфогранулематоз та неходжкінські лімфоми. «Ліподокс» добре зарекомендував себе у лікуванні хворих похилого віку із порушеннями серцевої діяльності. За рахунок невеликого діаметру ( $150\pm 40$  нм) ліпосоми, ймовірно, можуть проникати через стінки капілярів, які живлять пухлину та проникність яких підвищена. Після проникнення ліпосом в пухлину відбувається руйнування ліпосомальної мембрани та вивільнення доксорубіцину. При порівнянні ефективності та безпечності використання вільної та ліпосомальної форми доксорубіцину встановлено, що «Ліподокс» за рядом параметрів перевершує препарат порівняння. Так, при більш пролонгованій дії рівень гепато- та нефротоксичності «Ліподоксу» нижчий, що дозволяє зменшити спектр протипоказань для його використання [14, 277–280]. При лікуванні пацієнток з резистентними до доксорубіцину формами раку молочної залози у всіх випадках спостерігали позитивну динаміку [14, 278]. У хворих діагностували усунення плевриту, стабілізацію асцити, зменшення кількості метастаз у лімфатичних вузлах. Очевидно, ліпосомальна форма доксорубіцину дозволяє молекулам препарату проникати безпосередньо у пухлину. Повільне вивільнення доксорубіцину з ліпосоми дозволяє уникнути виникнення пікової концентрації препарату в плазмі, що сприятливо позначається на профілі безпечності. Проведено вивчення впливу «Ліподоксу» на ефект променевої передопераційної терапії, яка проводилася через 21 день після закінчення 4 курсів неоад'ювантної хіміотерапії у двох групах жінок, хворих на місцево поширений рак молочної залози. Проведені дослідження продемонстрували модифікуючий вплив неоад'ювантної хіміотерапії ліпосомальною формою доксорубіцину при місцеворозповсюдженному раку молочної залози.

Проведено клінічні дослідження «Ліподоксу» для лікування хворих на лімфогранулематоз та неходжкінські лімфоми [14, 275]. Схеми поліхіміотерапії хворих основної групи включали ліпосомальну та вільну форму доксорубіцину (хворим контрольної групи). Застосування «Ліподоксу» забезпечувало стійку безперервну позитивну динаміку регресії лімфатичних вузлів і дозволило досягти ремісії навіть при рефрактерних формах. При лікуванні хворих на рак молочної залози показано покращення стану хворих та зниження токсичності при лікуванні «Ліподоксом». Також показано можливість подолання резистентності до вільного доксорубіцину [14, 278–281].

Клінічні дослідження підтвердили ефективність препарату «Ліподокс» у порівнянні з вільною формою доксорубіцину, що проявляється у зниженні токсичності і, що особливо важливо, дозволяє з позитивною динамікою проводити хіміотерапію хворих з різними формами раку з резистентністю до доксорубіцину. Препарат виявляє антиоксидантні властивості, інгібуючи процеси перекисного окислення ліпідів, мембранопротекторні властивості, включаючи кардіопротекторні, дозволяє боротися з резистентними до доксорубіцину пухлинами.

### 3.3. Ліолів – ліпосомальний гепатопротектор.

У 1993–2006 роках в Україні проведено роботу зі створення першого у світі ліцензованого препарату-гепатопротектора на основі металоліпосом під назвою «Ліолів». Як АФІ використовували гепатопротектор антраль – комплекс алюмінію з N-2,3-диметилфенілантраніловою кислотою [282]. До складу «Ліоліву» входять ліпосоми з ЕРС, в бішар яких інкапсульований антраль.

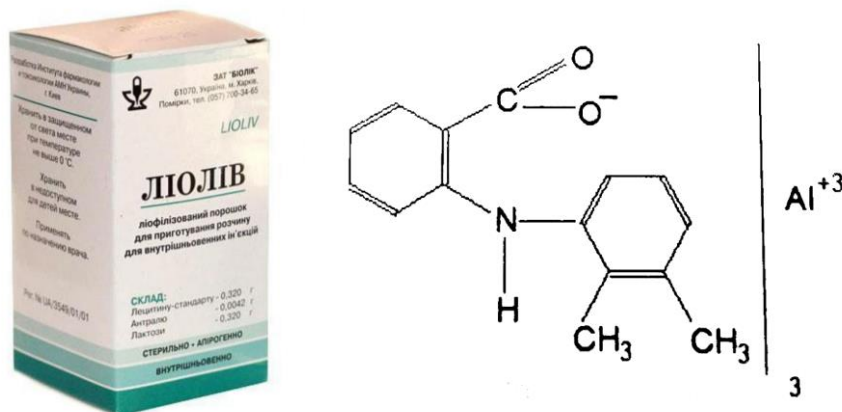


Рисунок 3.3 – «Ліолів» та його діюча речовина – антраль

Проведено доклінічні дослідження «Ліоліву» [283–285]. Проведено порівняння ряду гепатопротекторів: «Есенціале», «Силібор» та «Ліолів». Встановлено, що «Ліолів» більшою мірою проявляє антиоксидантні та антицитолітичні властивості. Наприклад, вміст малонового діальдегіду та маркерних амінотрансфераз зростає мінімально порівняно з використанням інших гепатопротекторів. За результатами доклінічного вивчення показано, що «Ліолів» при парентеральному та ентеральному шляху введення

ня при експериментальному ураженні печінки різними гепатотоксинами та їх комбінацією сприяє збільшенню виживання експериментальних тварин, нормалізації активності мікросомальних ферментів і трансаміназ сироватки крові, послаблює дію гепатотоксинів, активізує репаративні процеси у гепатоцитах, обмін речовин у клітині, результатом чого є нормалізація білково-синтетичної та ліпотропної функції клітин. Про позитивний вплив ліпосомальної форми антралю на перебіг гострого порушення печінки свідчать дані патоморфологічних досліджень печінки, що відображають різке зменшення дистрофічних змін і посилення процесів регенерації гепатоцитів. Гепатопротекторна дія препарату зумовлена інгібуванням процесів перекисного окислення ліпідів, підтримкою ендогенних антиоксидантних систем організму, стабілізацією структури печінки та мембран гепатоцитів, а також функцій неспецифічної інтоксикації. «Ліолів» в експерименті продемонстрував гепатопротекторні властивості при свинцево-кадмієвих токсикозах, показано можливість корекції токсичних проявів при даній патології [286].

За даними фармакологічних досліджень «Ліоліву» ліпосомальна композиція зберігає структурну цілісність у кровотоці та тканинах, а також накопичується переважно у печінці та селезінці, що, на думку авторів, підтверджує гепатоспецифічність препарату та відповідність закономірностей фармакокінетиці ліпосомальних засобів [287]. Поряд із гепатозахисним ефектом препарат виявляє виражену пролонговану протизапальну дію. Клінічні дослідження ліпосомальної форми антралю при лікуванні хворих на гострий вірусний гепатит С показали гепатопротекторні його властивості. «Ліолів» сприяє швидшій регресії клінічних проявів хвороби, у тому числі інтоксикаційного та диспептичного синдромів, більш раннім настанням жовчного кризу, суттєвому покращенню якості життя. Встановлено можливість застосування «Ліоліву» у лікуванні алкогольної хвороби печінки [288] та запропоновано його використання для лікування модельного вульвовагініту [289].

Проведено дослідження гепатопротекторних властивостей «Ліоліву» при лікуванні хворих цитостатиками (оксаліплатин, фторурацил) [290, 291]. Авторами вперше був використаний гепатопротектор «Ліолів», який відноситься до класу металоліпосом для оцінки його гепатопротекторної дії при хіміотерапії колоректального раку II-III стадії (хворих лікували ок-

саліплатином та фторурацилом), який використовували у складі супровідної терапії. Встановлено, що за відсутності супровідної терапії «Ліолівом» при хіміотерапії 30% хворих вимагали корекції дози або перенесення курсів хіміотерапії. Запропоновано спосіб лікування дорослих хворих на хронічні гепатити невірусної етіології за допомогою металоліпосом [292].

Таким чином, проведені дослідження підтвердили високу гепатопротекторну активність препарату. За результатами клінічних досліджень встановлено, що «Ліолів» сприяє зниженню дії гепатотоксинів, активації репаративних процесів у гепатоцитах та сприяє нормалізації показників структурно-функціонального стану печінки у дорослих та дітей, зменшує цитоліз шляхом стабілізації мембранних структур гепатоцитів. Препарат інгібує процеси перекисного окислення ліпідів у крові та тканинах, підтримує активність антиоксидантних систем в організмі, виконує функцію неспецифічного детоксиканту, виявляє мембранопротекторний та проти-запальний ефект. «Ліолів» зменшує явища мезенхімально-клітинного запалення шляхом впливу на імунологічні та біосинтетичні процеси в тканині печінки, нормалізує процеси тканинного дихання через систему цитохромів та окисного фосфорилування. Металоліпосоми не порушують функціональної діяльності органів та систем організму, нетоксичні і не мають кумулятивних властивостей [293, 294].

### **3.4. Ліпофлавіон – ліпосомальний кверцетин.**

Терапевтичний потенціал кверцетину відомий давно [295]. Складність створення ін'єкційних лікарських препаратів обумовлено передусім його вкрай низькою розчинністю у водних розчинах. У водному розчині розчинність кверцетину коливається від 0,00215 г/л при 25 °С до 0,665 г/л при 140 °С. Погана розчинність та низька стабільність кверцетину у кишечнику призводить до швидкого метаболізму та зниження його пероральної біодоступності. При дослідженні біодоступності кверцетину, введеного людям *per os*, встановлено, що лише близько 1% введеного АФІ виявляє фармакологічну активність [295]. Незважаючи на це проведено численні дослідження на тваринах з використанням кверцетину при різних модельних патологіях та виявлено його вплив:

✓ **на діабетичні захворювання печінки**, що проявлялося у знижен-

ні росту активності ферменту СYP2E, що приводило до запобігання окисного пошкодження печінки;

✓ **на діабетичну нефропатію** за рахунок пригнічення активності протеїнкінази, покращуючи морфологічні показники тканини нирок [296];

✓ **на діабетичну патологію сітківки ока** людини [297];

✓ кверцетин інгібував індуковану високим вмістом глюкози проліферацію клітин за рахунок зниження експресії судинного ендотеліального фактора росту (VEGF), а також знижував окисні ураження і NF- $\kappa$ B-опосередковане запалення, покращуючи рівень нейротрофічних факторів та інгібування апоптозу нейронів [298];

✓ **на серцево-судинні захворювання** [299, 300]. Тривале застосування кверцетину знижувало ризик підвищення рівня систолічного артеріального тиску у щурів зі спонтанною гіпертензією. Аналогічні дані отримані на людях при прийомі кверцетину в капсулах у дозі 750 мг протягом 28 днів, що приводило до зниження тиску у хворих з артеріальною гіпертензією. Останні роки кверцетин привертає до себе велику увагу завдяки своїй захисній ролі від ішемії/реперфузії. Кверцетин може пом'якшувати пошкодження від окисного стресу за рахунок інгібування NADPH-оксидази та ксантигіпоксидази, а також видалення активних форм кисню [301]. Кверцетин проявляє протизапальну та антиапоптичну дію за рахунок зниження реакції на запальні фактори та інгібування клітинного апоптозу. Крім того, він може викликати ефекти вазодилатації за рахунок інгібування рецепторів ендотеліну-1, посилення стимуляції NO та активації кальцій-залежних калієвих каналів великої провідності;

✓ **на центральну нервову систему, хвороба Альцгеймера** [302]. Кверцетин допомагає покращити нейрогенез і тривалість життя нейронів, модулюючи сигнальні шляхи кінази, тирозинкінази АКТ/pK8, протеїнкінази С. Встановлено, що катехол та гідроксильні групи кверцетину відіграють важливу роль в інгібуванні агрегації  $\beta$ -амілоїду при хворобі Альцгеймера. Також показано, що кверцетин збільшує виживання культури клітин нейронів *in vitro*. Припускають, що кверцетин може опосередковано інгібувати утворення пептидів  $\beta$ -амілоїду, стримуючи активність ферментів (таких як BACE-1), що розщеплюють попередник амілоїдного  $\beta$ -білка. Дослідження показали, що ОН-групи і фенольні кільця флавоноїдів необхідні для нековалентних взаємодій  $\beta$ -складчатими структурами, які є

спільними для всіх амілоїдних білків [303]. Отримані результати свідчать про те, що кверцетин зв'язує олігомери  $\beta$ -амілоїду на ранніх стадіях їх агрегації, що приводить до утворення модифікованих олігомерів і перешкоджає утворенню  $\beta$ -складчастої структури, потенційно запобігаючи виникненню хвороби Альцгеймера. Дослідження, що підтверджують потенційну ефективність кверцетину при лікуванні хвороби Альцгеймера продовжуються [304, 305];

✓ *на активність ферменту тирозинази* [306].

Наведені дані демонструють багатофункціональність дії кверцетину при пероральному введенні.

Протягом 2000–2007 років в Україні проведено доклінічні та клінічні дослідження препарату «Ліпофлавон» – ліпосомальної форми кверцетину для профілактики та лікування серцево-судинної патології. Одночасно проведено доклінічні та клінічні випробування препарату «Ліпофлавон» як засобу, що прискорює регенерацію, одужання та має протизапальні властивості у комплексній терапії хворих з ушкодженнями рогівки. До складу препарату вводили ЕРС.

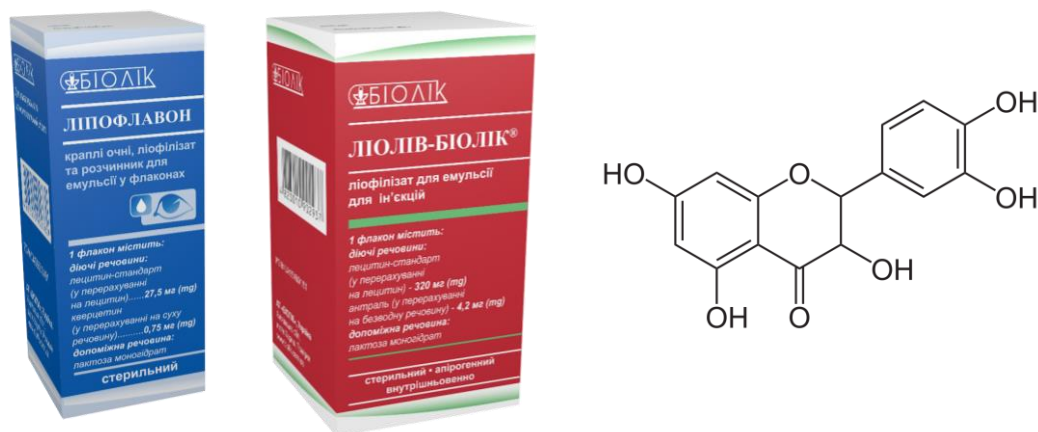


Рисунок 3.4 – «Ліпофлавон» та його діюча речовина – кверцетин.

«Ліпофлавон» відноситься до групи антиоксидантів та антигіпоксантів, препаратів з протекторними властивостями при різних процесах перекисного окиснення. Препарат кверцетину, субстанцію якого включено до складу ліпосом препарату «Ліпофлавон», істотно зменшує як гемодинамічні порушення, так і обсяг некротичного пошкодження при гострій ішемії та реперфузії міокарда. Цей ефект обумовлений мембраностабілізуючою дією кверцетину, про що свідчить різке гальмування деградації мембран-

них ферментів у ішемізованому міокарді, а також гальмування активності ліпоксигеназ та неферментативних прооксидантних реакцій [307]. Встановлено, що одним із провідних механізмів ушкодження кардіоміоцитів при гострій та хронічній ішемії міокарда є активація вільнорадикального окислення. На сьогоднішній день з позиції вільнорадикальної теорії можна пояснити практично всі ключові моменти атерогенезу: утворення пінистих клітин та ліпідозу аорти, міграцію та проліферацію гладком'язових клітин, розвиток ендотеліальної дисфункції, активацію тромбоутворення. Встановлено можливість використання ліпосомальних форм кверцетину при лікуванні хворих на ішемічну хворобу серця та при радіаційних ураженнях [308–311]. Доведено роль активації вільнорадикального окислення у патогенезі інфаркту міокарда та реперфузійному синдромі. Виявлено переважання вільнорадикальних процесів при зниженні активності антиоксидантних ферментів у осіб зі стабільною стенокардією. Доведено, що надмірне утворення вільних радикалів є основою дисфункції ендотелію та ремоделювання судин, характерних для гіпертонічної хвороби. У зв'язку з цими факторами можна говорити, що одним із перспективних напрямів фармакотерапії в кардіології є пошук оптимальних методів міокардіальної цитопротекції, зокрема препаратів, які мають властивості антиоксидантів, мембранопротекторів та інгібіторів каталітичних ферментів. Спираючись на роль процесів перекисного окислення у формуванні серцево-судинної патології, ліпосомальний кверцетин може бути успішно використаний для запобігання вільнорадикальному окисленню у клітинах, проявляючи антиоксидантну дію. На користь цього можуть бути дані, отримані при використанні в кардіології ліпосомального препарату «Ліпін» [312, 313].

З початку ХХІ століття проведено численні дослідження, спрямовані на вивчення кардіопротекторних та нейропротекторних властивостей кверцетину. Причому всі дослідження проводилися на тваринах з використанням АФІ кверцетину з метою виявлення його кардіопротекторних можливостей. Встановлено, що кардіопротекторний ефект кверцетину обумовлений мембраностабілізуючою його дією, про що свідчить гальмування деградації мембранних ферментів в ішемізованому міокарді, а також гальмування активності ліпоксигеназ та неферментативних прооксидантних реакцій. При використанні кверцетину виявлено ряд фармакологічних ефектів:



- ✓ інгібування сигнальних шляхів мітоген-антивірусної протеїнкінази JNK та p38 [314];
- ✓ кардіопротекторний ефект, що відновлює рівень гормонів щитовидної залози в плазмі та знижує стрес [315];
- ✓ захист кардіоміоцитів від окислення та регуляція чутливих до стресу каскаду протеїнкінази та факторів транскрипції та зниження артеріального тиску [316, 317];
- ✓ зниження серцевих та ниркових маркерів окисного стресу, зменшення розмірів інфаркту міокарда, вплив на рівень креатинкінази, лактатдегідрогенази [318–320].

Використання кверцетину демонструє високий антиоксидантний потенціал [321]. Проведено дослідження стимуляції кверцетину на репарацію клітин кардіоміоцитів H9C2 *in vitro* (2012 р.). Встановлено, що кверцетин здатний відновлювати життєздатність клітин, оброблених доксорубіцином [322]. Встановлено зниження індукованої доксорубіцином цитотоксичності та стимулювання системи репарації кардіоміоцитів. Автори цієї роботи помилково вказують, що дослідження є першим. Проте захист кардіоміоцитів при використанні ліпосомального кверцетину було встановлено в Україні ще у 2004 році [323].

Важливим фактором, який визначає кардіопротекторні властивості кверцетину, є його здатність підвищувати рівень оксиду азоту в тканинах та ендотелії міокарда. Цей ефект був експериментально доведений у дослідках на культурі ендотеліоцитів пупкової вени людини та в експериментах *in vivo* з прямим визначенням рівня оксиду азоту в міокарді та стінці судин кролика та при моделюванні процесів ішемії/реперфузії міокарда у собак [324, 325]. Препарат «Ліпофлавіон» рекомендований для лікування гострого інфаркту, нестабільної стенокардії, а також реперфузійних порушень при тромболітичній терапії, серцевій недостатності. За минулі роки в літературі накопичено значний обсяг досліджень із застосування «Ліпофлавіону» в доклінічних та клінічних дослідженнях:

- ✓ проведено порівняльне вивчення кардіопротективних властивостей ліпосомальної та неліпосомальної форми кверцетину [326, 327];
- ✓ наведено можливість використання нових лікарських форм кверцетину при ішемічних та радіаційних ураженнях [310];

- ✓ запропоновано комбіноване лікування хронічної серцевої недостатності, кардіоміопатії з використанням ліпосомального кверцетину [328, 329];
- ✓ встановлено позитивну динаміку лікування нестабільної стенокардії при використанні «Ліпофлакону» [330, 331];
- ✓ доведено ефективність «Ліпофлакону» у лікуванні хворих з артеріальною гіпертензією, ревматичними вадами серця, у терапії гіпоксично пошкодженого міокарда новонароджених [332–335].

Проведено цикл дослідження «Ліпофлакону» як кардіопротектора для попередження розвитку кардіологічних ускладнень у хворих на операбельний рак молочної залози, які отримували лікування антрациклінами [323, 336–338], що дозволило рекомендувати «Ліпофлакон» як кардіопротектор при доксорубіциновій кардіоміопатії. Проведені дослідження з оцінки ефективності «Ліпофлакону» при радіаційному опроміненні [339]. В результаті досліджень встановлена радіозахисна ефективність ліпосомального препарату «Ліпофлакон», що проявляється у попередженні лейкоцитопенії, протизапальній активності та зниженні радіаційних ускладнень у тканині легень тварин, які зазнавали опромінення.

Самостійним питанням стало вивчення «Ліпофлакона» в офтальмології. Після проведення широкого спектра досліджень в офтальмології «Ліпофлакон» був рекомендований для лікування:

- ✓ уражень рогівки (проникні та непроникні),
- ✓ післяопераційних ран рогівки – після екстракції катаракти [340, 341],
- ✓ кератитах різного генезу [342, 343],
- ✓ запальних станів очей [344, 345],
- ✓ діабетичної ретинопатії з наведенням патогенетичного обґрунтування при даній патології [346–349].

Проведено дослідження препарату «Ліпофлакон» з метою вивчення нешкідливості ліпосомальної композиції в офтальмології [350]. Отримані результати свідчать про відсутність небажаних офтальмологічних побічних реакцій при різних способах періокулярного введення, причому субкон'юнктивальне введення є практично безпечним для структури кон'юнктиви, рогової оболонки та сітківки, а зміни при парабульбарному введенні мінімальні. Верифікація періокулярних способів введення «Лі-

пофлавону» створює перспективу розширення шляхів застосування ліпосомальних засобів при офтальмологічних патологіях для цілеспрямованої доставки препарату в осередок ураження.

Проведено доклінічні та клінічні випробування при ряді інших захворювань:

- ✓ лікування хворих на псоріаз [351–353];
- ✓ лікування хворих на пародонтоз [354, 355];
- ✓ лікування хронічних обструктивних захворювань легень [356];
- ✓ застосування «Ліпофлавону» в гастроентерології сприяє відновленню функціонального стану ендотелію слизової оболонки шлунка при гепатиті та цукровому діабеті 1 та 2 типу [357–359];
- ✓ вивчається використання «Ліпофлавону» при нирковій недостатності [360–362] та як протектора нервової тканини [363–365].

При застосуванні вільного кверцетину рядом авторів було встановлено нейропротекторну активність: захист мозку при лікуванні черепно-мозкових порушень, церебропротекторна дія, профілактика та лікування хвороб Паркінсона та Альцгеймера, протисудомна дія та ряд інших патологій, пов'язаних з необхідністю нейропротекції [317]. Показано, що вживання кверцетину впливає на біогенез мітохондрій, вироблення енергії, роботу ланцюга переносу електронів. Антиоксидантний потенціал та здатність поглинати вільні радикали відіграли важливу роль у поясненні нейропротекторного ефекту кверцетину. Крім того, показано, що кверцетин здатний долати ГЕБ. Роль кверцетину в лікуванні нейротоксичних змін пов'язана зі здатністю антиоксидантів проникати в тканини головного мозку та індукцією синтезу оксиду азоту [366]. Авторами показано, що кверцетин захищає нервову систему від патологічних змін.

Аналіз наведеної літератури підтверджує можливість використання «Ліпофлавону» в кардіології для комплексного лікування гострого інфаркту міокарда без зубця Q, стабільної та нестабільної стенокардії; в офтальмології для лікування уражень рогівки (проникні та непроникні); післяопераційних ран рогівки – після екстракції катаракти; поліхіміотерапії при використанні антрациклінових антибіотиків та ін. Висока ефективність «Ліпофлавону» насамперед пов'язана з проявом ним ряду ефектів: антиоксидантний, антигіпоксичний, мембранопротекторний, у тому числі і кардіопротекторний, протизапальний, призводячи до зниження синтезу про-

запального цитокіну інтерлейкіну-8. Окисний стрес, який супроводжується активними формами кисню, сприяє розвитку захворювання, порушуючи роботу ендотеліальної синтази, знижуючи таким чином біодостпність оксиду азоту (NO). Оксид азоту діє як ендогенний фактор релаксації, який регулює судинний тонус, а також ремоделювання серця та судин. Зниження рівня оксиду азоту пов'язане з гіпоксією та прогресуванням серцево-судинних захворювань у хворих із вже існуючою судинною дисфункцією [367, 368]. Дані, наведені в літературі при використанні препарату «Ліпофлавіон», переконливо доводять роль кверцетину для лікування серцево-судинних патологій.

Необхідно зазначити, що за винятком «Ліпофлавіону» ліпосомальна форма кверцетину у вигляді лікарського препарату дотепер не ліцензована.

Таким чином, застосування ліпосом є ефективним і перспективним напрямом *drug delivery system* [9, 10]. Ліпосомальні препарати знайшли широке застосування як при доставці різних АФІ, вакцин та при діагностиці ряду захворювань, наприклад, туберкульозу [369].

Створення ліпосомальних препаратів в Україні триває понад 30 років. У розробці ліпосомальних форм, зареєстрованих в Україні, брав участь колектив фахівців різного профілю: хіміки, біохіміки, фармакологи, медики та технологи. В інституті фармакології та токсикології НАМН України під керівництвом Олександра Вікторовича Стефанова (1950–2007) сформувалася група фахівців, до якої входять провідні вчені інституту д.х.н Григор'єва Г.С, Соловйов А.І., к.х.н Конахович Н.Ф. та ін., які успішно продовжують розвиток цього наукового напрямку і сьогодні. Технологічні питання вирішувалися технологами та аналітиками на Харківському підприємстві з виробництва імунобіологічних та лікарських препаратів «Біолік»: д. фарм. н. Сенніковим Г.А. (1938–1991), академіком РАН Швецом В.І. (1936–2019), д. мед. н. Дудніченко О.С., Теміровим Ю.П., Чайкою Г.С. (1939–2019) та ін.

Підприємство «Біолік» на сьогоднішній день – єдине підприємством, яке має необхідну можливість з розробки та виробництва ліпосомальних форм в Україні. Крім цього, підприємство має можливості щодо надання послуг у зазначених напрямках. На жаль, за 15 років підприємство не

створило жодної нової ліпосомальної лікарської форми, зареєстрованої в Україні чи інших країнах.

При розробці лікарських форм на основі наночастинок (ліпосоми, LNP) необхідно враховувати низку визначальних факторів:

- ✓ біосумісність – використання природних фосфоліпідів має перевагу, оскільки вони характеризуються високою метаболізованістю;

- ✓ роль холестерину – він визначає плинність ліпідного бішару, підвищує плинність твердих і зменшує плинність рідких бішарів; враховуючи природне походження, призводить до високої біосумісності ліпідних наночастинок;

- ✓ фазовий стан і температура фазового переходу – значною мірою визначає стабільність і здатність включати АФІ в наночастинок, взаємодіяти з біомембранами в організмі і вивільняти вантаж з наночастинок:

- ✓ дзета-потенціал – впливає на стабільність і швидкість вивільнення АФІ, період напіврозпаду в кровотоці та злиття з біомембранами;

- ✓ використання катіонних ліпідів – через те, що ці ліпіди не є природними компонентами мембран, необхідно враховувати їхню біосумісність і токсичність продуктів їх розпаду.

Наприкінці 2022 року з'явився документ про перспективний розвиток ліпосомальних технологій і отриманих за цими технологіями лікарських препаратів [370]. Одночасно компанією Visiongain опубліковано звіт [371], згідно з яким щорічний приріст ліпосомальних продуктів з 2022 до 2032 становитиме 10,69 % на рік і обсяг препаратів досягне 11292,6 млн. доларів.

Підсумовуючи слід зазначити, що, що ліпосомальні лікарські препарати прокладають собі дорогу в сучасну медицину по мірі появи продуктів з новими фармакологічними властивостями.

#### 4. ЕКЗОСОМИ – ПЕРСПЕКТИВНІ DRUG DELIVERY SYSTEM

Конкуренцію ліпосомальним лікарським препаратам вже у недалекому майбутньому можуть скласти системи *drug delivery system* на основі позаклітинних везикул, оточених бішаром ліпідної мембрани, – екзосом. Цей клас позаклітинних частинок виявлено відносно недавно і порівняно з ліпосомами він має низку як істотних переваг, так і недоліків, переважно пов'язаних із масштабуванням виробництва екзосом, включаючи виділення, очищення, методи стабілізації та ідентифікації [372–374].

*Екзосоми* – це невеликі позаклітинні везикули, природні наночастинки, що відіграють важливу роль у міжклітинних комунікаціях, переносять свій вміст (вантаж) широкого спектру: ліпіди, білки, метаболіти, РНК (мРНК, мікроРНК, довгі некодуючі РНК) і ДНК [372, 373]. Екзосоми вперше описані 40 років тому в 1983 році [372]. Дослідження, проведені на екзосомах, дали підґрунтя розглядати їх як систему доставки ліків (*drug delivery system*) [372, 373], яка характеризується хімічною, фізичною та біологічною стабільністю, переносимістю, можливістю промислового масштабування та функціоналізацією для націлювання на клітини-мішені. Перелічені фактори роблять екзосоми ідеальними наночастинками для доставки ліків із широким терапевтичним застосуванням. В даний час проводиться докладне вивчення екзосом та їх ролі, як у фізіологічних, так і патологічних процесах [374]. Враховуючи, що екзосоми беруть участь у складних біологічних процесах, вони були запропоновані для доставки ліків, оскільки можуть бути завантажені як малими молекулами, так і макромолекулами, що дає передумови для їх використання як терапевтичних інструментів для лікування різних захворювань, включаючи онкологічні, серцево-судинні, неврологічні та ін. Нанорозміри екзосом (30–200 нм) дозволили використовувати їх як *drug delivery system* у переносі макро- та мікромолекул, включаючи лікарські препарати, щорічно збільшується кількість доклінічних та клінічних досліджень [374–376]. Необхідно також відмітити можливість використання екзосом як біомаркерів для діагнос-

тики низки захворювань, наприклад, раку та СНІДу [377, 378]. Так, за допомогою мічених люциферазою екзосом автори дослідження запропонували проводити біолюмінісцентний аналіз білкових молекул, механізмів їх біосинтезу, секреції, поглинання та біорозподілу [378].

#### 4.1. Утворення та склад екзосом.

Утворенню екзосом присвячено низку досліджень [372, 373, 375, 376]. На думку дослідників, спочатку екзосоми утворюються шляхом інвагінації (брунькування усередину, вп'ячування) клітинної мембрани на ранній стадії, а потім у ранніх сортуючих екзосомах починають накопичуватися біоактивні речовини. Під контролем комплексу сортування ендоситозу та ряду споріднених білків необхідні для транспорту ранні ендосоми перетворюються на ендосоми пізнього сортування, які зрештою утворюють мультивезикулярні тільця після другого вп'ячування. Після злиття мультивезикулярних тілець із клітинною мембраною речовини усередині клітин вивільняються назовні у вигляді везикул. Ці везикули і є екзосомами.

Основні стадії утворення екзосом можна уявити таким чином:

✓ вп'ячування мікродоменів плазматичної мембрани, покритих клатрином (клатрин – внутрішньоклітинний білок, основний компонент оболонки бульбашок, що утворюються при рецепторному ендоситозі);

✓ ендосомний комплекс сортування забезпечує перетворення бульбашок мембрани на ранні ендосоми, які транспортують убіквітиновані продукти (Убіквітин – невеликий консервативний білок еукаріотів, який бере участь у регуляції процесів внутрішньоклітинної деградації інших білків, а також у модифікації їх функцій; він присутній майже у всіх тканинах);

✓ повторне вп'ячування в ранні ендосоми і при цьому утворюються інтралюмінальні бульбашки, які накопичуються і дозрівають всередині ендосом – мультивезикулярні тільця;

✓ мультивезикулярні тільця або перетворюються на лізосоми, де відбувається деградація їх вмісту, або зливаються з плазматичною мембраною (і в такому випадку їх називають екзоцитарними мультивезикуля-

рними тільцями) при цьому інтралюмінальні бульбашки називають екзосомами, які вивільняються у позаклітинний простір.

Процес утворення екзосом наведено на рисунку 4.1.

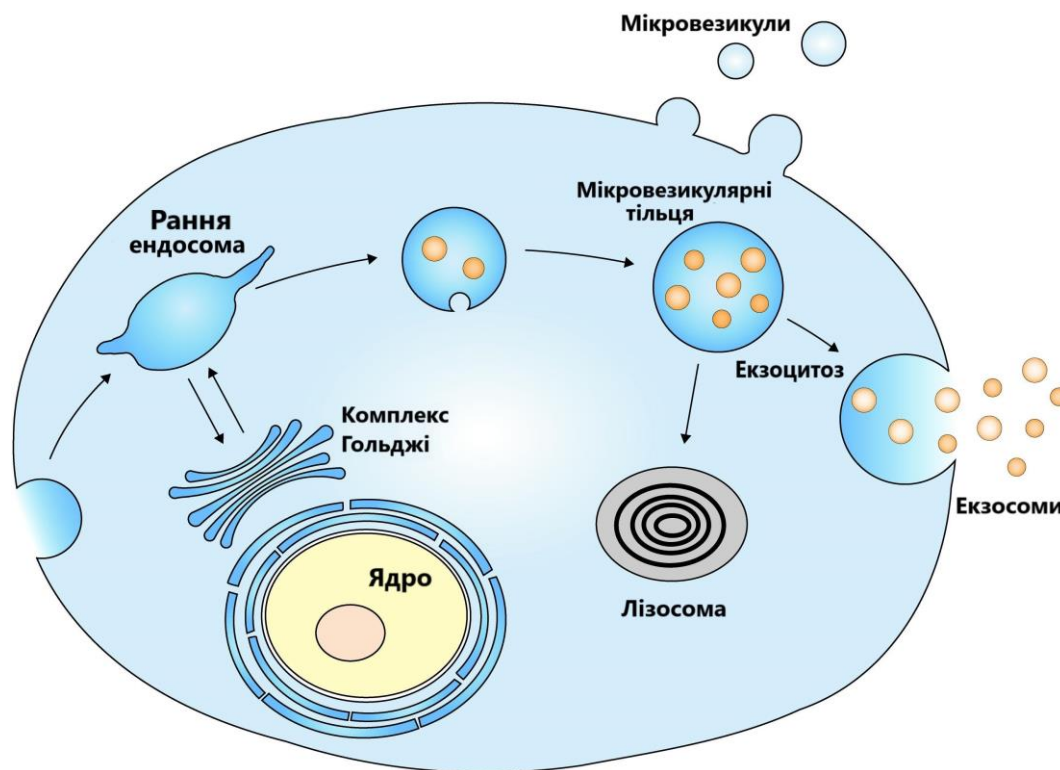


Рисунок 4.1 – Процес утворення екзосом [379]

Таким чином, біогенез екзосом включає їх утворення в ендосомах, а подальша взаємодія з іншими внутрішньоклітинними везикулами та органами генерує кінцевий вміст екзосом. У складі екзосом виявляють ліпіди, нуклеїнові кислоти, білки, амінокислоти та метаболіти. Склад екзосом значною мірою відображає їх походження з різних клітин як нормальних, так і патологічних при різних захворюваннях. Порівняно з клітинами екзосоми містять значну кількість мікроРНК. Крім РНК екзосоми містять ДНК, які можуть переноситися з клітини в клітину. Ліпідні компоненти створюють бішарову мембрану екзосом і представлені ліпідами різної структури [380]. Екзосоми являють собою тільця позаклітинних везикул, що вивільняються з клітин після злиття мультивезикулярних тілець з плазматичною мембраною. Ці везикули часто збагачені холестеринем, сфінгомеліном, глікосфінголіпідами, PS і PC. Ліпіди відіграють структурну роль не тільки у мембранах екзосом, але й у формуванні екзосом через вивільнення у позаклітинне середовище. Особливу увагу дослідники приді-



ляють ефірним ліпідам, які беруть участь у транспорті через мембрани і містяться у великій кількості в деяких екзосомах. Авторами обговорюється роль мембранних фосфоліпідів, які беруть участь у регулюванні вивільнення екзосом та у зв'язку цього процесу з секреторною аутофагією. Роль ліпідів мембрани екзосом також визначає їхню можливість до перенесення лікарських засобів при створенні *drug delivery system*. Мембрана екзосом багата холестеринем, церамідами і сфінгомієліном, які беруть участь в утворенні та секреції екзосом. Для ідентифікації екзосом зазвичай необхідно виявити принаймні один позитивний трансмембранний ліпід-зв'язуючий білок (CD9, CD 63, CD83, інтегрин) та один цитозольний білок виявлений у позаклітинних везикулах (ALix, TSC-101, синтетин або HSP-70), а також принаймні один оригінальний білок (альбуміни, ліпопротеїди та рибосомальні білки). Структура екзосоми наведена на рисунку 4.2.

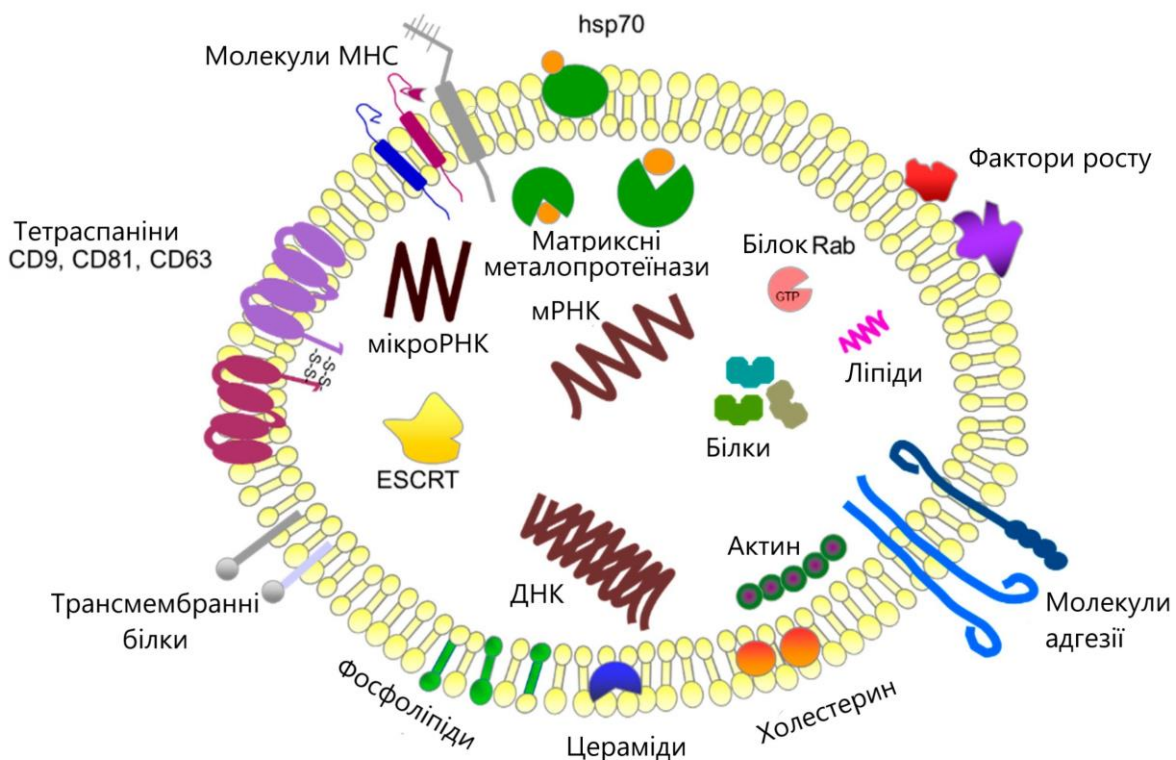


Рисунок 4.2 – Структура екзосоми [381]

Вивчення механізму утворення екзосом продовжується і, на думку ряду дослідників, є дискусійним питанням [375]. Склад екзосом дещо відрізняється залежно від типу клітин, у яких вони утворюються. Екзосоми можуть давати уявлення про зміну клітинного або тканинного стану, а ви-

явлення їх у біологічних рідинах потенційно дає багатокомпонентний діагностичний результат [375, 376]. Репродукція людини та ссавців (вагітність та ембріональний розвиток) потребують точної міжклітинної комунікації. Сперма, амніотична рідина, кров та грудне молоко містять екзосоми з передбачуваними функціями. Наприклад, показано, що екзосоми сім'яної рідини беруть участь у дозріванні сперматозоїдів. Припускають, що екзосоми сім'яної рідини також інгібують інформацію ВІЛ-1, імовірно, шляхом блокування рекрутування активатора ранньої транскрипції білка (Fat) ВІЛ та подальшої транскрипції ВІЛ-1 [375].

#### **4.2. Класифікація екзосом.**

Походження та біологічні функції екзосом визначають їхню класифікацію [372]. Екзосоми поділяються на природні та штучні екзосоми (якщо вони модифіковані штучно). Природні екзосоми можна розділити на частинки тваринного та рослинного походження. Оскільки екзосоми продукуються в нормальних та ракових клітинах, то екзосоми тваринного походження діляться на нормальні та пухлинні. Майже всі типи нормальних клітин можуть продукувати екзосоми, такі як ендотеліальні клітини пуповини людини, мезенхімальні стовбурові клітини, Т-клітини та В-клітини, макрофаги, дендритні клітини, природні кілери. Наприклад, мезенхімальні стовбурові клітини є плюрипотентними стовбуровими клітинами, здатними до самооновлення і різнопланового диференціювання. Мезенхімальні стовбурові клітини здатні не тільки адаптуватися до мікросередовища пухлини, але й мають потужну паракринну активність і секретують велику кількість екзосом. Дослідження показали, що екзосоми, які містять пакліаксел, мають значну інгібуючу дію на проліферацію клітинної лінії раку підшлункової залози людини *in vitro* і можуть діяти як носії лікарських засобів [382]. Крім того, показано, що екзосоми мезенхімальних стовбурових клітин відіграють свою роль у розвитку багатьох захворювань. Вони не тільки беруть участь у процесі відновлення та пошкодження тканин, але і мають певну терапевтичну дію при серцево-судинних захворюваннях (таких як інфаркт міокарда), неврологічних захворюваннях, захворюваннях печінки [372, 375].

Необхідно зупинитися ще на одному виді екзосом – штучних екзосомах. Нещодавно були розроблені гібридні екзосоми, одержувані злиттям екзосом з відомими наночастинками: неорганічними (оксиди срібла, золота, кремнію) та органічними (полімерні наночастинки та ліпосоми). Ці гібридні екзосоми були розроблені для надання гібридним частинкам синергетичних властивостей. На рисунку 4.3 наведено схему утворення гібридних *drug delivery system* на основі екзосомальних та ліпосомальних наночастинок.

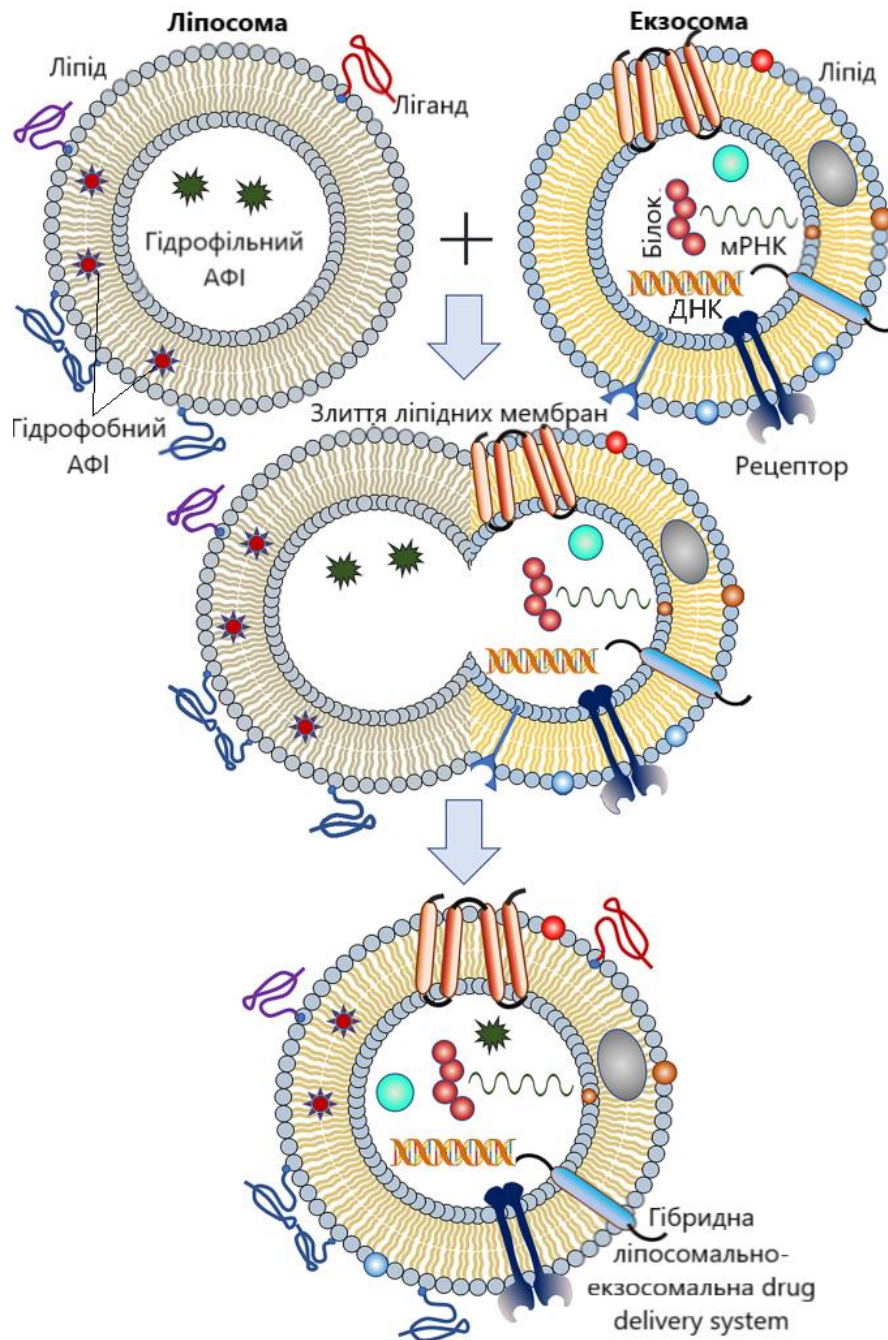


Рисунок 4.3 – Схема утворення гібридних *drug delivery system* на основі екзосомальних та ліпосомальних наночастинок [384]

Гібридні екзосоми можна використовувати в різних методах лікування та терапевтичного застосування. Для виробництва гібридних систем можна використовувати кілька методів: екструзію, обробку ультразвуком, метод заморожування/відтаювання та ін. Привертає увагу той факт, що для отримання гібридних екзосом використовуються методи, які застосовуються при отриманні ліпосом [383]. У таблиці 5 (див. Додатки) наведено типи гібридних *drug delivery system* на основі екзосом.

Як приклад можна розглянути створення гібридних екзосом шляхом злиття мембран екзосом та термочутливих ліпосом. Отримані гібридні екзосоми використовувалися у фототермічній терапії та імунотерапії раку [385]. Сконструйовані екзосоми були виділені з клітин лінії CT26 (сингена модель пухлини товстої кишки мишей) з надекспресією CD47, а термочутливі ліпосоми були отримані шляхом завантаження ICG-R837 (індоціановий зелений (ICG) / імохімод (R837)) як фотометричного агента. Обидва препарати змішували у співвідношенні 1:1 сплавленням (метод заморожування/відтаювання), а потім вводили гібрид у термочутливі екзосоми. CD47, надекспресований на різних пухлинних клітинах, активує сигнал «не їж мене» за допомогою зв'язування з сигнальним рецепторним білком  $\alpha$ (SIRP $\alpha$ ), що приводить до виходу імунної системи із системи мононуклеарних фагоцитів. Гібридні везикули з надекспресією CD47 демонстрували тривалу циркуляцію в крові та покращували опосередкований макрофагами фагоцитоз пухлинних клітин за рахунок блокування сигналу CD47. Гібрид генноінженерних екзосом та термочутливих ліпосом, навантажених лікарським препаратом, виявляли високу активність на моделі пухлини мишей. Встановлено накопичення лікарського препарату у різних ділянках пухлини у мишей. Автори вважають використання гібридних екзосом з надекспресією CD47 з термочутливими ліпосомами перспективним шляхом доставки ліків при лікуванні раку. Запропоновано гібриди ряду інших наночастинок з екзосомами [372, 386, 387].

Показано, що при спільній доставці гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактора (ГМ-КСФ) та доцетакселу наночастинок термочутливих ліпосом ефективно інгібували розвиток пухлини. Використовували фібробласти, трансдуковані лентівірусними векторами для надекспресії CD47 та/або ГМ-КСФ. Щоб покращити доставку ліків були отримані термочутливі ліпосоми, злиті з генетично модифі-

кованими екзосомами. Спочатку проведено одержання термочутливих ліпосом за допомогою методу тонкоплівкової гідратації з подальшою екструзією. Середній розмір ліпосом становив 130,5 нм, дзета потенціал – 5,4 мВ. При температурі 41–42 °С навантажені доцетакселом ліпосоми вивільняють 79–89% свого вмісту протягом 10 хв. Екзосоми отримані з фібробластів, які зазнали трансдукції лентивірусними векторами для надекспресії CD47 та/або ГМ-КСФ. Потім генно-інженерні фібробласти використовували для отримання екзосом шляхом ультрацентрифугування. Гібридні наночастинки із ліпосом та екзосом отримували методом заморожування/відтаювання. Потім відокремлювали злиті частинки від незлитих. Гібридні наночастинки інгібували проліферацію пухлинних клітин метастазуючого раку очеревини мишей [386]. Для подолання перешкод доставки використовують генно-інженерні гібридні наночастинки екзосоми/термочутливі ліпосоми. Після внутрішньовенного введення наночастинки ефективно проникають у пухлину метастатичної перитонеальної карциноми і вивільняють АФІ в умовах гіпотермії. Показано, що при спільній доставці ГМ-КСФ і доцетакселу препарат ефективно інгібує розвиток пухлини, а ефективність підвищується за рахунок гіпертермії всередині черевної порожнини.

#### **4.3. Виділення, очистка та стабілізація екзосом.**

За минулі роки було запропоновані різні методи виділення, очистки, стабілізації та контролю препаратів екзосом [372, 388, 389]. Сьогодні авторами запропоновано кілька методів виділення, вибір яких визначається джерелом отримання екзосом, їх кількістю у сировині та поставленим завданням. Ефективними методами для виділення екзосом є ультрацентрифугування при різних режимах, осадження полімерами, виділення за розмірами та методи імуноафінної хроматографії.

**Ультрацентрифугування.** Ультрацентрифугування відділяє необхідні компоненти на основі відмінностей у розмірі і щільності компонентів у вихідному розчині, що підходить для зразків зі значними відмінностями в коефіцієнті седиментації.

Ультрацентрифугування проводять у дві стадії:

1) серія безперервних центрифугувань за низької та середньої швидкості, при цьому відбувається видалення мертвих клітин, великих позаклітинних везикул, клітинного детриту тощо);

2) осадження екзосом при більшій швидкості, промивання осаду буферними розчинами для видалення забруднюючих домішок, наприклад, білків.

Автори вказують, що на чистоту екзосом, які виділяються, впливають час центрифугування, тип і параметри ротора, величина відцентрової сили [372, 389]. До недоліків цього методу можна віднести ряд факторів: метод не підходить для подальшого аналізу через високі витрати часу, високу собівартість, структурні пошкодження, агрегацію, спільне розділення ліпопротеїнів. Наступним етапом технології отримання екзосом є центрифугування в градієнті щільності, метою якого є очищення екзосом підвищення їх чистоти. Можливе використання центрифугування в градієнті щільності у поєднанні з ультрацентрифугуванням. Необхідне середовище для розділення в градієнті щільності, яке дозволить розділити екзосоми та віруси, які близькі за розміром та щільністю. Проведення центрифугування в градієнті щільності сахарози не дозволяє ефективно розділити екзосоми та віруси. У зв'язку з цим запропоновано використовувати градієнт йодиксанолу, в якому швидкості осідання вірусів та екзосом суттєво відрізняються, що дозволило успішно відокремити екзосоми від ВІЛ-1 інфікованих клітин та отримати екзосоми високого ступеня чистоти.

**Імунноафінна хроматографія.** Метод ґрунтується на взаємодії ліганду, зафіксованого на частинках носія з афінним компонентом з утворенням стійкого комплексу. Афінна хроматографія може використовуватися для очищення антитіл, антигенів, ферментів та інших біологічно активних молекул, у тому числі екзосом. Хроматографія дозволяє виділяти високоочищені продукти. Ефективність зв'язування залежить від спорідненості компонентів, умов елюювання та матричних носіїв. Використовувані антигени повинні бути представлені екзосомами з високим вмістом білка на їхній поверхні [390]. Запропоновано використовувати афінне виділення позаклітинних везикул за допомогою однодоменних антитіл, зв'язаних макропористими сополімерами на основі метакрилату. Однодоменні антитіла (містять лише 2 важкі ланцюги), відомі як нанотіла, були одержані у рекомбінантній культурі *E. coli* [391].

Прогресом у сфері виділення та аналізу екзосом є поява на біотехнологічному ринку тест-наборів для роботи з екзосомами, заснованих на принципі афінної хроматографії. «exoEasy Maxi Kit» (виробництва Qiagen, Німеччина) використовує афінну мембрану для ефективного виділення екзосом із сироватки крові (об'єм 4 мл) та супернатанту клітинних культур (об'єм 32 мл). Використання афінної хроматографії дозволяє отримати неушкоджені екзосоми високої чистоти. Отриманий розчин екзосом можна сконцентрувати методом ультрафільтрації. Запропоновано технологію виділення екзосом Strep tag на основі модифікованих антитіл. Технологія Strep tag дозволяє виділити екзосоми за допомогою афінної хроматографії. Цей підхід називається Fab-TACS (Traceless Affinity Cell Selection) для екзосом. Для виділення екзосом за допомогою афінної хроматографії Fab-Strep поміщують у колонки, які містять агарозні мікрогранули, покриті антитілами. Екзосоми виділяють із супернатанту клітинної культури або плазми. Запропоновано й інші системи для виділення екзосом та інших везикул на основі афінитету.

**Осадження полімерами.** У даному методі як осадник використовується PEG, при цьому екзосоми осаджуються в умовах центрифугування. Спочатку цей метод використовували для осаження вірусів. Метод осаження PEG відносно простий у використанні, аналіз займає обмежений час та підходить для обробки великої кількості зразків. Проте ступінь чистоти та ступінь відновлення відносно низький. Крім того, як у випадку осаження інших молекул і частинок полімерами, труднощі пов'язані з подальшим очищенням від полімеру [391, 392].

**Виділення на основі відмінності у розмірах.** Цей метод відноситься до ультрафільтрації та ексклюзійної хроматографії, що ґрунтується на різниці розмірів екзосом та інших біологічних компонентів. Принцип розділення ексклюзійної хроматографії полягає в тому, що макромолекули не можуть проникати в пори гелю і елююються через пористі гелі з рухомою фазою, тоді як малі молекули залишаються в порах гелю і остаточно елюються рухомою фазою. В даний час існують комерційні колонки для розділення «qEV», колонки для очистки «EVSecond» і колонки для очистки екзосом «Exo-spin». Для ультрафільтрації використовуються ультрафільтраційні мембрани з порогом відсікання за молекулярною масою [372, 388].

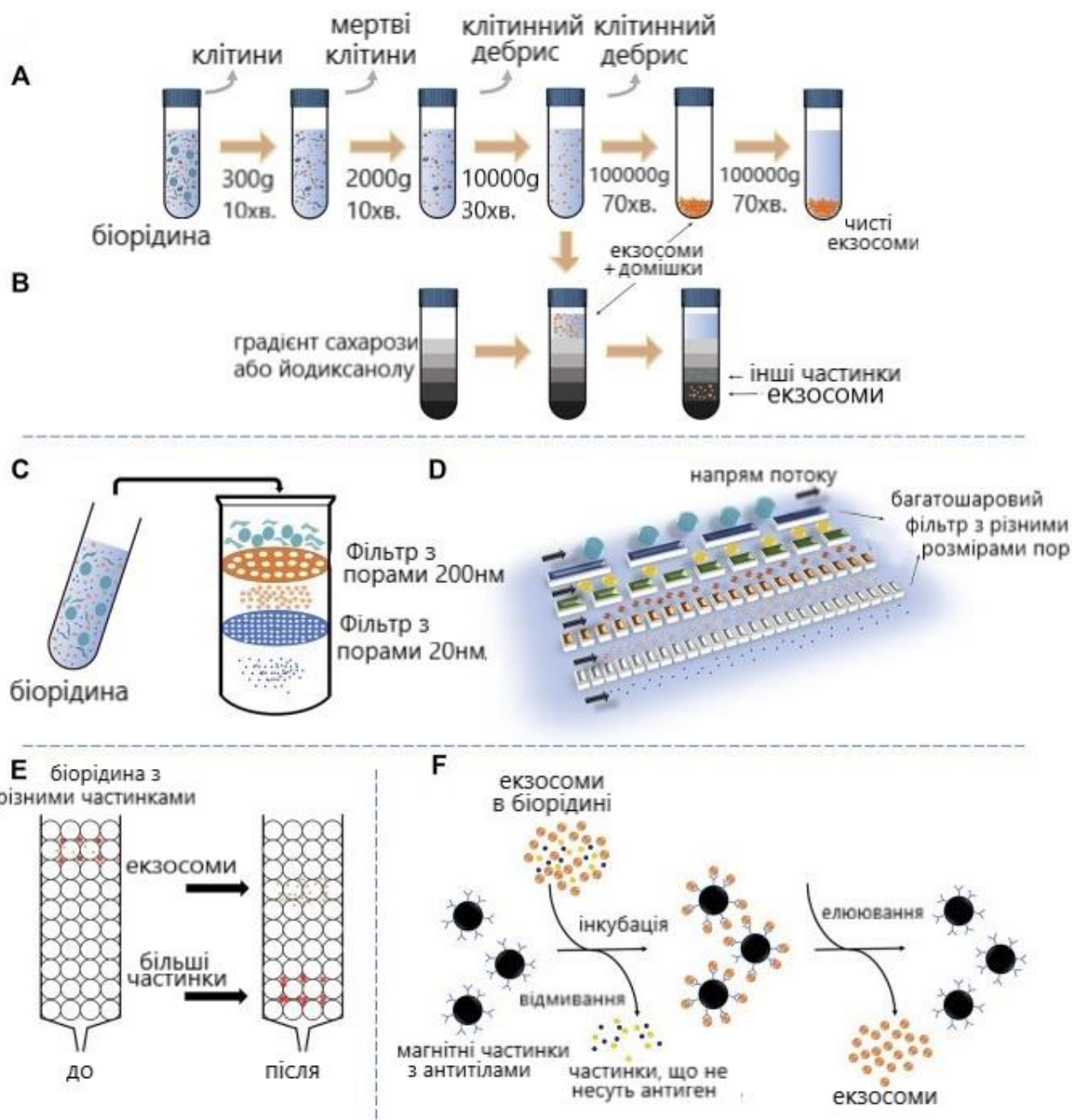


Рисунок 4.4 – Варіанти виділення екзосом: А) ультрацентрифугування, В) центрифугування в градієнті щільності, С) тупикова фільтрація, D) тангенціальна потокова фільтрація, Е) ексклюзійна хроматографія, F) імуноафінна очистка [403]

Методи виділення, очистки та аналізу екзосом з'являються постійно. Наприклад, авторами [393] запропоновано виділення екзосом на підставі специфічної взаємодії з оксидами деяких металів. Відомо, що екзосоми є біологічними наночастинками із замкнутими ліпідними бішаровими структурами, поверхня яких покрита зарядженим фосфоліпідом – PS. В екзосомних системах амфифільні фосфоліпіди складають основний компонент



ліпідного бішару, на зовнішній поверхні мембрани якого розташована гідрофільна фосфатна головка. Завдяки цій властивості фосфатні групи можуть специфічно зв'язуватися з оксидами деяких металів, наприклад,  $TiO_2$ . З огляду на це був запропонований метод виділення та аналізу екзосом різного походження.

Інтерес представляє запропонований метод отримання екзосом із крові людини [394]. Кров розділяють на плазму та клітинну фракцію, яку піддають послідовній двостадійній обробці: спочатку буферним розчином, який містить 5 мМ ЕДТА, потім проводять центрифугуванням та збирають супернатант. Клітини обробляють рівним об'ємом 0,15–0,35% розчину трипсину у буферному розчині з подальшим центрифугуванням і збором супернатанту. Плазму та отримані супернатанти з клітинної фракції об'єднують, видаляють клітинний дебрис центрифугуванням при 15000–17000 g протягом 10–20 хвилин. Відокремлюють домішки частинок неекзосомального походження шляхом фільтрації через фільтри з діаметром пор 0,1 мкм, а сумарний пул екзосом осаджують ультрацентрифугуванням при 100000–160000 g протягом 60–120 хвилин.

Як видно з наведених даних, на теперішній час розроблено різні методи виділення, очистки та контролю екзосом. Аналізуючи дані літератури, можна зробити висновок, що оптимальним варіантом є комбінація різних методів порівняно з використанням одного методу. Комбінація відомих методів дозволяє отримати мінімально пошкоджені екзосоми з високим виходом та чистотою [388, 390–392, 394].

Створення на основі екзосом систем *drug delivery system* потребує вивчення умов зберігання та оптимального транспортування. Для стабілізації екзосом використовують кілька підходів: кріоконсервація, ліофілізація, розпилювальне висушування [372, 375, 389]. При кріоконсервації екзосоми зберігають при мінус 80 °С. Для проведення кріоконсервації використовують антифризові речовини, наприклад, дисахариди. Однак низька температура не підходить для їх обробки та транспортування, оскільки можуть виникати певні труднощі, аналогічні зберіганню вакцин проти COVID-19.

**Ліофілізація** є найпоширенішим процесом стабілізації біологічних мембран і вимагає присутності кріопротекторів. Як кріопротектор для ліофілізації екзосом використовують сахарозу, трегалозу, сорбіт [395–397].

Є дані про використання комбінації метіоніну, маніту та трегалози для ліофілізації екзосом [398]. Ліофілізовані препарати екзосом зберігають структурну та біохімічну цілісність. Технологія ліофілізації екзосом аналогічна технології ліофілізації ліпосомальних наночастинок. Контроль ліофілізованих екзосом підтвердив збереження їхньої терапевтичної ефективності. На даний час на біотехнологічному ринку пропонуються стандартні зразки екзосом. Наприклад, компанія BioVision Inc. випускає «Стандарт ліофілізований, екзосоми людської плазми» – 30 мг, із терміном зберігання 36 місяців. Продукт отриманий комбінацією методів ультрацентрифугування та мікрофільтрації.

#### **4.4. Екзосоми як транспортери ліків у drug delivery system.**

Завдяки двошаровій структурі фосфоліпідні мембрани екзосом стабільні і здатні переносити АФІ. При цьому АФІ будуть захищені від ферментів, які їх розкладають, подовжується період напіввиведення ліків під час доставки, а їхні мембрани можуть легко проникати в клітини-мішені. Ці фактори покращують біодоступність завантажених у екзосоми ліків. На відміну від ліпосом екзосомальні *drug delivery system* мають нижчу імуногенність і токсичність [372, 398].

Наночастинки використовувалися в різних сферах – від косметики до біомедицини та *drug delivery system*. Останнім часом увага багатьох вчених прикута до екзосом як до нових потенційних носіїв ліків та спроби розробки *drug delivery system* на основі екзосом. Екзосоми є продуктом, який можна отримати з різних клітинних ліній, таких як імунні, ракові, стовбурові клітини, біологічних рідин організму (кров, сперма, спинномозкова рідина та ін.). Враховуючи джерело одержання, екзосоми менш токсичні, ніж використовувані *drug delivery system* на основі інших наночастинок [372, 398]. Поверхня екзосом складається з двошарової ліпідної мембрани з вбудованими тетраспанінами, глікопротеїнами, сигнальними рецепторами та інкапсуляцією ДНК та мікроРНК. Характеристика екзосом варіює в залежності від їхнього походження, тому їх також можна використовувати у діагностиці на основі біопсії як маркери. Були розроблені різні типи екзосомальних *drug delivery system* на основі фізичних і хімічних процесів і методичних підходів. Багато видів АФІ було інкапсульовано в

екзосоми або ними були модифіковані поверхні екзосом. Встановлено лікувальний ефект при захворюваннях різної етіології. Крім того, як показано вище, удосконалена структура гібридних екзосом була успішно використана для покращення терапевтичного застосування. Можливість модифікації поверхні екзосом створює нові можливості для їх використання як *drug delivery system* [399–402]. На сьогоднішній день створено значну кількість компаній-початківців для розробки *drug delivery system* на основі екзосом (див. Додатки – Табл. 6). Крім того, в літературі обговорюється можливість реконструкції молекул для покращення фармакокінетики, ліганди самонаведення на пухлини, а також елементи, які реагують на стимули для підвищення клітинної специфічності. Деякі з них вже розпочали клінічні випробування з використанням екзосом у різних областях, таких як лікування діабету, регенерації кісток, хрящів, шкіри, нирок, печінки, м'язів, протиракової та противірусної терапії [400–402].

#### **4.5. Методи модифікації *drug delivery system* на основі екзосом.**

Проведено багато досліджень для розробки різних стратегій інкапсуляції та/або модифікації поверхні екзосом з метою отримання високоефективної *drug delivery system* [400]. Навантажені АФІ екзосоми були отримані за допомогою фізичних процесів, хімічної модифікації або методів клітинної інженерії [401]. Для навантаження екзосом використовують ряд фізичних методів, аналогічних інкапсуляції ліпосомальних наночастинок [383]: електропорація, обробка ультразвуком, екструзія, метод заморожування/відтаювання. Зазначені методи дозволяють завантажувати в екзосоми низько- і високомолекулярні речовини. Працюючи з цими методами, слід враховувати, що вони можуть призводити до порушення цілісності екзосом і знижувати ефективність інкапсуляції. Хімічна модифікація проводиться без порушення структури екзосом. Оптимальні результати можна отримати при використанні клітинної інженерії для модифікації екзосом [399–401].

Вибір методу інкапсуляції необхідно проводити залежно від структури екзосоми та АФІ. Гідрофобні АФІ можуть проникати в екзосоми шляхом змішування та за рахунок гідрофобної взаємодії між АФІ та ліпідним бішаром екзосом. Гідрофільні молекули не можуть проникати через

ліпідний бішар, тому можна використовувати хімічні реакції між АФІ та поверхнею екзосом. Ряд авторів для гідрофільних ліків використовують електропорацію, обробку ультразвуком, екструзію. Використання різних методів модифікації спрямовано на максимальне завантаження в екзосоми лікарських засобів.

Аналіз даних літератури свідчить про низьке включення молекул в екзосоми, наприклад, при використанні каталази як АФІ отримано такий рівень інкапсуляції в екзосоми: за допомогою ультразвуку  $26,1 \pm 2\%$ ; екструзії  $22,2 \pm 2\%$ ; заморожування/відтаювання  $14,7 \pm 1,0\%$ ; інкубації  $4,9 \pm 2\%$ . Аналогічні дані отримані й іншими авторами. Так, з клітинної лінії макрофагів RAW 264.7 виділяли екзосоми і змішували з паклітакселом у співвідношенні 1 : 6, суміш обробляли ультразвуком по 30 секунд протягом 3 хвилин (охолодження 2 хвилини між циклами). Включення становило  $19,55 \pm 2,48\%$ , причому ефективність була в 4 рази більша порівняно з простим перемішуванням. Ступінь включення доксорубіцину гідрохлориду в екзосоми, виділені з клітин LIM1215 (клітинна лінія колоректального раку), становила лише  $9,06\%$ . Можливе використання методу інкубації для інкапсуляції АФІ в екзосоми, наприклад, паклітаксел завантажували в екзосоми, отримані з клітин LNCaP (клітини раку передміхурової залози). Використання хімічної кон'югації за допомогою фенілборонової кислоти ( $C_6H_7BO_2$ ) дозволило отримати  $36,7\%$  навантаження доксорубіцину на поверхні екзосом [372, 373, 404, 405].

#### **4.6. Використання екзосомальних drug delivery system для лікування COVID-19.**

Екзосоми відіграють різну роль на різних стадіях інфекційного чи патологічного процесу. Так, у роботі [406] вивчені екзосоми, виділені з плазми крові пацієнтів з різною формою COVID-19 та вивчена їхня роль у хворих з легким та тяжким ступенем протікання захворювання. Показано, що екзосоми з плазми пацієнтів із COVID-19, містять білковий матеріал вірусу і відіграють ключову роль у посиленні імунної відповіді, а також несуть «вантаж», який відображає патологічний стан пацієнтів в гострій фазі хвороби. Екзосоми пацієнтів із легкою формою COVID-19 індукують активацію CD4+T клітин більш ефективно, ніж у пацієнтів із тяжкою фо-

рмою хвороби. Екзосоми пацієнтів з легкою формою COVID-19 здатні активувати як аутологічні, так і гетерологічні CD4<sup>+</sup> Т-хелперні клітини та індукувати секрецію інтерлейкіну-2 *in vitro*, що дозволяє авторам припустити, що *in vivo* вони можуть посилювати імунну відповідь, яка викликана антигенами SARS-CoV-2, і тим самим, імовірно, сприяють кращому результату або швидшому подоланню інфекції. Автори виявили, що у пацієнтів з тяжкою стадією захворювання присутні білки, які беруть участь у метаболізмі запалення та стресових реакцій, тоді як у пацієнтів з легким ступенем тяжкості виявлялися білки, які беруть участь в імунній активації, ефекторній активності та міграції/хемотаксисі, можливо відображаючи ефективне функціонування імунної системи.

В даний час запропоновано 36 вакцин проти COVID-19. Проведено доклінічне вивчення вакцини, яка складається з рекомбінантного домену, що зв'язує рецептор SARS-CoV-2 (RBD – рецептор зв'язуючий домен), кон'югованого з екзосомами легень, які у порівнянні з ліпосомами посилюють утримання RBD як у дихальних шляхах, так і у паренхімі легень. Для синтезу препарату антигени RBD спочатку кон'югували з 1,2-дистеароїл-sn-гліцеро-3-фосфоетаноламін-поліетиленгліколь-N-гідроксисукціямідом (DSPE-PEG-NHS) з утворенням RBD-PEG-DSPE. Потім цю сполуку кон'югували з поверхнею легневих екзосом, при цьому зв'язувалося 0,52 мкг на 10<sup>10</sup> екзосом. Зокрема, рецептор зв'язуючий домен (RBD) у субодиницях шиповидного білка S1 SARS-CoV-2 зв'язується з рецепторами ангіотензинперетворюючого ферменту епітелію дихальних шляхів хазяїна, що робить RBD специфічною мішенню для нейтралізуючих антитіл та вакцин. У мишей вакцина викликала RBD-специфічні антитіла (IgG), IgA відповіді слизових оболонок, CD4<sup>+</sup> і CD8<sup>+</sup> Т-клітини з профілем цитокінів Т-хелперів 1-го типу в легенях і очищала від псевдовіруса SARS-CoV-2 після зараження. У хом'яків дві дози вакцини послаблювали важку пневмонію та зменшували запальні інфільтрати після зараження живим SARS-CoV-2. Автори припустили, що стабільні при кімнатній температурі (3 місяці) вірусоподібні частинки у аерозольній формі можуть бути багатообіцяючими кандидатами для створення вакцин [407].

Екзосоми використовуються для терапевтичних цілей у пацієнтів, які страждають на різні захворювання, включаючи COVID-19 [408]. Крім

того, введення екзосом навантажених імуномодулюючим вантажем у поєднанні з противірусними препаратами представляють новий підхід до лікування таких захворювань як COVID-19. Зокрема, екзосоми, отримані з мезенхімальних стовбурових клітин, використовуються як безклітинні терапевтичні агенти. Вони зменшують цитокіновий шторм і перешкоджають інгібуванню противірусного захисту господаря, пов'язане з COVID-19, і також посилюють мітохондріальну функцію відновлення пошкоджень легень.

Авторами [409] проведено оцінку безпечності екзосом, навантажених CD24 у пацієнтів з інфекцією COVID-19. CD24, або переносник сигналу CD24 – це глікопротеїн, який у людини кодується геном CD24. CD24 складається з короткої пептидної частини розміром 27–30 амінокислотних залишків і ГФІ-якоря (глікозилфосфатидилінозіол – глікопептид, який може приєднуватися до С-кінця білка в процесі посттрансляційної модифікації), який утримує його в клітинній мембрані. CD24 – найважливіший компонент при більшості видів пухлин людини, він відіграє важливу роль у контролі гомеостатичної проліферації Т-клітин, може регулювати запальний процес в організмі.

Дослідження проведені для оцінки безпечності екзосом, що несуть CD24, у пацієнтів з помірною і важкою інфекцією COVID-19 (фаза 1). Основною причиною клінічного погіршення, що часто призводить до летальності, є цитокіновий «шторм» у легенях. На думку авторів роботи, обґрунтуванням для цього лікування може бути той факт, що екзосоми є частинками, здатними до надекспресії CD24. Їх виділяють та очищають з клітин 293-TREx™, сконструйованих для експресії CD24. Цей продукт може пригнічувати цитокіновий шторм, CD24 доставляється безпосередньо до органу мішені з використанням екзосом як добре сумісного з організмом засобу доставки. Це дозволяє значно знизити необхідну дозу на відміну від системного введення і зменшує ризик виникнення побічних ефектів. Препарат вводили пацієнтам інгаляторно в 0,9% розчині натрію хлориду за допомогою стандартного пристрою протягом 5 днів.

Оцінку ефективності проводили в Ізраїльському клінічному центрі ім. Сураски професором Н. Арбером. У 2021 році завершено дослідження 1-ої фази (опубліковано 6 лютого 2021 р.) застосування унікального препарату проти коронавірусу. 29 з 30 пацієнтів були виписані додому при

використанні ліків на основі екзосом, збагачених CD-24. Препарат доставлявся безпосередньо в легені і дозволяє зменшити цитокіновий шторм. На думку ізраїльських учених раніше не існували ліки, які дозволили б такою мірою впоратися з цитокіновим штормом: «навіть якщо вакцини повністю впораються зі своєю функцією, коронавірус нікуди не подінеться – з'являтимуться нові мутації, інфекція залишиться» (проф. Надір Арбер). Розроблений препарат – засіб цільової терапії. Основою інноваційного препарату стали екзосоми, що вивільняються з клітинної мембрани. Вони забезпечують зв'язок між клітинами. У клініці ІХІЛОВ ці екзосоми збагачують білком CD-24, який експресується на поверхні клітин та регулює роботу імунної системи. Препарат пригнічує шляхи виникнення цитокінового шторму і перешкоджає множинному виробленню цитокінів. Важливою перевагою препарату є не системне введення, а введення безпосередньо в легені пацієнтів [410].

Екзосоми – це транспортні контейнери розміром 30-100 нм, які містять біологічно активний вантаж, наприклад, білки, генетичний матеріал та інші різні молекули. Ці контейнери виникають усередині клітин і функціонують для комунікації з іншими клітинами, вони переміщуються від вихідних клітин до клітин-мішеней, проходячи через кровоносні судини або інші рідини організму. Проникаючи через клітинні мембрани, екзосоми впливають на різні органели усередині клітини-мішені. Усі типи клітин можуть продукувати екзосоми, але відрізняються вони тим «вантажем», який вони переносять. Екзосоми, продуковані мезенхімальними стовбуровими клітинами, містять протизапальні цитокіни, фактори росту, мРНК, мікроРНК. Клітини-мішені являють собою клітини імунної системи, інфіковані клітини та клітини-попередники з інфікованих органів. На імунні клітини-мішені протизапальні цитокіни діють як імуномодулятори, полегшуючи гіперзапалення. В інфікованих клітинах мікроРНК запобігає реплікації вірусу шляхом інгібування експресії РНК вірусу SARS-CoV-2. У клітинах-попередниках легень та інших інфікованих органах фактори росту працюють, щоб стимулювати процеси синтезу білка, які направлені на регенерацію органів. Екзосоми мезенхімальних стовбурових клітин проходять тестування як ад'ювант у доповнення до стандартного лікування від COVID-19 (Джакарта, Індонезія). Екзосоми вводять внутрішньовенно двічі на день на 1, 7 та 14 день. У дослідженні беруть участь 60 пацієнтів

(18–75 років) із помірною тяжкістю COVID-19, завершення дослідження заплановано на кінець 2022 року.

#### 4.7. Використання екзосомальних drug delivery system для лікування пухлинних захворювань.

Екзосоми характеризуються високим потенціалом для адресної доставки ліків завдяки своїм біофізичним характеристикам, наприклад високою стабільністю і біосумісністю, екзосоми легко проникають у клітини, мають низьку токсичність та імуногенність. З метою підвищення ефекту протипухлинної лікарської терапії кілька АФІ були завантажені в екзосоми, що призвело до покращення фармакокінетики та зниження побічних ефектів.

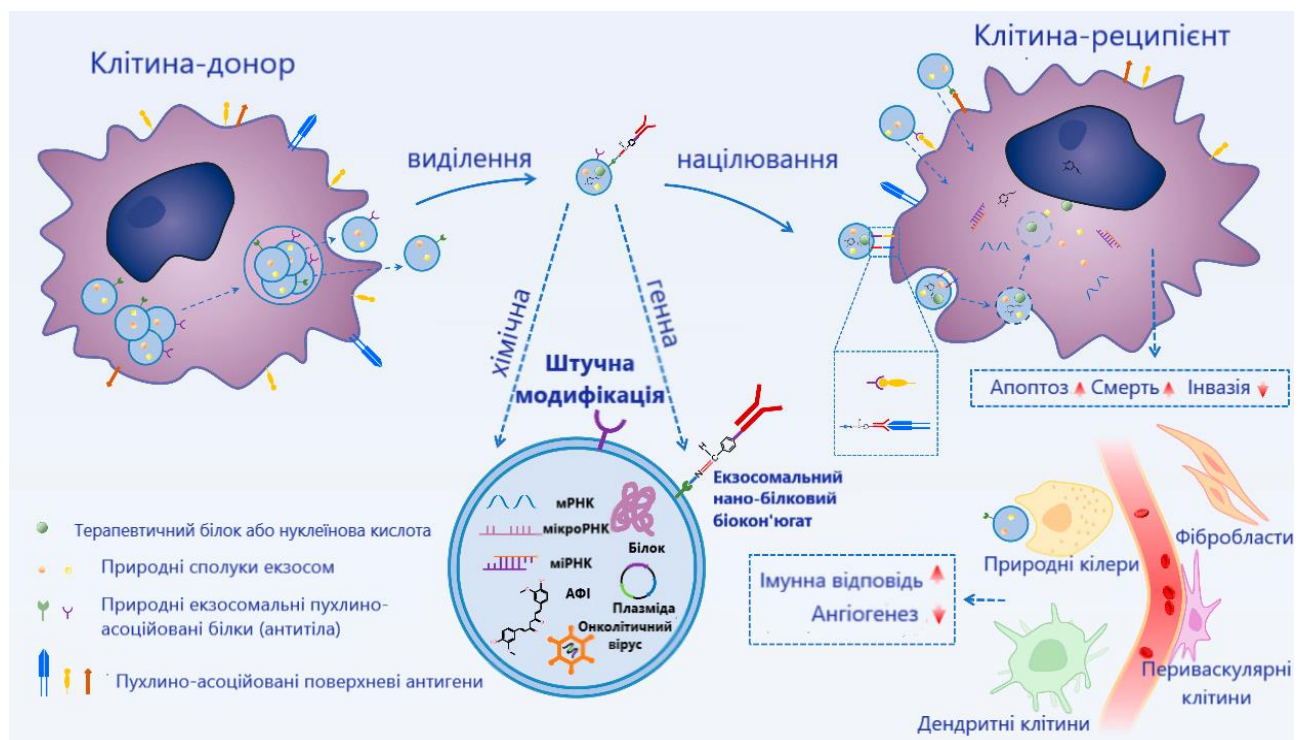


Рисунок 4.5 – Отримання екзосом з клітин пухлини та їх модифікація для посилення націлювання (хімічна або генна модифікація екстрагованих екзосом з пухлинних клітин може додатково стимулювати протипухлинні функції) [411]: міРНК – малі інтерферуючі РНК.

Розглянуто роль екзосом в онкогенезі раку передміхурової залози на стадії прогресування з метастазуванням [412]. Екзосоми регулюють активність клітин реципієнтів модулюючи кілька фізіологічних і патологічних



процесів, таких як ремоделювання властивостей мікрооточення пухлини, вони присутні в різних рідинах організму, і їхній молекулярний профіль може відображати стан ракової клітини у реальному часі. Ці характеристики роблять їх можливими біологічними об'єктами для діагностики різних типів раку.

**Антрациклінові антибіотики.** Отримано екзосоми з доксорубіцином гідрохлоридом для використання у лікуванні пухлин. Екзосоми виділяли з мезенхімальних стовбурових клітин, а доксорубіцин інкапсулювали в екзосоми методом електропорації. Включення становило 35%. Крім того, екзосоми, отримані з мезенхімальних стовбурових клітин, були функціоналізовані аптамерами мембранного білка муцин-1 за допомогою реакції зв'язування для введення ліганду, що націлює екзосоми на ракові клітини, тим самим покращуючи його накопичення в ракових клітинах. Щоб оцінити ефективність запропонованого препарату в терапії раку, використовували модель карциноми мишей С26. Результати показали зменшення об'єму пухлини в порівнянні з контрольною групою, а коефіцієнт виживання у мишей, які отримували препарат, склав близько 100% через 30 днів [414].

Екзосоми з доксорубіцином забезпечують високу внутрішньоклітинну акумуляцію доксорубіцину. Введення доксорубіцину в екзосоми проводили методом електропорації з певними модифікаціями авторів [412]. Поглинання екзосом з доксорубіцином протікало набагато швидше та ефективніше порівняно з ліпосомальною формою доксорубіцину. Вивчення проводили на лініях клітин НЕК-293 (клітинна лінія, отримана з нирок ембріону людини), ВТ-20 (клітинна лінія раку молочної залози), SK-BR-3 (клітинна лінія раку молочної залози). Життєдіяльність клітин після обробки екзосомами з доксорубіцином оцінювали через 48 годин шляхом визначення вмісту АТФ, що вказує на наявність життєздатних клітин. Встановлено підвищену активність екзосомального доксорубіцину в клітинних лініях у порівнянні з вільним АФІ.

У роботі [413] екзосоми виділяли з клітин кісткового мозку, використовуючи комерційні набори для виділення екзосом. Встановлено типову структуру екзосом. Після інкапсуляції доксорубіцину розмір екзосом становив 152,7 нм, що перевищує розмір «вільної» екзосоми – 112,4 нм. Авторами показано, що розмір двох видів екзосом не змінювався протягом

семи днів при зберіганні при 20 °С. Інкапсуляція доксорубіцином становила 12%. У порівнянні з вільним доксорубіцином екзосомальний препарат показав підвищену ефективність клітинного поглинання лінією остеосаркоми MG63, але низьку цитотоксичність на міокардіальній клітинній лінії H9C2.

Проведено вивчення інгібування вивільнення екзосом з метою підвищення чутливості клітин до пегільованого ліпосомального доксорубіцину на модельній клітинній лінії гістіоцитарної лімфоми (U937) [414]. Автори встановили, що клітини U937 підвищують свою стійкість до цитостатичного ефекту ліпосомального доксорубіцину за рахунок пухлинних екзосом, що призводить до опосередкованого витіснення препарату. Інгібування вивільнення екзосом може запобігати відтоку доксорубіцину і таким чином підвищувати чутливість клітин U937 до цитостатичного ефекту доксорубіцину. Результати авторів разом із попередніми дослідженнями показують, що інтеграція інгібіторів вивільнення екзосом у звичайні схеми хіміотерапії, які включають ліпосомальний доксорубіцин, може значно знизити пов'язані з ним побічні ефекти. Однак необхідні тривалі дослідження для підтвердження клінічної безпечності інгібіторів та вивчення їхньої клінічної ефективності.

Численні дані свідчать про те, що екзосоми можуть індукувати стійкість ракових клітин до лікарських АФІ завдяки їхній здатності упаковувати та транспортувати біологічний вантаж, включаючи терапевтичні агенти та інші молекули, відповідальні за стійкість до ліків, такі як окремі мікроРНК, переносники ліків. Присутність переносників ліків у екзосомах тісно пов'язана з концепцією лікарської стійкості, опосередкованої цими везикулами. Було показано, що ці транспортери проходять через мембрани щоб досягти своїх клітин-мішеней і зрештою викликати у них стійкість до лікарських препаратів. Крім того, завдяки своїй присутності в мембрані, екзосоми можуть сприяти проникненню ліків у екзосоми та подальшому екзосоמו-опосередкованому витісненню ліків із клітин [415–417].

**Таксани.** Паклітаксел та доцетаксел знайшли широке застосування у хіміотерапії пухлинних захворювань. Цілком зрозумілим є інтерес фахівців до створення *drug delivery system* на основі екзосом, навантажених таксанами [382, 405, 418, 419].

Проведено вивчення протиракового ефекту навантажених паклітакселом екзосом одержаних з макрофагів за допомогою ультразвуку [405]. Інкапсуляція паклітакселу в екзосоми становила 33%. Комплекс екзосоми/паклітаксел був модифікований аміноетиланізамідом-PEG (AA-PEG), що дозволило покращити спрямовану доставку. AA-PEG розпізнає сигма-рецептор, який надекспресується клітинами раку легень. Дослідження продемонстрували високе виживання мишей, які отримували цей комплекс у порівнянні з групою тварин, які отримували інші види лікування.

Вивчено ефективність екзосом, навантажених паклітакселом, на клітинах гліобластоми людини [418]. Показано, що навантажені паклітакселом та порожні екзосоми мають розмір 50–100 нм та дзета потенціал мінус 20 мВ. Введення паклітакселу в екзосоми значно збільшувало його цитотоксичність на клітинній лінії гліобластоми – астроцитоми головного мозку людини U-87. При введенні екзосом з паклітакселом у культуру клітин U-87 *in vitro* життєздатність клітин становила 59,92%, тоді як при введенні порожніх екзосом життєздатність клітин становила 91,98 %.

Мезенхімальні стовбурові клітини та екзосоми, оброблені паклітакселом, використані при вивченні протипухлинної активності на клітинах раку простати [419]. Завдяки своїм властивостям транспорту та вивільнення лікарського препарату екзосоми збільшують цитотоксичний ефект.

Авторами [382] запропоновані препарати екзосом, виділені з молока, для оральної доставки паклітакселу. Показано, що екзосоми, навантажені паклітакселом, мають розмір 108 нм, дзета потенціал 7 мВ, є стабільними у рідинах, які імітують середовище шлунково-кишкового тракту, що дозволило їх використовувати для введення *per os*. Навантажені екзосоми (ефективність навантаження близько 8%) були стабільними під час зберігання при температурі мінус 80 °С. Дослідження проводили на безтимишних мишах, яким вводили ксенотрансплантанти пухлини легень людини (клітини A549). Розроблені екзосоми при прийомі *per os* демонстрували інгібування пухлини на 60%, тоді як вільний паклітаксел інгібував пухлину на 31%. Екзосоми з паклітакселом показали значно нижчу системну та імуногенну токсичність порівняно з внутрішньовенним введенням паклітакселу. Таким чином, встановлена ефективність екзосом, навантажених паклітакселом, як *drug delivery system*, а також продемонстровано можли-

вість подолання лікарської резистентності пухлини при використанні екзосом, навантажених паклітакселом [420].

У низці досліджень проведено вивчення екзосомального доцетакселу [421, 422]. Гібридні *drug delivery system* (екзосоми з наночастинками) досліджувалися для лікування раку [421]. Так, методом генної інженерії синтезували гібридну екзосомальну структуру, екзосоми виділяли з фібробластів, що експресують CD47 і гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (ГМ-КСФ). Паралельно отримували термочутливі ліпосоми із інкапсульованим доцетакселом методом заморожування/відтаювання. Отримано високий протипухлинний ефект як *in vitro*, так і *in vivo* при лікуванні раку у мишей з лінією недрібноклітинного раку легень [421]. Екзосоми, виділені з ракових клітин легенів A549 за допомогою ультрацентрифугування, навантажували доцетакселом за допомогою електропорації. Включення АФІ становило  $12,2 \pm 5,5\%$ , розмір екзосом – 149,5 нм. Екзосоми значно збільшували клітинне поглинання при оцінці *in vitro* і забезпечували ефективне націлювання на пухлинну тканину в порівнянні з вільним доцетакселом у мишей з пухлиною легень.

Вивчення екзосом при раку просувається швидшими темпами порівняно з іншими захворюваннями [422]. Екзосоми пов'язані з декількома значними характерними ознаками раку. Екзосоми впливають на неоплазію, зростання та метастазування пухлини, паранеопластичні синдроми та резистентність до терапії [423]. Екзосоми можуть індукувати і сприяти неоплазії. Було показано, що екзосоми з ракових клітин підшлункової залози індукують клітинну трансформацію, викликаючи мутації в реципієнтних клітинах. Екзосоми, отримані з клітин раку молочної та передміхурової залози, індукують неоплазію за допомогою перенесення мРНК. Відомо про приклади екзосом з ракових клітин, які викликають паренхіматозну сигнальну відповідь у місцях метастазування, що ефективно ремоделюють віддалене мікрооточення для посилення метастазування при багатьох типах раку [375]. Серед компонентів стромы господаря пов'язаних з пухлинами дуже поширені асоційовані з раком фібробласти (CAF), які відіграють важливу роль у регуляції прогресування раку. CAF секретують екзосоми розміром від 80 до 200 нм, експресуючи деякі пластичні маркери екзосом. Кількісний протеосомний аналіз виявив незначні зміни білкового складу CAF-екзосом після радіоційного впливу. У сукупності це дослі-

дження представляє вихідні дані про склад САФ-екзосом пухлини легенів і показує, що вивільнення та білковий вантаж САФ-екзосом значною мірою не змінюється після впливу на САФ радіації [424].

Гепатоцелюлярна карцинома (ГЦК) є п'ятим найбільш розповсюдженим видом раку у світі та третьою за значимістю причиною смерті від раку. Деякі екзосоми, що інтегруються клітинами ГЦК, також інгібують злоякісні клітини. Клітини ГЦК секретують певний тип екзосом для досягнення клітин-мішеней, де відбувається загибель клітин шляхом регуляції клітинного циклу та активації апоптозу. Слід зазначити, що miR-122 являє собою мікроРНК яка може специфічно інгібувати ріст раку печінки [425]. Мезенхімальні стовбурові клітини жирової тканини проліферують екзосомальну мікроРНК, яка трансдукується у клітини ГЦК. Деякі передачі екзосом з клітини в клітину демонструють пригнічуючу дію на пухлину. Показано, що екзосоми мають сильнішу пригнічуючу дію на пухлину, ніж клітинні лізати. Екзосоми використовуються як біоносії при клінічному лікуванні раку, включаючи рак печінки. Експресія miR-122 в клітинах ГЦК інгібує ріст, інвазію та утворення пухлин і може зробити ці клітини чутливими до хіміотерапевтичних агентів, таких як адриаміцин і сорафеніб (протираковий засіб спрямованої дії, є низькомолекулярним інгібітором мультікінази). Застосування плазмиди miR-122, трансфікованої у мезенхімальні стовбурові клітини жирової тканини, протягом 48 год призвело до продукції великої кількості екзосомальної miR-122. Внутрішньопухлинна ін'єкція екзосомальної miR-122 значно підвищувала чутливість ГЦК до сорафенібу (інгібітор ряду ферментів з групи кіназ, що знижує проліферацію пухлинної клітини). Дослідження, проведене на щурах, показало, що проліферація, міграція та метастазування клітин ГЦК значно пригнічувалися після ін'єкції екзосом, що містять miR-320a, у хвостову вену. Екзосоми, які походять з дендритних клітин, продемонстрували ефективність у стимуляції активації антиген-специфічних Т-клітин *in vivo* на рівні зі зрілими дендритними клітинами, і, отже, у багатьох дослідженнях дендритні клітини визначили як найперспективніший кандидат для розробки вакцини для пухлиноасоційованих екзосом. Дослідження протиракових вакцин на основі дендритних клітин швидко розвиваються останніми роками, і перше покоління терапевтичних вакцин, розроблених з використанням дендритних клітин, продемонструвало добре пригнічен-

ня пухлини та біобезпечність у моделях на мишах, а також низькі побічні ефекти. Ця вакцина використовувалася у клінічних випробуваннях для пацієнтів із пізніми стадіями недрібноклітинного раку легень.

Експериментальне підтвердження ефективності *in vivo* та *in vitro* збільшує перспективи використання екзосомальної miR-320a для лікування ГЦК. miR-335-5 інгібує зростання та інвазію клітин ГЦК як в експериментах *ex vivo*, так і *in vivo*. В дослідженні [425] автори вводили екзосоми, які містять miR-335-5, у пухлини ГЦК і виявили, що такий підхід викликає зупинку росту пухлини. Внутрішньопухлинна ін'єкція екзосом є безпечною та ефективною моделлю доставки ліків поряд з внутрішньовенним введенням. Екзосоми мають багато переваг як нові носії терапевтичних препаратів, наприклад, вони стабільні, минаючи печінкове імунне середовище і залишаючись стабільними в системі кровообігу, вони можуть проникати через тканинні мембрани і навіть через ГЕБ, володіють кращим націлюванням і, отже, вищою ефективністю.

Застосування екзосом у лікуванні ГЦК має широкі перспективи. Екзосоми як природні ендогенні транспортні носії мають переваги низької токсичності, неімуногенності та хорошої проникності. Точна та ефективна доставка вантажу без активації вродженої чи набутої імунної системи запобігає виникненню у пацієнтів імунітету до засобу доставки після першого лікування. Крім того, стимуляція протипухлинної імунної відповіді шляхом дії специфічних антигенів на мембранній поверхні екзосом, що забезпечує нову терапевтичну стратегію для використання екзосом як імунних вакцин проти раку печінки в майбутньому. Екзосоми, що продукуються еритроцитами, після інкапсуляції препаратів з протипухлинною дією та внутрішньовенного введення у кровоносну систему можуть вибірково збагачуватися в печінці, створюючи унікальні умови для лікарсько-таргетної терапії раку печінки.

Екзосоми привертають увагу як транспортер біомаркерів, за допомогою яких можна діагностувати різні патологічні стани. Наприклад, екзосоми являють собою важливу множину молекул сечі, що легко виділяється і може дозволити діагностувати стан нирок людини [426]. Кожен сегмент нефрону виділяє екзосоми у сечу. Показано, що екзосоми містять потенційні біомаркери – мембранні білки, такі як транспортери та рецептори. Вміст цих біомаркерів може підвищуватись або знижуватись при па-

тологічних станах [425]. Автори використовували методи диференційного центрифугування та мембранної концентрації для очистки екзосом. Біомаркери екзосом використовуються для діагностики пухлинних захворювань, туберкульозу, серцево-судинних захворювань, захворювань центральної нервової системи тощо. Екзосоми, отримані з пухлинних клітин, сприяють розвитку середовища для метастазування, розвитку пухлини та її прогресуванню. Екзосоми пухлинних клітин можуть призводити до ангиогенезу, сприяти ухиленню від імунітету та передачі сигналів стійкості до лікування. Водночас екзосоми здорових клітин (дендритні клітини, В і Т-клітини) здатні обмежувати ріст пухлини. Таким чином, можна говорити про можливість екзосом запобігати або стимулювати розвиток раку. Ці ефекти обумовлені походженням екзосом та вантажем, який вони переносять [427, 428].

#### **4.8. Використання екзосомальних drug delivery system для лікування захворювань різної етіології.**

Використання екзосом проводиться при різних захворюваннях: серцево-судинні, неврологічні, урологічні та ін. Було виявлено, що екзосоми переносять метаболіти і полегшують міжклітинну комунікацію за допомогою екзосомального обміну мРНК між  $\beta$ -клітинами підшлункової залози, жировою тканиною, скелетними м'язами, печінкою людей і мишей [375]. При серцево-судинних захворюваннях екзосоми можуть приймати участь у виникненні метаболічних захворювань. Кардіопротекторна активність передусім пов'язана з некодуючими  $\gamma$ -РНК, які стимулюють макрофаги до секреції протизапального цитокіну інтерлейкін-10 [399], що призводить до кардіопротекції.

Екзосоми можуть сприяти або обмежувати агрегацію розгорнутих, неправильно згорнутих білків у головному мозку, тим самим виявляючи детоксуючі та нейропротекторні функції або стійкість у розмноженні та агрегації неправильно згорнутих білків, ефективно сприяючи «інфекційності» білкових агрегатів та прогресуванню захворювання. Такі протилежні функції екзосом можуть не виключати одна одну [375]. Хоча функції екзосом при нейродегенеративних захворюваннях зосереджені на екзосомальному контролі накопичення неправильно згорнутого білка, нуклеїнові

кислоти та інші компоненти можуть бути залучені в погіршення або покращення інших неврологічних розладів. Це значною мірою підтримується властивостями екзосом ефективно проникати через ГЕБ, судинну мережу, що функціонує як колективний фільтр, який перешкоджає попаданню ліків та токсинів у мозок [375].

Автори [429] припускають, що терапія препаратами на основі екзосом є інноваційним підходом до лікування наслідків ішемічного інсульту. Численні нові дослідження показують потенціал екзосом у лікуванні різних патологій після ішемічних станів. Сконструйовані екзосоми можуть бути ефективними у контролі запалення, апоптозу, аутофагії, ремоделювання судин, ангіогенезу, нейрогенезу, синаптичної пластичності та мієлінізації після інсульту. Разом із регенеративним потенціалом екзосоми можуть проникати через ГЕБ, який реалізує захисний механізм, що допомагає підтримувати стабільне фізіологічне середовище в головному мозку [430]. Наприклад, тетраспанінові білки CD9, CD63 і CD81, виділені з ендотеліальних клітин головного мозку, відіграють важливу роль у комунікації між первинними астроцитами та нейронами кори головного мозку. Астроцити – це клітини, які мають тонкі відростки навколо них. Відростки деяких астроцитів обволікаються кровоносними капілярами, які забезпечують транспорт речовин та екзосом до головного мозку. Крім того, астроцити продукують екзосоми, які захищають нейрони від ушкодження. Екзосоми, що походять із нейрональної гліобластоми і нейроектодермальних клітин, не можуть перетинати ГЕБ, тоді як екзосоми із клітин ендотелію, який має маркер тетраспаніну, такий як CD63, можуть. Екзосоми ендотеліальних клітин можуть проходити через ГЕБ за допомогою клітинно-специфічних білків через рецептор-опосередкований ендоцитоз. Екзосоми переносять вантаж через ГЕБ і успішно доставляють його в мозок. Екзосоми крові можуть бути потенційними джерелами біомаркерів нейродегенеративних захворювань, наприклад, хвороби Альцгеймера. При хворобі Альцгеймера спостерігається накопичення бета-амілоїдних пептидів, які у пацієнтів із хворобою Альцгеймера утворюють бета-амілоїдні бляшки. ГЕБ відіграє найважливішу роль у гомеостазі бета-амілоїдних бляшок у головному мозку [431]. Широкий практичний інтерес до екзосом пов'язаний з тим, що вони можуть відносно вільно проходити через ГЕБ і виконувати функції месенджерів сигналів між клітинами нервової системи



та іншими клітинами та тканинами організму [432–434]. Наприклад, екзосоми, які додатково навантажені каталазою, ефективно накопичуються у нейронах і макрогліальних клітинах мозку, де активують механізм антиоксидантного захисту та забезпечують нейропротекторний ефект при лікуванні хвороби Паркінсона. Введення дофаміну є одним з основних методів лікування хвороби Паркінсон. Застосування дофаміну, завантаженого в екзосоми крові, показало покращення терапевтичних результатів на моделі мишей з хворобою Паркінсона та зниження системної токсичності порівняно із введенням вільного дофаміну. Таким чином, екзосоми забезпечують ще один спосіб доставки терапевтичних засобів для боротьби із захворюваннями головного мозку та раку. Вони можуть перетинати ГЕБ і переносити корисні вантажі. Для міжклітинної комунікації поверхня екзосоми збагачується молекулами націленими на клітинну адгезію: тетраспанін та інтегрин.

Проводяться дослідження щодо оцінки можливості використання екзосом для лікування алопеції. Враховуючи, що екзосоми як позаклітинні везикули беруть участь у клітинних комунікаціях, гомеостазі, диференціації та органогенезі, можна сподіватися на їхню роль у морфогенезі та регенерації волосся. Тому існує потенційна можливість використання екзосом для лікування алопеції [435]. Лікування шкіри людини та алопеції екзосомами засноване на таких їхніх можливостях: ангіогенній здатності – індукування розвитку кровоносних судин; участь у синтезі колагену; участь у регуляції запального процесу; можливості подолання бар'єрів шкіри. При використанні екзосом як терапевтичного компонента можна подолати обмеження при лікуванні шкіри [436].

Екзосоми, отримані з мезенхімальних стовбурових клітин, розроблені як передова технологічна платформа для аутологічного лікування з метою відновлення пошкодженої хрящової тканини. Лікування отримане з аутологічного джерела робить значний внесок в область персоналізованої медицини для лікування травм коліна та травми меніска (пацієнти віком 30–50 років) [437]. Початок дослідження планується на березень 2022 року, а завершення – у березні 2025 року. Ступінь ефективності лікування проводиться за оцінкою рівня цитокінів.

Особливий інтерес являють собою екзосомальні вакцини [438]. Запропоновано вакцини на основі екзосом, виділених, наприклад, з дендри-

тних клітин. Розглядаються вакцини проти пухлинних захворювань, противірусні, антибактеріальні; вакцини проти грипу [404], дифтерії, кашлюку, шистосомозу [439], COVID-19 [440, 441] та ін.

Серед вакцинних препаратів, що розробляються в даний час особливе місце займають вакцини для профілактики та терапії інфекції, викликані *Mycobacterium tuberculosis*. Раніше (розділ 2.5) ми обговорювали матеріал, присвячений протитуберкульозним вакцинам на основі ліпосом. Перспективною формою *drug delivery system* при створенні вакцин проти *M. tuberculosis* є екзосоми [442]. Теоретично екзосоми є багатообіцяючими засобами доставки вакцин та методів лікування завдяки їх природній ліпідній мембранній структурі та нанорозміру. Вакцина на основі екзосом зі специфічними антигенами всередині може активувати множинні імунні відповіді через різні шляхи презентації антигену. Дослідники розробили нову вакцину на основі зшитого білка Ag85B/ESAT-6, експресованого в екзосомах, який може бути додатково введений для активації антигенспецифічних Т-лімфоцитів, що секретують інтерферон- $\gamma$ , в легенях і селезінці [443]. Роль екзосом при зараженні *M. tuberculosis* ще вимагає вивчення: необхідно вивчити, як екзосоми допомагають *M. tuberculosis* уникнути імунної атаки, а також спробувати використати антибактеріальну функцію екзосом для лікування туберкульозу. Екзосоми, які несуть мікобактеріальні антигени, можуть суттєво захищати мишей від інфекції *M. tuberculosis*, що вказує на потенціал екзосом як нової безклітинної вакцини, націленої на інфекцію *M. tuberculosis*. Екзосоми інфікованого *M. tuberculosis* можуть індукувати аутофагію для знищення *M. tuberculosis in vitro*, а також зменшити мікобактеріальне навантаження у легенях мишей з меншим ушкодженням тканин. Ці дослідження свідчать про те, що екзосоми можуть бути переносниками-кандидатами для доставки вакцин або ліків. Екзосоми мають успадковану від батьківських клітин здатність посилювати імунітет проти *M. tuberculosis* традиційними шляхами, включаючи макрофаги, дендритні клітини та нейрофільні гранулоцити. Ці імунні реакції проти *M. tuberculosis* можуть бути спричинені деякими регуляторними білками в екзосомах, такими як білок теплового шоку [444]. Крім того, показано, що мікобактеріальні екзосоми мають імуномодулюючі здібності при вродженому та адаптивному імунітеті. Мікобактеріальні екзосоми збагачені агоністами TLR2, які допомагають пояснити деякі резуль-

тати взаємодії господаря та патогена. Мікобактеріальні екзосоми генеруються і циркулюють під час внутрішньоклітинної інфекції, допомагають визначити інші потенційні ролі цих екзосом у взаємодіях господар-патоген [192].

#### 4.9. Екзосомальні продукти у клінічних дослідженнях.

Клінічні випробування препаратів на основі екзосом сьогодні набирають обертів, випробування проходять екзосоми, виділені з дендритних, мезенхімальних стовбурових та пухлинних клітин пацієнта. Характерні властивості екзосом як засобу доставки функціональних вантажів до хворих клітин також сприяють їх використанню як терапевтичних компонентів [375]. Екзосоми на думку багатьох дослідників мають значний терапевтичний потенціал [441, 445].

Екзосоми як такі або як *drug delivery system* виконують функцію терапевтичних агентів. На відміну від ліпосом ін'єкційні екзосоми ефективно проникають в інші клітини і можуть доставляти функціональний вантаж з мінімальним імунним кліренсом при екзогенному введенні тваринам. Екзосоми добре переносяться, що, на думку авторів, може бути перспективним. Екзосоми з мезенхімальних стовбурових клітин були запропоновані як терапевтичні агенти для лікування пацієнта з реакцією «трансплантат проти господаря», при повторних ін'єкціях показано хорошу переносимість [375]. Екзосоми, отримані з мезенхімальних стовбурових клітин, все частіше досліджуються на предмет імуномодулюючого і регенеративного потенціалу [446]. Всього зареєстровано 33 клінічні дослідження екзосомальної терапії, з яких у 20 дослідженнях використовувалися екзосоми, отримані з мезенхімальних стовбурових клітин. Дослідники також використовували екзосоми, отримані з рослин, Т-клітин та дендритних клітин, для лікування різних захворювань. Більшість досліджень (9 клінічних випробувань) належать до лікування пневмонії SARS-CoV-2. Ці результати показують, що екзосоми з мезенхімальних стовбурових клітин часто використовують у регенеративній медицині.

Крім перенесення пухлинних антигенів, екзосоми містять хіміопрепарати або мРНК, що використовуються для лікування раку. Як джерело отримання екзосом також розпочато використання рослинних об'єктів.

Екзосоми людського та рослинного походження зареєстровані у клінічних випробуваннях. Максимально використовуються екзосоми, виділені із клітин людини, причому у літературі доступні деякі звіти. Рослинні екзосоми ще не пройшли клінічних випробувань. Використовується три рослинні джерела, а саме виноград, імбир і алое, які були зареєстровані від одного виробника [376, 447]. Екзосоми очищають і концентрують за допомогою ультрафільтрації або диференціального центрифугування з подальшим ультрацентрифугуванням у градієнті щільності сахарози. Фізичні характеристики вивчають за допомогою електронної мікроскопії або шляхом виявлення маркерів екзосом типів CD9, CD71, CD80, CD81 тетроспанінів, білка теплового шоку та ін. [448, 435]. На період 2022–2025 років заплановано проведення клінічних випробувань екзосом, отриманих з мезенхімальних стовбурових клітин, для проведення аутологічного лікування з метою відновлення пошкодженої хрящової тканини для проведення персоналізованої медицини для лікування травм коліна, травми меніска [448]. У таблиці 7 (див. Додатки) наведено приклади клінічного вивчення екзосом [375].

На відміну від терапії стовбуровими клітинами екзосомальна терапія не передбачає використання донорських клітин в організмі. Натомість екзосоми виділяються з донорських мезенхімальних стовбурових клітин. Екзосомальний вантаж мастить ліпіди, мРНК та мікроРНК, сигнальні цитокіни та білки та ряд інших компонентів. Екзосомальну терапію можна проводити за допомогою внутрішньовенних ін'єкцій, прямої ін'єкції в область лікування або інгаляторно.

Мезенхімальні стовбурові клітини можуть самооновлюватись і можуть бути виділені з різних тканин. Як видно з таблиці 7 (див. Додатки) мезенхімальні стовбурові клітини були широко представлені в клінічних випробуваннях через широкий спектр їх біологічних функцій, у тому числі диференціювання, відновлення тканин, протизапальні та імуномодуючі властивості. Екзосоми, отримані з мезенхімальних стовбурових клітин, вперше досліджено у 2010 році. Показано, що ці клітини здатні продукувати більшу кількість екзосом порівняно з іншими клітинами. Екзосоми беруть участь у міжклітинних комунікаціях і деякі дослідники припускають, що вони є паракринними факторами мезенхімальних стов-

бурових клітин (вироблення різних груп гормонів, факторів росту, цитокінів).

Терапія екзосомами *in vitro* та *in vivo* набирає популярності у дослідників усього світу. Однак кількість даних, що підтверджують ефективність та безпечність екзосомальної терапії, дуже невелика. Водночас екзосомальна терапія може знайти своє місце у сфері регенераційної медицини.

Сьогодні ряд компаній займається просуванням терапевтичних продуктів на основі екзосом. При цьому слід враховувати, що екзосоми представлені двома видами: «природні» екзосоми, що вивільняються клітинами природнім шляхом, і «інженерні» екзосоми, що навантажені необхідними біомолекулами в лабораторних умовах. За останні роки кілька університетів та лікарень з дослідницькими групами проводили обмежені клінічні випробування різних препаратів екзосом на рівні I фази [411, 450–452]: Aegle Therapeutics, Exopharm, United Therapeutics, Avalon Globacure, Direct Biologics, ExoCoBio, Agex Therapeutics, Capior, Codiak, Evox Therapeutics, Pias Biologics, Carmine Therapeutics, Azuna Bio (див. Додатки – Табл. 6).

### **Підсумок.**

Розробка *drug delivery system* – один із найважливіших напрямів фармації. Безперечним успіхом фармацевтичної та медичної науки сьогодні є група лікарських препаратів на основі наночастинок, зокрема ліпосом. В даний час світова фармацевтична промисловість виробляє понад 50 ліпосомальних лікарських форм, та їх кількість збільшується [9–11, 453]. Створення препаратів на основі ліпосом проводиться постійно. Як приклад можна навести дані про обмежені клінічні дослідження, які були опубліковані на початку 2023 року [454]. Вивчення ліпосомальної форми дексаметазону проводили на 7 хворих з прогресуючої множинної мієломи. Авторами продемонстровано відсутність токсичності та протипухлинну активність порівняно з вільною формою дексаметазону. Вивчено дозозалежний ефект: введення 4 хворим ліпосомального препарату в дозі 40 мг призводило до стабілізації захворювання у цих пацієнтів, тоді як введення

пацієнтам (3 хворих) 10 мг ліпосомального дексаметазону призводило до прогресування захворювання.

Успіхом ліпосомальних технологій є отримання вакцин та ад'ювантів на основі ліпосомальних наночастинок [455]. Ліпосоми (віросоми) здатні індукувати гуморальну клітинну імунну відповідь, підвищувати поглинання, процесинг та презентацію антигену, пролонгувати дію, створювати ефект депонування та забезпечувати адресну доставку. Крім цього, ліпосоми проявляють ад'ювантні властивості, можуть забезпечити високу інкапсуляцію антигену, покращити біодоступність введеного АФІ, а також характеризуються біодеградацією та біосумісністю [456].

Створення лікарських засобів на основі екзосом є наступним кроком на шляху створення нового покоління *drug delivery system* [8]. Екзосоми та їх гібридні структури показали ряд переваг, таких як висока спрямованість та специфічність, нетоксичність продуктів та біосумісність [389]. Розроблено методи виділення та очищення екзосом [457].

Екзосоми зі стовбурових клітин мають такі ж клінічні та терапевтичні переваги як і стовбурові клітини. Останнім часом встановлено, що екзосоми зі стовбурових клітин можуть застосовуватися у регенераційній медицині, відновлюючи пошкоджені тканини. Для покращення терапевтичного потенціалу екзосом було проведено попереднє підтвердження відповідності вимогам до стовбурових клітин, їх генетичної модифікації та поєднання екзосом з біоматеріалами [458–460].

Авторами запропоновані й інші методи, зокрема на основі фізичних властивостей: інкубація стовбурових клітин в умовах гіпоксії, кислого середовища та обробка ліпополісахаридами. Крім екзосом тваринного походження запропоновано використовувати мікробні та рослинні позаклітинні везикули. У клініці екзосоми зареєстровані для лікування низки захворювань. Екзосоми, отримані з мезенхімальних стовбурових клітин, все частіше досліджуються через їхній імуномодулюючий і регенеративний потенціал [445]. Всього зареєстровано 33 клінічні дослідження екзосомальної терапії, у 20 з яких використовувалися екзосоми, отримані з мезенхімальних стовбурових клітин. Дослідники також використовували екзосоми, отримані з рослин, Т-клітин та дендритних клітин, для лікування різних захворювань. Багато досліджень (9 клінічних випробувань) направлено на лікування пневмонії SARS-CoV-2.

Технології отримання та інкапсуляції екзосом близькі з рядом технологічних етапів виробництва ліпосом, таких як обробка ультразвуком, заморожування/відтаювання, екструзія та ін. Крім того для стабілізації обох видів частинок застосовується кріоконсервація та ліофілізація із застосуванням кріопротекторів, наприклад, дисахаридів: трегалози та сахарози [10]. Розробка та застосування гібридів екзосом та ліпосом також підтверджує перспективність обох форм. Водночас, необхідне значне доопрацювання технології отримання екзосом та їх гібридів, методів інкапсуляції АФІ в екзосоми, оскільки навантаження АФІ у екзосоми обмежене.

Екзосоми як природні наночастинки мають унікальні переваги. Інтерес до екзосом виник через кілька причин [461]:

- ✓ вважається, що екзосоми забезпечують міжклітинну комунікацію та передачу макромолекул до клітин;
- ✓ екзосомам приписується роль у розповсюдженні білків, ліпідів, мРНК, мікроРНК, ДНК, а також вони виконують функцію факторів розвитку низки захворювань;
- ✓ екзосоми можуть бути корисними векторами для ліків, оскільки вони складаються з клітинних мембран, а не з синтетичних полімерів і тому краще переносяться клітинам господаря.

Переваги екзосом роблять їх важливим середовищем для міжклітинної комунікації, вони виконують унікальні біологічні функції в регуляції нормальної життєдіяльності, а також у діагностиці та терапії захворювань. Можливість використання екзосом у клінічній практиці в найкоротші терміни багато в чому залежить від результатів оптимізації та покращення існуючих проблем з екзосомами. Екзосоми та їх гібридні структури показали певні переваги у порівнянні з іншими *drug delivery system*, такі як висока специфічність, нетоксичність та біосумісність. Однак, існує низка факторів, які затримують використання екзосом у системах транспорту ліків, що пов'язано з труднощами у комерціалізації цих систем. Багато методів отримання екзосом не забезпечують належного виходу та високої чистоти, нестандартні і, на думку дослідників, часто погано відтворюються. Крім того, показано низьку ефективність включення АФІ в екзосоми [457, 462]. Для створення *drug delivery system* на основі екзосом необхідно також вирішити питання з технологією екстракції, яка значною мірою визначає розміри екзосом та ефективність інкапсуляції АФІ. Крім того, не-

обхідно зменшити ушкодження цілісності мембрани екзосом протягом технологічного процесу. Відкритим питанням є стандартизація методів культивування клітин для отримання екзосом, розробка доступних методів характеристики готового препарату. Доки ці питання не будуть вирішені, виникають труднощі масового виробництва та використання препаратів екзосом та їх гібридів у клінічній практиці.

У зв'язку з викладеним вище, у 2020 році Міжнародне товариство клітинної та генної терапії (ISCT) та міжнародне товариство позаклітинних везикул (ISEV) [463] визначилися з дослідженнями у цій галузі [410, 411]. ISCT та ISEV не схвалюють використання позаклітинних везикул та екзосом для будь-яких цілей при COVID-19, включаючи між іншим зниження цитокінового шторму, з метою регенеративного ефекту або доставки ліків, в очікуванні розробки відповідних положень про виробництво та контроль якості, доклінічних даних з безпечності та ефективності, розробки дизайну клінічних випробувань та належного регулюючого нагляду. Думка дослідників про екзосомальну терапію неоднозначна, оскільки побічні ефекти, безпечність і передусім ефективність поки не зрозумілі [464–466]. Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів (FDA) повідомило, що пацієнти в Небрасці, які лікувалися незатвердженими продуктами, що рекламуються як продукти на основі екзосом, повідомляли про серйозні побічні ефекти. Агентство підкреслило, що в даний час немає дозволених продуктів екзосом, і пацієнти були обдурені деякими клініками для профілактики та лікування низки захворювань. Чистота та фізико-хімічні властивості екзосом є основними факторами, на які впливають різні методи виділення.

Виробництво в промислових масштабах *drug delivery system* на основі екзосомальних препаратів ускладнюється вимогами GMP до фармацевтичного виробництва, яке, враховуючи специфіку виділення екзосом, їх навантаження різними АФІ та контроль продукції, в даний час є предметом вивчення. Крім того, всі стадії виробництва, включаючи санітарну підготовку, персонал, приміщення, зберігання та транспортування повинні відповідати діючій належній виробничій практиці (GMP) [467]. На наш погляд, це є одним з вузьких місць поширення екзосомальної терапії. Різні методи, такі як ультрафільтрація, ексклюзійна хроматографія, преципітація на основі полімеру можуть використовуватися для масового виробни-



цтва екзосом. Складністю є масштабування технології отримання екзосом, вихід яких становить менше 1 мкг екзосомального білка з 1 мл культурального середовища, тоді як лікувальна доза екзосом становить 10–100 мкг екзосомального білка на мишу в ряді досліджень [468–471].

При протипухлинній терапії необхідно також враховувати можливість подвійної дії екзосом з ракових клітин, які модулюють багато аспектів міжклітинної комунікації, тому вони можуть відігравати важливу роль як у розвитку пухлини, так і демонструвати протипухлинну активність. Наприклад, можливість подвійної дії екзосом є серйозною проблемою для майбутніх методів лікування з використанням вакцин на основі екзосом.

Для розробки нових препаратів на основі екзосом необхідно проводити доклінічні та клінічні випробування з використанням *drug delivery system*, що виробляються в умовах належної виробничої практики. Крім того, бажано розширити створення екзосомальних препаратів та їх клінічне вивчення. Аналізуючи ситуацію з препаратами на основі екзосом слід наголосити на тому, що за 20 років дослідження до комерціалізації не доведено жодного продукту, а клінічні випробування вакцин на основі екзосом показали скромні результати без антиген-специфічної відповіді, викликані екзосомальними вакцинами.

Вважаємо за необхідне провести порівняльну оцінку двох видів ліпідних наночастинок: ліпосом та екзосом. Сьогодні, саме ліпосоми отримали перевагу у створенні платформи *drug delivery system*, тому що це єдина група наночастинок, яка успішно застосовується в терапії різних захворювань (офтальмології, онкології, кардіології та інших патологічних станах) і для профілактики інфекційних захворювань. В даний час визнано, що деякі клінічно використовувані інкапсульовані в ліпосоми лікарські засоби не тільки значно покращують ефективність ліків, наприклад, протипухлинну активність, але й більш ефективно знижують токсичність, пролонгуючи дію препарату за рахунок депонування та повільного вивільнення АФІ. Отриманий з ліпосомами прогрес обумовлений розробкою багатьох методологій, технологічних схем та прийомів одержання ліпосомальних продуктів, способів їх стабілізації при зберіганні та транспортуванні. Цей досвід, отриманий фахівцями в галузі ліпосом, може бути використаний у стратегіях з екзосомами. Також необхідно враховувати досвід розробки ліпосом з метою їх стабілізації та екранування поверхні за рахунок різних

компонентів, наприклад, пегілювання. Значного успіху досягли розробники ліпосомальних *drug delivery system* в аспекті методології завантаження ліпосом лікарськими засобами вивчення їхньої ефективності та токсичності [472]. Особливий інтерес представляють гібридні везикули, що складаються зі сконструйованих ліпосом та природних екзосом. Ці гібриди поєднують дві наночастинки і можуть проявляти до синбіотичну дію.

Підсумовуючи хотілося б зупинитися на новому підході у створенні фармацевтичних препаратів – тераностиці. Суть тераностики полягає у комплексному вирішенні терапевтичних та діагностичних питань за рахунок створення композицій, які виконують функцію ранньої діагностики та терапії. Йдеться, наприклад, про циркулюючі у крові екзосоми ракових клітин, використання яких може бути спрямовано на інгібування розвитку метастазів. Грунтуючись на останніх передових нанотехнологічних дослідженнях, наноплатформи для доставки ліків на основі екзосом розглядаються як тераностичні платформи наступного покоління, наприклад, при раку молочної залози, раку легень, колоректальному раку та ін. [8, 473–475].

Тераностика поєднує фармацевтичні та діагностичні методи для одночасної або послідовної діагностики та лікування захворювань на ранніх стадіях розвитку патології. Для діагностики успішно використовується медична візуалізація. Фармацевтична композиція, що містить комбінацію візуалізації ліпідними наночастинками та терапевтичних агентів, безсумнівно представляє інтерес. Для візуалізації і використання протипухлинної активності застосовують алкільні фосфоліпіди, які перешкоджають проліферації пухлинних клітин за рахунок механізму, що включає метаболізм фосфоліпідів і холестерину мембран, перешкоджає ліпід-залежним сигнальним шляхам виживання і аутофагії [476]. Алкільні фосфоліпіди представляють перспективну групу препаратів для візуалізації та терапії пухлин. Здатність радіоактивних (йодованих) алкілфосфоліпідів секвеструватися і утримуватися різними пухлинами *in vivo* продемонстрована на клітинах пухлини передміхурової залози РС-3 у щурів з пухлиною Волтера [477]. Показана можливість проведення комбінованої радіонуклідної терапії та імунотерапії для лікування раку [478, 479]. Досить перспективним може бути використання для тераностики як ліпосом, так і екзосом для

перенесення агентів, наприклад, алкільних фосфоліпідів для візуалізації та терапії пухлин.

Незважаючи на наявні труднощі у створенні екзосомальних продуктів, існує надія на можливість масового виробництва як самих екзосом та їх гібридів, так і *drug delivery system* на їх основі [8, 409, 410, 422, 434, 462].

## СПИСОК ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Эхуд Газит. Нанобиотехнология: необъятные перспективы развития / Эхуд Газит – М. : Научный мир, 2011. – 152 с.
2. Pure and multi metal oxide nanoparticles: synthesis, antibacterial and cytotoxic properties / Stankic S., Suman S., Haque F., Vidic J. // Journal of nanobiotechnology. – 2016. – V. 14, No. 1. – 73. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0225-6>
3. Tumor targeting via EPR: Strategies to enhance patient responses / Golombek S. K., May J. N., Theek B. et al. // Advanced drug delivery reviews. – 2018. – V. 130. – P. 17–38. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.007>
4. Pylypenko D. Study of anitioxidant activity of liposomal forms of quercetin and curcumin ischemic heart disease / Pylypenko D., Gorbach T., Krasnopolsky Yu. // BioTechnologia. – 2020. – V. 101, No. 4. – P. 273–282. – URL: <https://doi.org/10.5114/bta.2020.100420>
5. A Study of oxidative stress markers when using the liposomal antioxidant complex / Pylypenko D. M., Gorbach T. V., Katsai O. G. et al. // Pharmakeftiki. – 2019. – V. 31, No. 1. – P. 40–47.
6. Biodegradable polymeric nanoparticles for drug delivery to solid tumors / Gagliardi A., Giuliano E., Venkateswararao E. et al. // Frontiers in pharmacology. – 2021. – V. 12. – 601626. – URL: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.601626>
7. Piepor S. Incorporation of doxorubicin in different polymer nanoparticles and their anticancer activity / Piepor S., Onafuye H., Mulac D. // Beilstein Journal of Nanotechnology. – 2019. – V. 10. – P. 2062–2072.
8. Exosome-based delivery nanoplatforms: next-generation theranostic platforms for breast cancer / Zheng Y., Li M., Weng B. et al. // Biomaterials Science. – 2022. – V. 10, No. 7. – P. 1607–1625.
9. Rommasi F. Liposomal nanomedicine: applications for drug delivery in cancer therapy / Rommasi F., Esfandiari N. // Nanoscale research letters. – 2021. – V. 16, No. 1, – 95. – URL: <https://doi.org/10.1186/s11671-021-03553-8>
10. Швец В. И. Липосомальные формы лекарственных препаратов: технологические особенности получения и применение в клинике / Швец В. И., Краснопольский Ю. М., Сорокоумова Г. М. – М. : Ремедиум, 2016 – 200 с.

11. Liposomal formulations in clinical use: an updated review / Bulbake U., Doppalapudi S., Kommineni N., Khan W. // *Pharmaceutics*. – 2017. – V. 9, No. 2. – 12. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics9020012>
12. Allen T. M. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications / Allen T. M., Cullis P. R. // *Advanced drug delivery reviews*. – 2013. – V. 65, No. 1. – P. 36–48. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.037>
13. Хромов А. С. Липосомальные препараты – реализация нанотехнологии в медицине / Хромов А. С. // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. – 2016. – № 2. – С. 14–23.
14. Використання ліпосомальних форм хіміопрепаратів у хворих на резистентний до доксорубіцину рак молочної залози / Півнюк В. М., Тимовська Ю. О., Пономарьова О. В. та ін. // *Онкологія*. – 2007. – Т. 9, № 2. – С. 121–124.
15. Mechanisms and barriers in cancer nanomedicine: addressing challenges, looking for solutions / Anchordoquy T. J., Barenholz Y., Boraschi D. et al. // *ACS nano*. – 2017. – V. 11, No. 1. – P. 12–18. – URL: <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b08244>
16. Technologies and perspectives of liposomal drug application in clinical practice / Krasnopolskii Y. M., Grigor'eva A. S., Katsai A. G. et al. // *Nanotechnology in Russia*. – 2017. – V. 12, № 7–8. – P. 461–470.
17. Дудниченко А. С. Результаты экспериментальных исследований липосомальных форм антрациклинов и 5-фторурацила / Дудниченко А. С., Краснопольский Ю. М. // *Экспериментальная онкология*. – 1996. – Т. 18, № 2. – С. 125–129.
18. Paclitaxel liposome for injection (Lipusu) plus cisplatin versus gemcitabine plus cisplatin in the first-line treatment of locally advanced or metastatic lung squamous cell carcinoma: A multicenter, randomized, open-label, parallel controlled clinical study / Zhang J., Pan Y., Shi Q. et al. // *Cancer communications*. – 2022. – V. 42, No. 1. P. 3–16. – URL: <https://doi.org/10.1002/cac2.12225>
19. Novel pegylated liposomal formulation of docetaxel with 3-n-pentadecylphenol derivative for cancer therapy / Zawilska P., Machowska M., Wisniewski K. et al. // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2021. – V. 163. – 105838. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.105838>
20. Liposomal drug delivery systems and anticancer drugs / Olusanya T. O. B., Haj Ahmad R. R., Ibegbu D. M. et al. // *Molecules*. – 2018. – V. 23, No. 4. – 907. – URL: <https://doi.org/10.3390/molecules23040907>
21. Franco Y. L. Anticancer and cardio-protective effects of liposomal doxorubicin in the treatment of breast cancer / Franco Y. L., Vaidya T. R., Ait-Oudhia S. //

Breast cancer. – 2018. – V. 10. – P. 131–141. – URL: <https://doi.org/10.2147/BCTT.S170239>

22. Пат. 5654 України. Спосіб одержання ліпосомального препарату / Стефанов О. В., Теміров Ю. П., Краснопольський Ю. М. – № 93101191; заявл. 14.01.1993; опубл. 28.12.1994., Бюл. № 7–І.

23. Григор'єва Г. С. Ліпосоми per se фармакотерапевтичний статус / Григор'єва Г. С., Краснопольський Ю. М. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2020. – Т. 14, № 4. – С. 264-271. – URL: <https://doi.org/10.33250/14.04.264>

24. Пат. 76393 України. Спосіб отримання ліпосомального засобу, що містить кверцетин / Стефанов О. В., Григор'єва Г. С., Соловійов А. І. та ін. – № а200604675; заявл. 27.04.2006; опубл. 17.07.2006., Бюл. № 7.

25. Пат. 111762 України. Спосіб отримання фармакологічно активного ліпосомального засобу, що містить кверцетин / Григор'єва Г. С., Краснопольський Ю. М., Конахович Н. Ф., Пасечнікова Н. В. – № а201407695; заявл. 08.07.2014; опубл. 10.06.2016., Бюл. № 11.

26. Пат. 46528 України. Спосіб отримання ліпосомального гепатопротекторного засобу / Григор'єва А.С., Конахович Н.Ф., Стефанов А.В. та ін. – № 2001085592; заявл. 07.08.2001; опубл. 15.12.2003., Бюл. № 12.

27. Liu P. A Review of liposomes as a drug delivery system: current status of approved products, regulatory environments, and future perspectives / Liu P., Chen G., Zhang J. // *Molecules*. – 2022. – V. 27, No. 4. – 1372. – URL: <https://doi.org/10.3390/molecules27041372>

28. Liposome: classification, preparation, and applications / Akbarzadeh A., Rezaei-Sadabady R., Davaran S. et al. // *Nanoscale research letters*. – 2013. – V. 8, No. 1. – 102. – URL: <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-102>

29. DepoFoam technology: a vehicle for controlled delivery of protein and peptide drugs / Ye Q., Asherman J., Stevenson M. et al. // *Journal of Controlled Release*. – 2000. – V. 64, No. 1-3. – P. 155–166. – URL: [https://doi.org/10.1016/s0168-3659\(99\)00146-7](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(99)00146-7)

30. Krasnopolsky Yu. M. “Quality By Design” in liposomal drugs creation / Krasnopolsky Yu. M., Pylypenko D. M. // *Biotechnologia ACTA*. – 2020. – V. 13, No. 6. – P. 5–12. – URL: <https://doi.org/10.15407/biotech13.06.005>

31. Katsai O. “Quality-by-Design” approach to the development of a dosage form for the liposomal delivery system of cytochrome C / Katsai O., Ruban O., Krasnopolskyi Y. // *Pharmakeftiki*. – 2018. – V. 30, № 1. – P. 76–87.

32. Стадниченко А. В. Липосомальные противоопухолевые препараты /

Стадниченко А. В., Дудниченко А. С., Краснопольский Ю. М. – Харьков : «Мадрид», 2018. – 256 с.

33. Adler-Moore J. AmBisome: liposomal formulation, structure, mechanism of action and pre-clinical experience / Adler-Moore J., Proffitt R. T. // *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. – 2002. – V. 49, Suppl 1. – P. 21–30. – URL: [https://doi.org/10.1093/jac/49.suppl\\_1.21](https://doi.org/10.1093/jac/49.suppl_1.21)

34. Krasnopolsky Y. M. Experimental study of liposomal docetaxel incorporation and stability / Krasnopolsky Y. M., Dudnichenko A. S. // *Experimental oncology*. – 2017. – V. 39, № 2. – P. 121–123.

35. Valle de Jesus M. J. Liposomes prepared in absence of organic solvents: sonication versus lipid film hydration method / Valle de Jesus M. J., Navarro Sanchez A. // *Current Pharmaceutical Analysis*. – 2015. – V. 11, No. 2. – P. 86–91. – URL: <https://dx.doi.org/10.2174/1573412910666141114221935>

36. Preparation of liposomes: A comparative study between the double solvent displacement and the conventional ethanol injection – From laboratory scale to large scale / Sala M., Miladi K., Agusti G. et al. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2017. – V. 524. – P. 71–78.

37. Preparation of liposomes at large scale using the ethanol injection method: Effect of scale-up and injection devices / Charcosset C., Juban A., Valour J. et al. // *Chemical Engineering Research & Design*. – 2015. – V. 94. – P. 508–515.

38. The crossflow injection technique: an improvement of the ethanol injection method / Wagner A., Vorauer-Uhl K., Kreismayr G., Katinger H. // *Journal of liposome research*. – 2002. – V. 12, No. 3. – P. 259–270. – URL: <https://doi.org/10.1081/lpr-120014761>

39. Wagner A. Liposomes produced in a pilot scale: production, purification and efficiency aspects / Wagner A., Vorauer-Uhl K., Katinger H. // *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*. – 2002. – V. 54, No. 2. – P. 213–219. – URL: [https://doi.org/10.1016/s0939-6411\(02\)00062-0](https://doi.org/10.1016/s0939-6411(02)00062-0)

40. Ethanol injection technique for liposomes formulation: An insight into development, influencing factors, challenges and applications / Gouda A., Sakr O.S., Nasr M., Sammour O. Gouda A., Sakr O.S., Nasr M., Sammour O. // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. – 2021. – V. 61. – 102174. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102174>

41. Frost H. MTP-PE in liposomes as a biological response modifier in the treatment of cancer: Current status / Frost H. // *Biotherapy*. – 1992. – V. 4. – P. 199–204. – URL: <https://doi.org/10.1007/BF02174206>

42. A dried preparation of liposomes containing muramyl tripeptide phospho-

tidylethanolamine as a potent activator of human blood monocytes to the antitumor state / Sone S., Utsugi T., Tandon P., Ogawara M. // Cancer immunology, immunotherapy : ЦИ. – 1986. – V. 22, No. 3. – P. 191–196. – URL: <https://doi.org/10.1007/BF00200032>

43. A review on multivesicular liposomes for pharmaceutical applications: preparation, characterization, and translational challenges / Chaurasiya A., Gorajiya A., Panchal K. et al. // Drug delivery and translational research. – 2022. – V. 12, No. 7. –P. 1569–1587. – URL: <https://doi.org/10.1007/s13346-021-01060-y>

44. Mantripragada S. A lipid based depot (DepoFoam technology) for sustained release drug delivery / Mantripragada S. // Progress in lipid research. – 2002. – V. 41, No. 5. – P. 392–406. – URL: [https://doi.org/10.1016/s0163-7827\(02\)00004-8](https://doi.org/10.1016/s0163-7827(02)00004-8)

45. А. С. 1699343 АЗ СССР. Способ получения антигипоксического средства в липосомальной форме / Стефанов А. В., Брыгинский С. А., Лишко В. К., Краснопольский Ю. М. – опубл. 15.12.1991., Бюл. № 46.

46. Пат. 14629 України. Спосіб одержання ліпосомальної форми протипухлинного препарату / Дудниченко О. С., Бутенко К. А., Краснопольський Ю. М., Теміров Ю. П. – № 94107197; заявл. 10.10.1994; опубл. 25.04.1997., Бюл. № 2.

47. Добреля Н. В. Ліпін за гіпоксичних станів від експерименту до клініки (огляд літератури) / Добреля Н. В., Хромов О. С., Бухтіярова Т. А. // Фармакологія та експериментальна токсикологія. – 2020. – Т. 14, № 3. – С. 166-176. – URL: <https://doi.org/10.33250/14.03.166>

48. Пат. 64591 України. Спосіб одержання ліпосомальної форми протипухлинного антибіотика / Дудниченко О. С., Теміров Ю. П., Швець В. І. та ін. – № 2003076190; заявл. 03.07.2003; опубл. 16.01.2006., Бюл. № 1.

49. Разработка технологии производства препарата Липодокс – липосомальной формы доксорубина / Швець В. И., Победимский Д. Д., Степанов А.Е. и др. // Химия и рынок. – 2004. – Т. 3, № 33. –С. 12–22.

50. Пат. 112699 України. Спосіб отримання ліпосомальної емульсії, що містить водорозчинні протипухлинні препарати / Дудниченко О. С., Краснопольський Ю. М. – № u201606975; заявл. 29.06.2016; опубл. 26.12.2016., Бюл. № 24.

51. Пат. 023079 Евразийское патентное ведомство. Способ получения липосомальной формы иринотекана (варианты) / Шоболов Д. Л., Краснопольский Ю. М., Ульянов А. М. и др. – № 201201594; заявл. 24.12.2012; опубл. 29.04.2016.



52. Пат. 022183 Евразийское патентное ведомство. Способ получения липосомальной формы цитохрома С / Шоболов Д. Л., Краснопольский Ю. М., Ульянов А. М. и др. – № 201201592; заявл. 24.12.2012; опубл. 30.11.2015.

53. Пат. 118583 України. Спосіб отримання фармакологічно активної ліпосомальної композиції, що містить цитохром С, та ліпосомальна композиція, отримана таким способом / Григор'єва Г. С., Кацай О. Г., Краснопольський Ю. М. та ін. – № а201610776; заявл. 27.10.2016; опубл. 11.02.2019., Бюл. № 3.

54. Сравнительное экспериментальное токсикологическое исследование цитостатиков из группы таксанов и их наноразмерные лекарственные формы / Седова С. В., Авдеев О. И., Балабаньян В.Ю. и др. // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – № 4. – С. 33-37.

55. Пат. 022182 Евразийское патентное ведомство. Способ получения липосомальной формы цитохрома С / Шоболов Д. Л., Краснопольский Ю. М., Ульянов А. М. и др. – № 2012000270; заявл. 24.12.2012; опубл. 30.11.2015.

56. Звіт про створення та передачу науково-технічної продукції під назвою «Відкрите дослідження по вивченню ефективності та переносимості препарату Ліоплат - ліофілізований порошок, для приготування розчину для ін'єкцій по 0.01 г у пляшках виробництва ЗАТ «Біолік» в порівнянні з препаратом Цисплатин, концентратом для інфузій по 0.01 г у флаконах виробництва фірми «Mili Healthcare» у пацієток на рак яєчників, первинним та рецидивом III-IV стадії, II клінічної групи». – Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кравецького, 2007. – 22 с.

57. Пат. 147767 України. Пилипенко Д. М., Краснопольський Ю. М. / Спосіб отримання комплексної ліпосомальної композиції, що містить кверцетин та куркумін. – № u202100468; заявл. 08.02.2021; опубл. 09.06.2021., Бюл. № 23.

58. Preparation and cardioprotective effect analysis of liposomal coenzyme Q10 / Shakhmaiev A. E., Gorbach T. V., Bobritskaya L. A., Krasnopolsky Yu. M. // The Pharma Innovation Journal. – 2015. – V. 4, No. 9. – P. 22–26.

59. Исследование методов включения лекарственных субстанций в липосомальные наночастицы / Шахмаев А.Е., Кацай А.Л., Прохоров В.В. и др. // Ремедиум. – 2015. – № 12. – С. 56–59.

60. Пат. 91702 України. . Спосіб одержання кардіопротекторного засобу на основі ліпосомальних наночастинок / Шахмаєв А. Е., Горбач Т. В., Краснопольський Ю. М. – № u201401941; заявл. 26.02.2014; опубл. 10.07.2014., Бюл. № 13.

61. Пат. 124724 України. Спосіб отримання ліпосомальної композиції, що містить латанопрост, та фармакологічно активна ліпосомальна композиція для офтальмології отримана таким способом / Пилипенко О. Я., Григор'єва Г. С., Краснополський Ю. М. та ін. – № а202101614; заявл. 26.03.2021; опубл. 04.11.2021., Бюл. № 44.

62. Pat. 11478489B2 United States. Method for preparing liposomal composition comprising latanoprost, and the pharmacologically active liposomal composition for ophthalmotherapy prepared by this method / Pylypenko A. A., Grygorieva G. S., Krasnopolsky Y. M. et al. – № 17/375814; appl. 14.07.2021; publ. 25.10.2022.

63. Ocular hypotensive efficacy of a new liposomal latanoprost formulation administered by different routes for experimental ocular hypertension / Mikheyitseva I. M., Grygorieva G. S., Pasyechnikova N. V. et al. // Офтальмологічний журнал. – 2022. – V. 2. – P. 37-41. – URL: <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh202223741>.

64. Експериментальне дослідження безпечності ліпосомальної композиції латанопросту за різних способів введення / Григор'єва Г. С., Михейцева І. М., Медведовська Н. В. та ін. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2022. – Т. 16, №. 3. – С. 195–204.

65. Influence of the lipid composition on the properties, technology and quality indicators of liposomal drugs / Pylypenko D. M., Grigoryeva G. S., Konakhovych N. F., Krasnopolsky Yu. M. // Biotechnologia ACTA. – 2022. – V. 15, No. 5. – P. 24–30. – URL: <https://doi.org/10.15407/biotech15.05.024>

66. Одержання очищеного лецитину / Швець В. І., Сенніков Г. А., Гольбець І. І. та ін. // Фармацевтичний журнал. – 1977. – № 4. – С. 79–81.

67. Pat. 5741516 United States. Sphingosomes for Enhanced Drug Delivery / Webb M. S., Bally M. B., Mayer L. D. et al. – № 572555; appl. 14.12.1995; publ. 21.04.1998.

68. Sustained release of an anti-glaucoma drug: demonstration of efficacy of a liposomal formulation in the rabbit eye / Natarajan J. V., Chattopadhyay S., Ang M. et al. // PloS one. – 2011. V. 6, No. 9. – e24513. – URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024513>

69. Nanomedicine for glaucoma: sustained release latanoprost offers a new therapeutic option with substantial benefits over eyedrops / Wong T. T., Novack G. D., Natarajan J. V. et al. // Drug delivery and translational research. – 2014. – Т. 4, No. 4. – P. 303–309. – URL: <https://doi.org/10.1007/s13346-014-0196-9>

70. Nanomedicine for glaucoma: liposomes provide sustained release of latanoprost in the eye / Natarajan J. V., Ang M., Darwitan A. et al. // International journal of nanomedicine. – 2012. – V. 7. – P. 123–131. – URL:

<https://doi.org/10.2147/IJN.S25468>

71. Jansook P. Aqueous prostaglandin eye drop formulations / Jansook P., Loftsson T. // *Pharmaceutics*. – 2022. – V. 14. No. 10. – 2142. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102142>

72. Breaking down the barrier: Topical liposomes as nanocarriers for drug delivery into the posterior segment of the eyeball / Santos A., C. Altamirano-Vallejo J., Navarro-Partida J. et al. // *Role of novel drug delivery vehicles in nanobiomedicine*. – 2020. – URL: <https://doi.org/10.5772/intechopen.86601>

73. Latanoprost-Loaded Nanotransfersomes Designed for Scalp Administration Enhance Keratinocytes Proliferation / Pena-Rodríguez E., García-Vega L., Lajarin Reinares M. et al. // *Molecular pharmaceutics*. – 2022. – URL: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.2c00796>

74. Comparison soluble and liposome encapsulated, sustained release latanoprost for focal adipose reduction / Loder S., Sukinik J., Cannon M. et al. // *Facial plastic surgery and aesthetic medicine*. – 2022. – URL: <https://doi.org/10.1089/fpsam.2022.0064>

75. Nanobiotechnological obtaining of liposomal forms of antioxidant preparations based on bioflavonoids / Pylypenko D., Prokhorov V., Dudnichenko O., Krasnopolsky Y. // *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. – 2019. – V. 6, No. 22 – P. 11–15. – URL: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2019.188679>

76. Исследование антиаритмической активности липосомальной формы цитохрома C / Пилипенко Д. М., Кацай А. Г., Прохоров В. В. и др. // *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. – 2017. – № 3(7). – С. 54–57.

77. Liposomal curcumin and its application in cancer / Feng T., Wei Y., Lee R. J., Zhao L. // *International journal of nanomedicine*. – 2017. – V. 12. – P. 6027–6044. – URL: <https://doi.org/10.2147/IJN.S132434>

78. Curcumin encapsulated micellar nanopatform for blue light emitting diode induced apoptosis as a new class of cancer therapy / Vetha B.S.S., Kim E.M., Oh P.S. et al. // *Macromolecular Research*. – 2019. – V. 27. – P. 1179-1184. – URL: <https://doi.org/10.1007/s13233-019-7168-3>

79. Subramani P. A. Curcumin Nanotechnologies and Its Anticancer Activity / Subramani P. A., Panati K., Narala V. R. // *Nutrition and cancer*. – 2017. – V. 69, No. 3. – P. 381–393. – URL: <https://doi.org/10.1080/01635581.2017.1285405>

80. Quercetin and cancer: new insights into its therapeutic effects on ovarian cancer cells / Vafadar A., Shabaninejad Z., Movahedpour A. et al. // *Cell & bioscience*. – 2020. – V. 10. – 32. – URL: <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00397-0>

81. Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin in vitro and in vivo / Hashemzaei M., Delarami Far A., Yari A. et al. // *Oncology reports*. – 2017. – V. 38, No. 2. – P. 819–828. – URL: <https://doi.org/10.3892/or.2017.5766>
82. Quercetin induces protective autophagy and apoptosis through ER stress via the p-STAT3/Bcl-2 axis in ovarian cancer / Liu Y., Gong W., Yang Z. Y. et al. // *Apoptosis : an international journal on programmed cell death*. – 2017. – V. 22, No. 4. – P. 544–557. – URL: <https://doi.org/10.1007/s10495-016-1334-2>
83. Amphotericin B: time for a new "gold standard" / Ostrosky-Zeichner L., Marr K. A., Rex J. H., Cohen S. H. // *Clinical infectious diseases*. – 2003. – V. 37, No. 3. – P. 415–425. – URL: <https://doi.org/10.1086/376634>
84. Temperature-dependent transfer of amphotericin B from liposomal membrane of AmBisome to fungal cell membrane / Shimizu K., Osada M., Takemoto K. et al. // *Journal of controlled release*. – 2010. – V. 141, No. 2. – P. 208–215. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.09.019>
85. Clinical pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and efficacy of liposomal Amphotericin B / Groll A. H., Rijnders B. J. A., Walsh T. J. et al. // *Clinical infectious diseases* 2019. – V. 68, Suppl. 4. – P. S260–S274. – URL: <https://doi.org/10.1093/cid/ciz076>
86. Product monograph: AmBisome-liposomal amphotericin B for injection. – Ontario, 2011. – 32 p.
87. Sensitivity of the *Candida albicans* trehalose-deficient mutants *tps1Δ* and *tps2Δ* to amphotericin B and micafungin / Guirao-Abad J. P., Pujante V., Sánchez-Fresneda R. et al. // *Journal of medical microbiology*. – 2019. – V. 68, No. 10. – P. 1479–1488. – URL: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001053>
88. Pharmaceutical liposomal delivery—specific considerations of innovation and challenges / Peng T., Xu W., Li Q et al. // *Biomaterial Science*. – 2023. – V. 11. – P. 62–75. – URL: <https://doi.org/10.1039/D2BM01252A>
89. In vitro and in vivo antifungal activity of ambisome compared to conventional amphotericin B and fluconazole against *Candida auris*. Herrada, J., Gamal, A., Long, L. et al. // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2021. – V. 65, No. 6. – e00306-21. – URL: <https://doi.org/10.1128/AAC.00306-21>
90. Sixty years of Amphotericin B: an overview of the main antifungal agent used to treat invasive fungal infections / Cavassin F. B., Baú-Carneiro J. L., Vilas-Boas R. R., Queiroz-Telles F. // *Infectious diseases and therapy*. – 2021. – V. 10, No. 1. – P. 115–147. – URL: <https://doi.org/10.1007/s40121-020-00382-7>
91. Liposomal amphotericin B (AmBisome®) at beginning of its third decade of clinical use / Aversa F., Busca A., Candoni A. et al. // *Journal of chemotherapy*. –

2017. – V. 29, No. 3. – P. 131–143. – URL: <https://doi.org/10.1080/1120009X.2017.1306183>

92. Liposome drug products. Chemistry, manufacturing, and controls; Human pharmacokinetics and bioavailability; and labeling documentation. Guidance for industry. – FDA, U.S. Department of health and human services food and drug administration center for drug evaluation and research (CDER), 2015.

93. Стандартизація ліпосомальних лікарських засобів / Борщевський Г. І., Товмасян Е. К., Краснопольський Ю. М., Гризодуб А. І. // Фармаком. – 2013. – № 2. – С. 5–11.

94. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – С. 1036–1038.

95. Krasnopolsky Yu. M. Analysis of risk factors under production of preparation based on biotechnology / Krasnopolsky Yu. M., Stepanov A. E., Shvets V. I. // Third russian symposium with international participation BIOPHARMA-2011: from science to industry. – Tel Aviv, 2011. – P. 12–13.

96. Quality by Design approach in liposomal formulations: robust product development / Alshaer W., Nsairat H., Lafi Z. et al. // *Molecules*. – 2022. – V. 28, No. 1. – 10. – URL: <https://doi.org/10.3390/molecules28010010>

97. Composition design and medical application of liposomes / Li M., Du C., Guo N. et al. // *European journal of medicinal chemistry*. – 2019. – V. 164. – P. 640–653. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.01.007>

98. Nanoparticle-based drug delivery systems: promising approaches against infections / Ranghar S., Sirohi P., Verma P. K., Agarwal V. // *Brazilian archives of biology and technology*. – 2013. – V. 57. – P. 209–222.

99. Akbani I. Nanomedicine and its role in Ophthalmology / Akbani I., Bashir M. // *Journal of Contemporary Medicine and Dentistry*. – 2014. – V. 2, No. 3. – P. 6–11.

100. Advances in liposomal drug delivery system / Keshari C., Kumar S., Sahoo D. et al. // *International journal of advances in pharmaceutical sciences*. – 2014. – V. 5, No. 3. – P. 2019–2033.

101. Ophthalmic Drug Delivery Systems for Antibiotherapy-A Review // Dubald M., Bourgeois S., Andrieu V., Fessi H. // *Pharmaceutics*. – 2018. – V. 10, No. 1. – 10. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10010010>

102. Nanocarriers-assisted needle-free vaccine delivery through oral and intranasal transmucosal routes: a novel therapeutic conduit / Mangla B., Javed S., Sul-

tan M. H. et al. // *Frontiers in pharmacology*. – 2022. – V. 12. – 757761. – URL: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.757761>

103. Guimarães D. Design of liposomes as drug delivery system for therapeutic applications / Guimarães D., Cavaco-Paulo A., Nogueira E. // *International journal of pharmaceutics*. – 2021. – V. 601. – 120571. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120571>

104. Nanomedicine review: clinical developments in liposomal applications / Beltrán-Gracia E., López-Camacho A., Higuera-Ciapara I. et al. // *Cancer Nano*. – 2019. – V. 10. – 11. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12645-019-0055-y>

105. Alavi M. Passive and active targeting in cancer therapy by liposomes and lipid nanoparticles / Alavi M., Hamidi M. // *Drug metabolism and personalized therapy*. – 2019. – V. 34, No. 1. – URL: <https://doi.org/10.1515/dmpt-2018-0032>

106. Liposomes and PEGylated liposomes as drug delivery system / Mohamed A., Alaaeldin E., Hussein A. Sarhan H.A. // *Journal of biomedical and pharmaceutical sciences* – 2020. – V. 3, No. 1. – P. 80-88.

107. Sinha R. K. The protective efficacy of a liposomal encapsulated 30 kDa secretory protein of *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra against tuberculosis in mice / Sinha R. K., Khuller G. K. // *Immunology and cell biology*. – 1997. – V. 75, No. 5. – P. 461–466. – URL: <https://doi.org/10.1038/icb.1997.71>

108. WO2012093137A1. Liposome formulation suitable for treating or preventing tuberculosis / Cardona P. J., Amat I., Reyes B. et al. – № PCT/EP2012/050080; appl. 04/01/2012; publ. 12.07.2012 .

109. Enhanced Immune Response to Rabies Viruses by the Use of a Liposome Adjuvant in Vaccines / Miao L., Yang Y., Yan M. et al. // *Viral immunology*. – 2017. – V. 30, No. 10. – P. 727–733. – URL: <https://doi.org/10.1089/vim.2017.0093>

110. Krasnopolsky Yu. M. Biotechnological research in the creation and production of antirabic vaccines / Krasnopolsky Yu. M., Pylypenko D. M. // *Biotechnologia ACTA*. – 2021. – V. 14, No. 4. – P. 28–37. – URL: <https://doi.org/10.15407/biotech14.04.028>

111. Design of a liposomal candidate vaccine against *Pseudomonas aeruginosa* and its evaluation in triggering systemic and lung mucosal immunity / Heurtault B., Gentine P., Thomann J. S. et al. // *Pharmaceutical research*. – 2009. – V. 26, No. 2. – P. 276–285. – URL: <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9724-y>

112. Влияние липидного состава липосом на их адьювантную активность / Гольбец И. И., Краснопольский Ю. М., Сергиенко Т. Я., Швец В. И. // Тезисы докладов 4-го Всесоюзного симпозиума по биохимии липидов. – Киев, 1983. – С. 35–37.

113. Davis D. Liposomes as adjuvants with immunopurified tetanus toxoid: the immune response / Davis D., Davies A., Gregoriadis G. // Immunology letters. – 1987. – V. 14, No. 4. – P. 341–348. – URL: [https://doi.org/10.1016/0165-2478\(87\)90016-2](https://doi.org/10.1016/0165-2478(87)90016-2)

114. Davis D. Liposomes as immunological adjuvants in vaccines: studies with entrapped and surface-linked antigen / Davis D., Davies A., Gregoriadis G. // Biochemical society transactions. – 1986. – V. 14, No. 6. – P. 1036–1037. – URL: <https://doi.org/10.1042/bst0141036>

115. Induction of protection against tetanus toxin in mice by tetanus toxoid-liposome conjugate / Naito S., Horino A., Komiya T. et al. // International archives of allergy and immunology. – 1998. – V. 116, No. 3. – P. 215–219. – URL: <https://doi.org/10.1159/000023947>

116. Динаміка формування гуморального імунітету при пероральному введенні ліпосомальних і модифікованих форм соматичних антигенів збудників дифтерії та кашлюка / Бабич Є. М., Белозерський В. І., Краснопольський Ю. М. та ін. // Експериментальна і клінічна медицина. – 2004. – № 2. – С.120–123.

117. Исследование действия некоторых ганглиозидов и фосфолипидов на чувствительность опухолевых клеток к цитостатическому и мембранотоксическому действию селезеночных эффекторов / Богдашин И. В., Швец В. И., Краснопольский Ю. М., Фукс Б. Б. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1985. – Т. 50, № 8. – С. 237–239.

118. Краснопольский Ю. М. Исследования действия некоторых ганглиозидов на резистентность мышей к вирусу бешенства / Краснопольский Ю. М., Швец В. И. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1987. – № 12. – С. 698–699.

119. Эффект липидных иммуномодуляторов / ганглиозидов и фосфолипидов при экспериментальной гриппозной инфекции у мышей. Клеточные основы противоопухолевого иммунитета. Гибридомы / Константинова И. В., Подчерняева Р. Я., Швец В. И. и др. // Тезисы докладов всесоюзного симпозиума. – М., 1985. – С. 40–42.

120. Optimization of Liposomes for Antigen Targeting to Splenic CD169+ / Nijen Twilhaar M. K., Czentner L., Grabowska J. et al. // Macrophages. Pharmaceutics. – 2020. V. 12, No. 12. – 1138. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121138>

121. Liposomal nanovaccine containing  $\alpha$ -galactosylceramide and ganglioside GM3 stimulates robust CD8 + T cell responses via CD169 + macrophages and cDC1

/ Grabovska J., Stolk D. A., Twihaar H. J. et al. // *Vaccines*. –2021. – V. 9, No. 1. – 56. – URL: <https://doi.org/10.3390/vaccines9010056>

122. Ганглиозиды при раке молочной железы: новые перспективы / Гру-Дегрут С., Герардель И., Жульен С., Деланной П. // *Биохимия*. – 2015. – Т. 80, № 7. – С. 267–279.

123. Immunogenicity and antitumor activity of a liposomal MUC1 peptide-based vaccine / Samuel J., Budzynski W. A., Reddish M. A. et al. // *International journal of cancer*. – 1998. – V. 75, No. 2. – P. 295–302. – URL: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(19980119\)75:2<295::aid-ijc20>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(19980119)75:2<295::aid-ijc20>3.0.co;2-b)

124. North S. Vaccination with BLP25 liposome vaccine to treat non-small cell lung and prostate cancers / North S., Butts C. // *Expert review of vaccines*. – 2005. – V. 4, No. 3. – P. 249–257. – URL: <https://doi.org/10.1586/14760584.4.3.249>

125. A pilot study of the liposomal MUC1 vaccine BLP25 in prostate specific antigen failures after radical prostatectomy / North S. A., Graham K., Bodnar D., Venner P. // *Journal of urology*. – 2006. – V. 176, No.1. – P. 91–95. – URL: [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(06\)00494-0](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(06)00494-0)

126. Synthesis and evaluation of liposomal anti-GM3 cancer vaccine candidates covalently and noncovalently adjuvanted by  $\alpha$ GalCer / Yin X. G., Lu J., Wang J. et al. // *Journal of medicinal chemistry*. – 2021. – V. 64, No. 4. – P. 1951–1965. – URL: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01186>

127. Liposomal adjuvants for human vaccines / Alving C. R., Beck Z., Matyas G. R., Rao M. // *Expert opinion on drug delivery*. – 2016. – V. 13, No. 6. – P. 807–816. – URL: <https://doi.org/10.1517/17425247.2016.1151871>

128. Army Liposome Formulation (ALF) family of vaccine adjuvants / Alving C. R., Peachman K. K., Matyas G. R. et al. // *Expert review of vaccines*. – 2020. – V. 19, No. 3. – P. 279–292. – URL: <https://doi.org/10.1080/14760584.2020.1745636>

129. Eleven years of Inflexal V-a virosomal adjuvanted influenza vaccine / Herzog C., Hartmann K., Künzi V. et al. // *Vaccine*. – 2009. – V. 27, No. 33. – P. 4381–4387. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.05.029>

130. Structural and functional characterization of liposomal Recombinant Hepatitis B vaccine / Diminsky D., Reimann Z., Schimbrek R., Barenholz Y. // *Journal of liposomal research*. – 1996. – V. 6, No. 2. – P. 289–304. – URL: <https://doi.org/10.3109/08982109609031118>

131. Immunogenicity and protectivity of a new liposomal hepatitis A vaccine / Ambrosch F., Wiedermann G., Jonas S. et al. // *Vaccine*. – 1997. – V. 15, No. 11. – P. 1209–1213. – URL: [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(97\)00015-7](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(97)00015-7)



132. A liposomal peptide vaccine inducing CD8<sup>+</sup> T cells in HLA-A2.1 transgenic mice, which recognise human cells encoding hepatitis C virus (HCV) proteins / Engler O. B., Schwendener R. A., Dai W. J. et al. // *Vaccine*. – 2004. – V. 23, No. 1. – P. 58–68. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.05.009>
133. Краснопольский Ю. М. Фармацевтическая биотехнология: Бионанотехнология в фармации и медицине : учебное пособие / Ю. М. Краснопольский, А. С. Дудниченко, В. И. Швец. – Харьков : НТУ «ХПИ», 2011. – 227 с.
134. Bovier P. A. Epxahal: a virosomal vaccine to prevent hepatitis A infection / Bovier P. A. // *Expert review of vaccines*. – 2008. – V. 7, No. 8. – P. 1141–1150. – URL: <https://doi.org/10.1586/14760584.7.8.1141>
135. Pippa N., Demetzos C. Innovative nano-vaccines: From bench to bedside. *Pharmakeftiki*. 2017. V. 29. N. IV. P. 56-58.
136. Leitgeb M. Sustainable technologies for liposome preparation / Leitgeb M., Knez Z., Primožic M. // *The Journal of Supercritical Fluids*. – 2020. – V. 165, No. 1. – 104984. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104984>
137. Immunogenicity of trivalent subunit versus virosome-formulated influenza vaccines in geriatric patients / Conne P., Gauthey L., Vernet P. et al. // *Vaccine*. – 1997. – V. 15, No. 15. – P. 1675–1679. – URL: [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(97\)00087-x](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(97)00087-x)
138. Holm K. I. Liposomal influenza vaccine / Holm K.I, Goa K.I. // *Bio-Drugs*. – 1999. – V. 2. – P. 137–144. – URL: <https://doi.org/10.2165/00063030-199911020-00007>
139. Immunogenicity and safety of a novel IL-2-supplemented liposomal influenza vaccine (INFLUSOME-VAC) in nursing-home residents / Ben-Yehuda A., Joseph A., Barenholz Y., et al. // *Vaccine*. – 2003. – V. 21, No. 23. – P. 3169–3178. – URL: [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(03\)00251-2](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(03)00251-2)
140. Lipid vesicle size of an oral influenza vaccine delivery vehicle influences the Th1/Th2 bias in the immune response and protection against infection / Mann J.F., Shakir E., Carter K.C. et al. // *Vaccine*. – 2009. – V. 27, No. 27. – P. 3643–3649. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.03.040>
141. Asadi K. Virosome-based nanovaccines; a promising bioinspiration and biomimetic approach for preventing viral diseases: A review / Asadi K., Gholami A. // *International journal of biological macromolecules*. – 2021. – V. 182. – P. 648–658. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.005>
142. Mischler R. Inflexal V a trivalent virosome subunit influenza vaccine: production / Mischler R., Metcalfe I. C. // *Vaccine*. – 2002. – V. 20, No. 5. – P. B17–B23. – URL: [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(02\)00512-1](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00512-1)

143. A review on drug Delivery System: Liposome / Mane N.S., Mohite V.S., Jadhav A.P., Patil S.V. // International journal of creative research thoughts. – 2021. – V. 9, No. 7. – P. 659–675.

144. Poon Ch. Organic and inorganic nanoparticle vaccines for prevention of infectious diseases / Poon Ch., Patel A. A. // Nano Express. – 2020. – V. 1. – 012001. – URL: <https://doi.org/10.1088/2632-959X/ab8075>

145. Design and simulation of the liposomal model by using a coarse-grained molecular dynamics approach towards drug delivery goals / Parchekani J., Allahverdi A., Taghdir M., Naderi-Manesh H. // Scientific reports. – 2022. – V. 12, No. 1. – 2371. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06380-8>

146. Peters T. Development and in vitro testing of liposomal gadolinium-formulations for neutron capture therapy of glioblastoma multiforme / Peters T. – Mainz, 2013. – 200 p.

147. The role of the helper lipid on the DNA transfection efficiency of lipopolyplex formulations / Du Z., Munye M. M., Tagalakis A. D. et al. // Scientific reports. – 2014. – V. 4. – 7107. – URL: <https://doi.org/10.1038/srep07107>

148. Ermilova I. DOPC versus DOPE as a helper lipid for gene-therapies: molecular dynamics simulations with DLin-MC3-DMA / Ermilova I., Swenson J. // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2020. – V. 22. – P. 28256–28268. – URL: <https://doi.org/10.1039/d0cp05111j>

149. Lee S. Recent advances of vaccine adjuvants for infectious diseases / Lee S., Nguyen M. T. // Immune network. – 2015. – V. 15, No. 2. – P. 51–57. – URL: <https://doi.org/10.4110/in.2015.15.2.51>

150. Nanotechnology based virosomal drug delivery systems / Nanjwade B. K., Idris N. F., Chilkawar R. N. et. al. // Journal of Nanotechnology and Materials Science. – 2014. – V. 1, No. 1. – P. 27-35. – URL: <https://doi.org/10.15436/2377-1372.14.003>

151. Tregoning J. S. Adjuvanted influenza vaccines / Tregoning J. S., Russell R. F., Kinnear E. // Human vaccines & immunotherapeutics. – 2018. – V. 14, No. 3. – P. 550–564. – URL: <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1415684>

152. Promising adjuvants and platforms for influenza vaccine development / Zhu W., Dong C., Wei L., Wang B. Z. // Pharmaceutics. – 2021. – V. 13, No. 1. – 68. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010068>

153. Petrovsky N. Vaccine adjuvants: current state and future trends / Petrovsky N., Aguilar J. C. // Immunology and cell biology. – 2004. – V. 82, No. 5. – P. 488–496. – URL: <https://doi.org/10.1111/j.0818-9641.2004.01272.x>

154. Alving C. R. Lipid A and liposomes containing lipid A as antigens and adjuvants / Alving C. R., Rao M. // *Vaccine*. – 2008. – V. 26, No. 24. – P. 3036–3045. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.12.002>
155. Alving C. R. Adjuvant effects of liposomal lipid A for induction of systemic and mucosal immunity. *Liposomes advances: Progress in Drug and Vaccine Delivery* / Alving C. R. – International Liposome Society, 2009. – 40 p.
156. Общая характеристика адьювантов и механизмы их действия (ч. 1) / Алпатова Н. А., Авдеева Ж. И., Лысикова С. Л. и др. // *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. – 2020. – Т. 20, № 4. – С. 245–256.
157. Wang N. Liposomes used as a vaccine adjuvant-delivery system: From basics to clinical immunization / Wang N., Chen M., Wang T. // *Journal of controlled release*. – 2019. – V. 303. – P. 130–150. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.04.025>
158. *Plasmodium falciparum* malaria vaccines and vaccine adjuvants / Bonam S. R., Rénia L., Tadepalli G. et al. // *Vaccines*. – 2021. – V. 9, No. 10. – 1072. – URL: <https://doi.org/10.3390/vaccines9101072>
159. Carter R. Transmission blocking malaria vaccines / Carter R. // *Vaccine*. – 2001. – V. 19. – P. 2309–2314. – URL: [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(00\)00521-1](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(00)00521-1)
160. Nicolaeva D. Toward the development of effective transmission blocking vaccines for malaria / Nicolaeva D., Draper S.J., Biswas S. // *Expert review of vaccines*. – 2015. – V. 14. – P. 653–680.
161. A malaria vaccine adjuvant based on recombinant antigen binding to liposomes / Huang W. C., Deng B., Lin C. et al. // *Nature nanotechnology*. – 2018. – V. 13, No. 12. – P. 1174–1181. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41565-018-0271-3>
162. Antibody response of a particle-inducing, liposome vaccine adjuvant admixed with a Pfs230 fragment / Huang W. C., Deng B., Seffouh A. et al. // *NPJ vaccines*. – 2020. – V. 5, No. 1. – 23. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41541-020-0173-x>
163. Cunningham A. L. Herpes Zoster Vaccines / Cunningham A. L., Levin M. J. // *The Journal of infectious diseases*. – 2018. – V. 218, suppl. 2. – P. S127–S133. – URL: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy382>
164. GlaxoSmithKline Inc. SHINGRIX, Herpes Zoster vaccine. Product monograph including patent medication information. – Ontario: GSK Inc., 2021. – 36 p. – URL: <https://ca.gsk.com/media/6259/shingrix-pm-en.pdf>
165. Adsorption of protein antigen to the cationic liposome adjuvant CAF®01 is required for induction of Th1 and Th17 responses but not for antibody induction / Wörzner K., Hvannastein J., Schmidt S. T. et al. // *European journal of pharmaceuticals*

and biopharmaceutics. – 2021. – V. 165. – P. 293–305. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.05.020>

166. Багаев А. В. Механизмы противоопухолевого действия дендритных клеток и макрофагов, активированных TLR-агонистами : дис. ... к.б.н. – М., 2021. – 194 с.

167. Morein B. Iscom (Immuno-Stimulating Complex) / Encyclopedia of Immunology (2-nd Edition). – 1998. – P. 1507-1510. – URL: <https://doi.org/10.1006/rwei.1999.0385>

168. Lövgren Bengtsson K. ISCOM technology-based Matrix M™ adjuvant: success in future vaccines relies on formulation / Lövgren Bengtsson K., Morein B., Osterhaus A. D. // Expert review of vaccines. – 2011 – V. 10, No. 4. – P. 401–403. – URL: <https://doi.org/10.1586/erv.11.25>

169. Evaluation of the Pfs25-IMX313/Matrix-M malaria transmission-blocking candidate vaccine in endemic settings / Mulamba C., Williams C., Kreppel K. et al. // Malaria journal. – 2022. – V. 21, No. 1, 159. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12936-022-04173-y>

170. Matrix M Adjuvanted H5N1 vaccine elicits broadly neutralizing antibodies and neuraminidase inhibiting antibodies in humans that correlate with *in vivo* protection/ Zhou F., Hansen L., Pedersen, G. et al. // Frontiers in immunology. – 2021. – V. 12, 747774. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.747774>

171. Matrix-M adjuvanted virosomal H5N1 vaccine confers protection against lethal viral challenge in a murine model / Pedersen G., Major D., Roseby S. et al. // Influenza and other respiratory viruses. – 2011. – V. 5, No. 6. – P. 426–437. – URL: <https://doi.org/10.1111/j.1750-2659.2011.00256.x>

172. EU Risk Management plan Nuvaxovid (COVID-19–Vaccine recombinant, adjuvanted)). – 2021. – 108 p.

173. Ayele G. Review on Recent Advance of Vaccin Adjuvants / Ayele G. // Journal of Vaccines and Vaccination. – 2020. – V. S5. – N1000003. – URL: <https://doi.org/10.35248/2157-7560.20.S5:003>

174. Pat. 10953089B1 United States. Coronavirus vaccine formulation. Priority / Smith G., Massare M. J., Tian S. H. – № 16/997001; appl. 19.08.2020; publ. 23.03.2021.

175. Nanotechnology for COVID-19: Therapeutics and vaccine research / Chauhan G., Madou M. J., Kalra S. et al. // ACS Nano. – 2020. – V. 14, No. 7. – P. 7760–7782. – URL: <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c04006>

176. Nanomaterial delivery systems for mRNA vaccines / Buschmann M. D., Carrasco M. J., Alishetty S. et al. // *Vaccines*. – 2021. – V. 9, No. 1. – P. 65. – URL: <https://doi.org/10.3390/vaccines9010065>
177. Pardi N. Recent advances in mRNA vaccine technology / Pardi N., Hogan M. J., Weissman D. // *Current opinion in immunology*. – 2020. – V. 65. – P. 14–20. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2020.01.008>
178. Self-amplifying mRNA vaccines / Brito L. A., Kommareddy S., Maione D. et al. // *Advances in genetics*. – 2015. – V. 89. – P. 179–233. – URL: <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2014.10.005>
179. Pardi N. Nucleoside modified mRNA vaccines for infectious diseases / Pardi N., Weissman D. // *Methods in molecular biology*. – 2017. – V. 1499. – P. 109–121. – URL: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6481-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6481-9_6)
180. Nucleoside-modified mRNA vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses / Pardi N., Hogan M. J., Naradikian M. S. et al. // *The Journal of experimental medicine*. – 2018. — V. 215, No. 6. – P. 1571–1588. – URL: <https://doi.org/10.1084/jem.20171450>
181. Львов Д. К. Источник пандемии COVID-19: экология и генетика коронавируса / Львов Д. К., Альховский С. В. // *Вопросы вирусологии*. – 2020. – Т. 65, № 2. – С.62–70.
182. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19 / Huang Y., Yang C., Xu X. F. et al. // *Acta pharmacologica Sinica*. – 2020. – V. 41, No. 9. – P. 1141–1149. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0485-4>
183. Lipid nanoparticles — From liposomes to mRNA vaccine delivery, a landscape of research diversity and advancement / Tenchov R., Bird R., Curtze A., Zhou Q. // *ACS Nano*. – 2021. – V. 15, No. 11. – P. 16982–17015. – URL: <https://doi.org/10.1021/acsnano.1c04996>
184. mRNA-lipid nanoparticle COVID-19 vaccines: Structure and stability / Schoenmaker L., Witzigmann D., Kulkarni J. A. et al. // *International journal of pharmaceutics*. – 2021. – V. 601, 120586. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120586>
185. Lipid nanoparticles for mRNA delivery / Hou X., Zaks T., Langer R. et al. // *Nature Reviews Materials*. – 2021. – V. 6. – P. 1078–1094. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00358-0>
186. New insights into the structure of Comirnaty COVID-19 vaccine: A theory on soft nanoparticles with mRNA-lipid supercoils stabilized by hydrogen bonds /

Szebeni J., Kiss B., Bozo T. et al. // bioRxiv preprint. – 2022. – URL: <https://doi.org/10.1101/2022.12.02.518611>

187. An mRNA vaccine against SARS-CoV-2: Lyophilized, liposome-based vaccine candidate EG-COVID induces high levels of virus neutralizing antibodies / Hong H.C., Kim K.S., Park S.A. et al. // bioRxiv preprint. – 2021. – URL: <https://doi.org/10.1101/2021.03.22.436375>

188. Wang N. Liposomes used as a vaccine adjuvant-delivery system: From basics to clinical immunization / Wang N., Chen M., Wang T. // Journal of controlled release. – 2019. – V. 303. – P. 130–150. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.04.025>

189. Gregoriadis G. Liposomes and mRNA: two technologies together create a COVID-19 vaccine / Gregoriadis G. // Medicine in drug discovery. – 2021. – V. 12. – 100104. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.medidd.2021>

190. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18-59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial / Zhang Y., Zeng G., Pan H. et al. // The Lancet. Infectious diseases. – 2021. – V. 21, No. 2. – P. 181–192. – URL: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30843-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30843-4)

191. Immunization with mycobacterium tuberculosis antigens encapsulated in phosphatidylserine liposomes improves protection afforded by BCG / Diogo G. R., Hart P., Copland A. et al. // Frontiers in immunology. – 2019. – V. 10. – 1349. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01349>

192. Extracellular vesicles in mycobacteria and tuberculosis. / Mehaffy C., Ryan J. M., Kruh-Garcia N. A. et al. // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2022. – V. 12. – 912831. – URL: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.912831>

193. Stewart E. Adjuvant strategies for more effective tuberculosis vaccine immunity / Stewart E., Triccas J. A., Petrovsky N. // Microorganisms. – 2019. – V. 7, No. 8. – 255. – URL: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7080255>

194. Mycobacterium tuberculosis components expressed during chronic infection of the lung contribute to long-term control of pulmonary tuberculosis in mice / Counoupas C., Pinto R., Nagalingam G. et al. // NPJ vaccines. – 2016. – V. 1. – 16012. – URL: <https://doi.org/10.1038/npjvaccines.2016.12>

195. Phosphatidylserine (PS) and phosphatidylglycerol (PG) nanodispersions as potential anti-inflammatory therapeutics: Comparison of in vitro activity and impact of pegylation. Klein M. E., Mauch S., Rieckmann M. et al. // Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine. – 2020. – V. 23. – 102096. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102096>

196. Prophylactic efficacy against *Mycobacterium tuberculosis* using ID93 and lipid-based adjuvant formulations in the mouse model / Baldwin S. L., Reese V. A., Larsen S. E. et al. // *PloS one*. – 2021. – V. 16, No. 3. – e0247990. – URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247990>
197. Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines / Didierlaurent A. M., Laupèze B., Di Pasquale A. et al. // *Expert review of vaccines*. – 2017. – V. 16, No. 1. – P. 55–63. – URL: <https://doi.org/10.1080/14760584.2016.1213632>
198. Combinational PRR agonists in liposomal adjuvant enhances immunogenicity and protective efficacy in a tuberculosis subunit vaccine / Hao L., Wu Y., Zhang Y. et al. // *Frontiers in immunology*. – 2020. – V. 11. – 575504. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.575504>
199. Therapeutic efficacy against *Mycobacterium tuberculosis* using ID93 and liposomal adjuvant formulations / Baldwin S. L., Reese V. A., Larsen S. E. et al. // *Frontiers in microbiology*. – 2022. – V. 13. – 935444. – URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.935444>
200. Safety and immunogenicity of the adjunct therapeutic vaccine ID93 + GLA-SE in adults who have completed treatment for tuberculosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2a trial. Day T. A., Penn-Nicholson A., Luabeya A. K. K. et al. // *The Lancet. Respiratory medicine*. – 2021. – V. 9, No. 4. – P. 373–386. – URL: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30319-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30319-2)
201. Kushwah R. Role of dendritic cells in the induction of regulatory T cells / Kushwah R., Hu J. // *Cell & bioscience*. – 2011. – V. 1, No. 1. – 20. – URL: <https://doi.org/10.1186/2045-3701-1-20>
202. Ness S. Regulatory dendritic cells, T cell tolerance, and dendritic cell therapy for immunologic disease / Ness S., Lin S., Gordon J. R. // *Frontiers in immunology*. – 2021. – V. 12. – 633436. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.633436>
203. De Serrano L. O. Liposomal vaccine formulations as prophylactic agents: design considerations for modern vaccines / De Serrano L. O., Burkhart D. J. // *Journal of nanobiotechnology*. – 2017. V. 15, No. 1. – P. 83. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0319-9>
204. Rao M. Liposome formulations as adjuvants for vaccine / Rao M., Peachman K.K., Alving C.R. // *Current topics in microbiology and immunology*. – 2021. – V. 433. – P. 1–28. – [https://doi.org/10.1007/82\\_2020\\_227](https://doi.org/10.1007/82_2020_227)
205. Nanoparticles for Rational Vaccine Design // *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Vol. 433. – Springer, 2021. – 137 p.

206. The adjuvant mechanism of cationic dimethyldioctadecylammonium liposomes / Korsholm K. S., Agger E. M., Foged C. et al. // *Immunology*. – 2007. – V. 121, No.2. – P. 216–226. – URL: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02560.x>
207. Tretyakova D. S. Liposomes as adjuvants and vaccine delivery systems / Tretyakova D. S., Vodovozova E. L. // *Biochemistry. Series A, Membrane and cell biology*. – 2022. – V. 16, No. 1. – P. 1–20. – URL: <https://doi.org/10.1134/S1990747822020076>
208. Dass C. R. Liposomes containing cationic dimethyl dioctadecyl ammonium bromide: formulation, quality control, and lipofection efficiency / Tretyakova D. S., Vodovozova E. L. // *Drug delivery*. – 2002. – V. 9, No. 1. – P. 11–18. – URL: <https://doi.org/10.1080/107175402753413136>
209. Cationic liposomes: a flexible vaccine delivery system for physicochemically diverse antigenic peptides / Heuts J., Varypataki E. M., van der Maaden K. et al. // *Pharmaceutical research*. – 2018. – V. 35. No. 11. – 207. – URL: <https://doi.org/10.1007/s11095-018-2490-6>
210. The adjuvant mechanism of cationic dimethyldioctadecylammonium liposomes / Korsholm K. S., Agger E. M., Foged C. et al. // *Immunology*. – 2007. – V. 121, No. 2. – P. 216–226. – URL: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02560.x>
211. Cationic lipid potentiated the adjuvanticity of polysaccharide derivative-modified liposome vaccines / Yuba E., Kado Y., Kasho N., Harada, A. // *Journal of controlled release*. – 2022. – V. S0168-3659, No. 22. – 00686-1.– URL: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.10.016>
212. Lipid vesicle size determines the Th1 or Th2 response to entrapped antigen / Brewer J. M., Tetley L., Richmond J. et al. // *Journal of immunology*. – 1998. – V. 161, No. 8. – P. 4000–4007.
213. De Serrano L. O. Liposomal vaccine formulations as prophylactic agents: design considerations for modern vaccines / De Serrano L. O., Burkhart D. J. // *Journal of nanobiotechnology*. – 2017. – V. 15, No. 1. – 83. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0319-9>
214. Development of a rapid in vitro pre-screen for distinguishing effective liposome-adjuvant delivery systems / Feather L. A. J., Nadella V., Kastner E. et al. // *Scientific reports*/ – 2022. – V. 12, No. 1. – 12448. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14449-7>
215. Emerging COVID-19 impacts, responses, and lessons for building resilience in the seafood system / Love D. C., Allison E. H., Asche F., et al. // *Global Food Security*. – 2021. – V. 28. – 100494. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2021.100494>



216. The new era of vaccines: the "nanovaccinology" / Facciola A., Visalli G., Laganà P. et al. // European review for medical and pharmacological sciences. – 2019. – V. 23, No. 16. – P. 7163–7182. – URL: [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_201908\\_18763](https://doi.org/10.26355/eurrev_201908_18763)

217. Immunoglobulin deposition on biomolecule corona determines complement opsonization efficiency of preclinical and clinical nanoparticles / Vu V. P., Gifford G. B., Chen F. et al. // Nature nanotechnology. – 2019. – V. 14, No. 3. – P. 260–268. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41565-018-0344-3>

218. A decade of the protein corona / Ke P. C., Lin S., Parak W. J. et al. // ACS nano. – 2017. – V. 11, No. 12. – P. 11773–11776. – URL: <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b08008>

219. Complement nomenclature-deconvoluted / Bohlsón S. S., Garred P., Kemper C., Tenner A. J. // Frontiers in immunology. – 2019. – V. 10. – 1308. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01308>

220. Ингибирование комплементзависимого гемолиза липосомами, содержащими цероброзидсульфат / Каплун А. П., Бурделев О. О., Краснопольский Ю. М., Швец В.И. // Биоорганическая химия. – 2000. – Т. 26, № 1. – С. 68–77.

221. Краснопольский Ю. М. Липидная технологическая платформа для создания новых лекарственных форм и транспорта фармацевтических субстанций / Краснопольский Ю. М., Степанов А. Е., Швец В. И. // Биофармацевтический журнал. – 2011. – Т. 3, № 2. – С. 10–18.

222. Краснопольский Ю. М. Фармацевтическая биотехнология: Технология производства иммунобиологических препаратов : учебное пособие. / Ю. М. Краснопольский, М. И. Борщевская. – Харьков : НТУ «ХПИ», 2009. – 351 с.

223. Мартинов А. В. Конструювання рекомбінантних ліпосомальних вакцин / Мартинов А. В., Романова Е. А., Фарбер Б. С. – Харків : «Планета-Прінт», 2014. 117 с.

224. Дудниченко А. С. Липосомальные лекарственные препараты в эксперименте и клинике / Дудниченко А. С., Краснопольский Ю. М., Швец В. И. – Харьков : РА Каравелла, 2001. – 143 с.

225. Бригинский С. А. Применение липосом для коррекции респираторной гипоксии экспериментальной пневмонии / Бригинский С. А., Зубаренко А. В., Лишко В. К. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1988. – № 10. – С. 421–423.

226. Стефанов А. В. Аэрогематический барьер легких при острой гипоксии и лечение под влиянием липосом / Стефанов А. В., Середенко М. М., Бригинский С. А. // Архив анатомии и эмбриологии. – 1988. – № 2. – С. 63–67.

227. Липин в комплексном лечении больных с хроническим обструктивным бронхитом / Новакова Р. И., Черный В. И., Стефанов А. В., Ахлашова Ю. М. // Терапевтический журнал. – 1993. – № 3. – С. 40–42.

228. Юхимець В. О. Нові можливості використання препарату Ліпін в пульмонології / Юхимець В. О. // Український пульмонологічний журнал. – 1994. – № 3. – С. 40–43.

229. Стефанов О. В. Фармакокінетика Ліпіну при інтратрахеальному введенні / Стефанов О.В., Юхимець В.О., Бригинский С.О. // Ліки. – 1995. – № 5. – С. 29–34.

230. Хромов О. С. Корекція за допомогою лецитинових ліпосом (Ліпіну) порушень центральної гемодинаміки у шурів під час геморагічного шоку / Хромов О. С., Стефанов О. В. // Ліки. – 1995. – № 5. – С. 54–60.

231. Юхимець В. О. Перспективи застосування препарату Ліпін в пульмонології / Юхимець В. О. // Ліки. – 1995. – № 4. – С. 19–28.

232. Тимченко О. Г. Вплив інгаляцій Ліпіну на співвідношення між вентиляцією і кровотоком у легнях при бронхіальній астмі у дітей / Тимченко О. Г., Середенко М. М. // Ліки. – 1995. – № 6. – С. 61–65.

233. Використання лецитинових ліпосом для попередження порушень серцевої діяльності при розвитку гнійної інфекції / Хромов О. С., Стефанов О. В., Жукова А. В., Долман Л. Б. // Ліки. – 1995. – № 5. – С. 35–38.

234. Применение препарата Липин для коррекции газообмена в легких у новорожденных детей, перенесших продленную искусственную вентиляцию легких / Кещечан Е. С., Краснопольский Ю. М., Титова Е. П., Нисан Л. Г. // 2й Российский Национальный конгресс «Человек и лекарство». – М., 1995. – С. 162.

235. Мухин И. В. Мембранопротективные свойства липосомального препарата при коморбидной ренопульмональной патологии / Мухин И. В., Родин И. Н. // Питання експериментальної та клінічної медицини. – 2009. – Т. 2, Вип. 13. – С. 63–67.

236. Лимарев В. А. Клинический эффект использования фосфатидилхолиновых липосом («Липин») в лечении ХОЗЛ с анемическим синдромом у лиц перенесших туберкулезное лечение / Лимарев В. А. // Крымский терапевтический журнал. – 2011. – № 1. – С. 79–82.

237. Майзев К. А. Двойное слепое исследование эффективности фосфатидилхолиновых липосом в лечении бронхо-обструктивного синдрома / Майзев К. А., Сиротин Е. А., Лимаренко С. И. // Пульмонология. – 1993. – № 3. – С. 51–55.

238. Черный В. И. Состояние антиоксидантной и оксидантной системы у больных раком толстой кишки при предоперационной подготовке с использованием Липина / Черный В. И., Калениченко О. И., Полунин Г. Е. // Вісник морської медицини. – 2000. – № 2(10). – С. 23–25.

239. Заєць П. М. Морфофункціональні зміни в легенях при дії екзот- та ендогенних факторів : автореф. дис. ... д. мед. н. – Київ, 2006. – 32с.

240. Бескаравайний Б. А. Препараты природного фосфатидилхолина: перспективы и применение в педиатрии / Бескаравайний Б. А., Когутницкая М. И. // Журнал здоровье ребенка. – 2007. – Т. 6, № 9. – С. 26–30.

241. Игнатенко Г. А. Влияние липосомальной формы фосфатидилхолина на состояние диффузионной способности легких у больных ревматическим пороком сердца / Игнатенко Г. А. // Український журнал нефрології та діалізу. – 2010. – № 4. – С. 24–28.

242. Добреля Н. В. Особливості антигіпертензивної дії фосфатидилхолінових ліпосом при артеріальній гіпертензії різного генезу / Добреля Н. В., Хромов О. С., Соловйов А. І. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 4(29). – С. 16–21.

243. Розова Е. В. Положительное влияние фосфолипидов в липосомальной форме на функцию дыхания и кровообращения через нормализацию ультраструктуры биологических барьеров в тканях легких и сердца / Розова Е. В. // Международный научно-исследовательский журнал. – 2013. – № 10. – Р. 71–75.

244. Перцева Г. О. Можливості корекції сурфактантної системи легень у хворих на інфекції нижніх дихательних шляхів. Методи контролю ефективності / Перцева Г. О., Кіреєва Т. В., Штепа О. О. // Вісник наукових досліджень. – 2015. – № 3. – С. 34–38.

245. Лечебное взаимодействие липосом при геморрагическом шоке (экспериментальное исследование) / Лескова Г. Ф., Краснопольский Ю. М., Крижановский Г. М., Швец В. И. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2012. – №4. – С. 88–93.

246. Зогроб'ян Р. О. Застосування антиоксидантів для лікування хронічної дисфункції ниркового аллотрансплантата / Зогроб'ян Р. О. // Український журнал нефрології та діалізу. – 2014. – № 1(4). – С. 37–41.

247. Ефективність застосування ліпіну в комплексном лікуванні негоспітальних пневмоній, асоційованих із COVID19 / Новачеко Ю. О., Хухліна О. С., Коваленко С. В., Дудка І. В. // Буковинський медичний вісник. – 2021. – Т. 25, № 4. – С. 61–67.

248. Пат. 55454 України. Спосіб лікування запально-деструктивних процесів у пародонті / Бабай О. Н. Краснопольський Ю. М., Бабай А. Н. – № 99126560; заявл. 02/12/1999; опубл. 15/04/2003., Бюл. № 4.

249. Бабай О. Н. Эффективность применения «Липина» в комплексном лечении генерализованного пародонтита / Бабай О. Н., Зубкова А. Ф., Краснопольский Ю. М. // Стоматолог. – 2003. – № 5. – С. 34–35.

250. Пат. 69303 України. Спосіб оримання ліпосомального антибактеріального препарату хлорофіліпту / Теміров Ю. П., Швець В. І., Краснопольський Ю. М., Сеннікова І. Г. – № 20031212367; заявл. 25.12.2003; опубл. 15.02.2006., Бюл. № 2.

251. Бабай О. Н. Эффективность комплексного лечения хронического генерализованного пародонтита при сочетаном применении липосомального препарата и гирудотерапии / Бабай О. Н. Гладкая Е. Н. // Вісник проблем біології та медицини. – 2014. – Т. 1., Вип. 2. – С. 58–61.

252. Бабай О. Н. Стан тканини пародонту та оцінка клінічної ефективності есенціальних фосфоліпідів: результати тривалого моніторингу хворих на генералізований пародонти / Бабай О. Н. // Вісник проблем стоматології і медицини. – 2016. – Т. 1(28), Вип. 2. – С. 159–162.

253. Басистюк І. І. Вплив ліпіну та тималіну на перебіг гострої стресової виразки шлунка / Басистюк І. І., Гнатюк С. В. // Шпитальна хірургія. – 2003. – № 4. – С. 72–74.

254. Лігоненко О. В. Вплив естрогенів та ліпосом на перебіг загоєння гнійних ран у хворих похилого та старечого віку / Лігоненко О. В., Дігтяр І. І. // Клінічна хірургія. – 2009. – № 2. – С. 50–55.

255. Компендіум : Спеціалізоване медичне інтернет-видання для лікарів, провізорів, фармацевтів, студентів медичних і фармацевтичних вишів. – URL: <https://compendium.com.ua/>

256. Пневмонія у хворих на хронічну хворобу нирок VD стадії і патогенетичні аспекти комплексної терапії та наслідки / Шіфріс І. М., Король Л. В., Магас О. І. та ін. // Ukrainian journal of nephrology and dialysis. – 2018. – № 4(60). – С. 21–28.

257. Сухомлин Т. А. Біохімічні зміни в тканинах легень за умов експериментальної опікової хвороби та її корекція препаратом Ліпін : дис. ... к. мед. н. – Полтава, 2015. – 144 с.

258. Пархоменко А. Н. Возможности фармакологической защиты миокарда при синдроме ишемии-реперфузии в экспериментальной и клинической

практике / Пархоменко А. Н., Иркин О. И., Кожухов С. Н. // Ліки України. – 2002. – № 7–8. – С. 20–21.

259. Третьякова О. С. Кардиозащита ишемизированного сердца новорожденных / Третьякова О. С. // Ліки України. – 2003. – № 11. – С. 5–10.

260. Третьякова О. С. Нанотехнологии в практике кардиолога. Часть 2. Реальность и перспективы / Третьякова О. С. // Журнал Здоровье ребенка. – 2009. – № 4(19). – С. 137–140.

261. Третьякова О. С. Кардиопротекторные возможности липосом в терапии гипоксических повреждений миокарда новорожденных / Третьякова О. С., Заднипряный И. В. // Перинатология и педиатрия. – 2011. – Т. 46, № 2. – С. 122–126.

262. Липін у комплексному лікуванні вагітних жінок з пізнім гестозом / Акімова І. К., Говоруха І. Т., Стефанов О. В., Якубенко О. Д. // Ліки. – 1995. – № 5. – С. 39–43.

263. Пат. 17614 України. Спосіб лікування пізніх гестозів у вагітних / Стефанов О. В., Акімова І. К., Говоруха І. Т., Чайка В. К. – № 95020482; заявл. 02.02.1995; опубл. 06.05.1997., Бюл. № 5.

264. Гіпоксія плода та асфіксія новороджених / Знаменська Т. К., Похилько В. І., Подольський В. В. та ін. – Київ, 2010. – 463 с.

265. Артеменко Г. Я. Липин в лечении фетоплацентраной недостаточности у беременных с поздним гестозом / Артеменко Г. Я., Ткаченко Н. В., Шемякина Н. Н. // Збірник наукових праць молодих вчених і спеціалістів. – Донецьк, 1996. – С. 6–8.

266. Давидович О. В. Рациональна фармакотерапія захворювань органів травлення в педіатрії / Давидович О. В., Давидович Н. Я., Понитрук М. В. // Функціональна фармакотерапія. – 2009. – Т. 4, № 13. – С. 20–27.

267. Михайловська Н. С. Алгоритм діяльності сімейного лікаря при основних захворюваннях сечовидільної системи : навчально-методичний посібник / Михайловська Н. С., Лісова О. О., Міняйленко Г. Є. – Запоріжжя, 2018. – 148 с.

268. Ігнатенко Т. С. Ендотеліальна дисфункція у хворих на хронічні гломерунефрити з супутньою хворобою серця / Ігнатенко Т. С. // Збірник Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2010. – Т. 3. – С. 260–282.

269. Оцінка ефективності корекції Липіном оксидантно-антиоксидантного статусу хворих на хронічну хворобу нирок у D стадії / Король Л. В., Мигаль Л. Я., Дудар І. О., Шіфріс І. М. // Український журнал нефрології і діалізу. – 2017. – № 3(55). – С. 88–89.

270. Бесараб Я. О. Метаболічні зміни в тканинах нирок у різні стадії експериментальної опікової хвороби і їх корекція Ліпіном : дис. ... докт. філ-фії. – Полтава, 2021. – 195 с.

271. Ліпосомальні форми цитостатиків – новий напрямок в хіміотерапії раку / Дранов О. Л., Дудниченко О. С., Бутенко К. А., Краснопольський Ю. М. // Вісник фармації. – 1994. – № 3. – С. 88–92.

272. Липосомальные формы цитостатиков в онкологии / Краснопольский Ю. М., Дранов А. Л., Степанов А. Е., Швец В. И. // Вестник РАМН. – 1998. – № 5. – С. 35–40.

273. Шальков Ю. Л. Опыт и перспективы использования липосомальных форм противоопухолевых препаратов в клинической онкологии / Шальков Ю. Л., Дудниченко А. С., Краснопольский Ю. М. // Клиническая хирургия. – 1995. – № 5. – С. 21–23.

274. Дудніченко О. С. Ліпосомальні препарати та інші модифікатори при раку кишково-шлункового тракту IV стадії : автореф. дис. ... д. мед. н. – Київ, 1996. – 32 с.

275. Пономарева О. В. Липосомальная форма доксорубицина гидрохлорида «Липодокс» в лечении лимфогранулематоза и неходжкинских лимфом / Пономарева О. В., Киндзельский Л. П., Кулик Г. И. // Врачебное дело. – 2001. – № 1. – С. 112–117.

276. Липосомальная форма доксорубицина (Липодокс) в лечение больных раком молочной железы / Пономарева О. В., Кулик Г. И., Бондарук О. С. и др. // Онкология. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 211–214.

277. Токсичность и противовоспалительная активность липосомальной лекарственной формы доксорубицина / Кулик Г. И., Пономарева О. В., Король В. И., Чехун В. Ф. // Онкология. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 207–210.

278. Використання ліпосомальних форм хіміопрепаратів у хворих на резистентний до доксорубіцину рак молочної залози / Півнюк В. М., Тимовська Ю. О., Пономарева О. В. и др. // Онкология. – 2007. – Т. 9, № 2. – С. 120–124.

279. Терапия пациентов со злокачественными лимфомами с использованием липосомальной формы доксорубицина: результаты 15-летнего наблюдения / Пивнюк В. М., Пономарева О. В., Юрченко О. В. и др. // Приложение к журналу экспериментальная онкология. – 2013. – Т. 15, № 2. – С. 136–140.

280. Белецкий В. Е. Отдаленные результаты лечения солидных опухолей у детей с использованием свободного и липосомального доксорубицина / Белецкий В. Е., Дудниченко А. С. // Проблемы, безперервної медичної освіти та науки. – 2017. – № 1. – С. 44–48.

281. Модифицирующее влияние липосомального доксорубина на эффект лучевой терапии / Дудниченко А. С., Гончаров В. И., Белозор Н. В. и др. // Материалы 5-го съезда онкологов и радиологов СНГ. – Ташкент, 2008. – С. 473–474.

282. Григорьева А. С. Кординационные химические аспекты оптимизации фармакологического эффекта лекарственных средств классов НПВС и симпатомитических катехоламинов : дис. ... д. хим. н. – Харьков, 1992.

283. Влияние металлолипосом на структурно-функциональное состояние клеток *in vitro* и *in vivo* / Кундиев Ю. И., Григорьева А. С., Горбань Д. М. и др. // Доклады Академии наук Украины. – 1994. – № 4. – С. 154–159.

284. Дроговоз С. М. Ліпосомальний засіб Ліолів в альтернативному виборі гепатопротектору при експериментальній патології печінки / Дроговоз С. М., Деримедвідь Л. В., Стефанов О. В. // Ліки. – № 4. – С. 89–91.

285. Експериментальне обґрунтування клінічного застосування лікарського засобу «Ліолів» / Дроговоз С.М., Журавель О.В., Стефанов О.В. та ін. // Ліки. – 1995. – № 4. – С. 91–95.

286. Лютик О. С. Метаболические изменения в органах крыс при свинцово-кадмиевых токсикозах и их коррекция гепатопротекторами : дис. ... к. вет. н. – М., 2008. – 142 с.

287. Дроговоз С. М. Современные подходы к терапии заболеваний гепатобилиарной системы / Дроговоз С. М., Щекина Е. Г., Ушакова А. С. // Провизор. – 2008. – № 8. – С. 27–34.

288. Харченко В. В. Современные патогенетические подходы в лечении алкогольной болезни печени : автореф. дис. ... к. мед. н. – М., 2007. – 24 с.

289. Дроговоз С. М. Вивчення антиоксидантних властивостей ліоліву за умов модельного вольвовагініту / Дроговоз С. М., Решетняк В. В., Столетов Ю. В. // Ліки. – 2005. – № 1-2. – С. 67–69.

290. Бардер Е. Г. Динаміка гастрологічних показників у щурів під впливом цитотоксичного препарату оксаліплатан та цитопротектору «Ліолів» / Бардер Е. Г. // Український журнал медицини, біології та спорту. – 2018. – Т. 3, № 10. – С. 14–19.

291. Бардер Е. Г. Гепатотоксичність протипухлинної хіміотерапії та патогенетичний метод її усунення / Бардер Е. Г., Дудниченко О. С. // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Клінічна та профілактична медицина: досвід та нові напрямки розвитку». – Харків, 2019. – С. 14.

292. Пат. 35024 України. Спосіб лікування дорослих хворих на хронічні гепатити невірусної етіології / Фролов В. М., Харченко В. В., Андросов Є. Д. – № u200805198; заявл. 22.04.2008; опубл. 26.08.2008., Бюл. № 16.

293. Рикало Н. А. Патогенетичне лікування хронічних вірусних гепатитів у дітей / Рикало Н. А. // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 5(49). – С. 60–63.

294. Клінічне застосування гепатопротекторів / Грицко Р. Ю., Задорожний А. И., Іванін О. Л. Піняжіго О. В. // Науково-практичний журнал гематології. – 2012. – № 4(18). – С. 4–15.

295. Therapeutic potential of quercetin: new insights and perspectives for human health / Salehi B., Machin L., Monzote L. et al. // ACS omega. – 2020. – V. 5, No. 20. – P. 11849–11872. – URL: <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01818>

296. Amelioration of streptozotocin-induced diabetic nephropathy by melatonin, quercetin, and resveratrol in rats / Elbe H., Vardi N., Esrefoglu M. et al. // Human & experimental toxicology. – 2015. – V. 34, No. 1. – P. 100–113. – URL: <https://doi.org/10.1177/0960327114531995>

297. Hesperetin rescues retinal oxidative stress, neuroinflammation and apoptosis in diabetic rats / Kumar B., Gupta S. K., Srinivasan B. P. et al. // Microvascular research. – 2013. – V. 87. – P. 65–74. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2013.01.002>

298. Quercetin and chrysin inhibit nickel-induced invasion and migration by downregulation of TLR4/NF- $\kappa$ B signaling in A549 cells / Wu T. C., Chan S. T., Chang C. N. et al. // Chemico-biological interactions. – 2018. – V. 292. – P. 101–109. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.07.010>

299. Inhibition of angiotensin-converting enzyme by quercetin alters the vascular response to bradykinin and angiotensin I / Häckl L. P., Cuttle G., Dovichi S. S. et al. // Pharmacology. – 2002. – V. 65, No. 4. – P. 182–186. – URL: <https://doi.org/10.1159/000064341>

300. Does quercetin improve cardiovascular risk factors and inflammatory biomarkers in women with type 2 diabetes: a double-blind randomized controlled clinical trial / Zahedi M., Ghiasvand R., Feizi A. et al. // International journal of preventive medicine. – 2013. – V. 4, No. 7. – P. 777–785.

301. Zhang Y. M. Protective mechanisms of quercetin against myocardial ischemia reperfusion injury / Zhang Y. M., Zhang Z. Y., Wang, R. X. // Frontiers in physiology. – 2020. – V. 11. – 956. – URL: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00956>

302. Bioactive effects of quercetin in the central nervous system: Focusing on the mechanisms of actions / Suganthi, N., Devi, K. P., Nabavi, S. F. et al.



//Biomedicine & pharmacotherapy. – 2016. – V. 84. – P. 892–908. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.10.011>

303. Impact of the flavonoid quercetin on  $\beta$ -amyloid aggregation revealed by intrinsic fluorescence / Alghamdi A., Birch D. J. S., Vyshemirsky V., Rolinski O. J. // The journal of physical chemistry. B. – 2022. – V. 126, No. 38. – P. 7229–7237. – URL: <https://doi.org/10.1021/acs.jpccb.2c02763>

304. Bayazid A. B. Quercetin is an active agent in berries against neurodegenerative diseases progression through modulation of Nrf2/HO1 / Bayazid A. B., Lim B. O. // Nutrients. – 2022. – V. 14, No. 23. – P. 5132. – URL: <https://doi.org/10.3390/nu14235132>

305. Neuroprotective effect of quercetin through targeting key genes involved in aluminum chloride induced Alzheimer's disease in rats / Elreedy H.A., Elfiky A.M., Mahmoud A.A. et al. // Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences. – 2023. – V. 10, No. 1. – P. 174-184. – URL: <https://doi.org/10.1080/2314808X.2022.2164136>

306. New tyrosinase inhibitory decapeptide: Molecular insights into the role of tyrosine residues / Ochiai A., Tanaka S., Imai Y. et al. // Journal of bioscience and bioengineering. – 2016. – V. 121, No. 6. – P. 607–613. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.10.010>

307. Ковалев В. Б. Механізми лікувального дії біофлавоноїда кверцетина (обзор літератури) / Ковалев В. Б., Ковган В. В., Колчина Е. Ю. // Український медичний альманах. – 1999. – Т. 2, № 4. – С. 176–184.

308. Anderson J. Metaanalysis of five reported studies on the relation of early coronary patency grades with mortality and outcomes after acute myocardial infarction / Anderson J., Karagounis I., Califf R. // American journal of cardiology. – 1996. – V. 78, No. 1. – P. 1–8. – URL: [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(96\)00217-2](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(96)00217-2)

309. Bonini M. G. Carbon dioxide stimulates the production of thiol, sulfinyl, and disulfide radical anion from thiol oxidation by peroxy nitrite / Bonini M. G., Augusto O. // The Journal of biological chemistry. – 2001. – V. 276, No. 13. – P. 9749–9754. – URL: <https://doi.org/10.1074/jbc.M008456200>

310. Використання нових лікарських форм кверцетина при ішемічних та радіаційних ушкодженнях : методичні рекомендації / Максютіна Н. П., Мойбенко О. О., Пархоменко О. М. та ін. – Київ, 2006. – 13 с.

311. Мойбенко О. О. Нові технології кардіопротекції / Мойбенко О. О. // Фізіологічний журнал. – 2002. – Т. 48, № 4. – С. 85–87.

312. Ліпосомальні форми лікарських засобів: від експерименту до клініки / Чекман І. С., Савченкова Л. В., Горчакова Н. О. та ін. // Журнал АМН України. – 2006. – Т.12, № 5. – С. 653–667.

313. Третьякова О. С. Липосомы в практике кардиолога. Настоящее и будущее / Третьякова О. С., Заднипрный И. В. // Труды Крымского государственного университета «Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практическое здравоохранение». – 2008. – Т. 144, № 5. – С. 124–125.

314. Quercetin attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of JNK and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways / Li, C., Wang, T., Zhang, C. et al. // Gene. – 2016. – V. 577, No. 2. – P. 275–280. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.12.012>

315. Cardioprotective effects of lipoic acid, quercetin and resveratrol in oxidative stress related to thyroid hormone alterations in long-term obesity / Cheserek M.J., Wu G., Li L. et al. // Journal of Nutritional Biochemistry. – 2016. – V. 33. – P. 36-44. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.02.008>

316. Brüll V. Effects of a quercetin-rich onion skin extract on 24 h ambulatory blood pressure and endothelial function in overweight-to-obese patients with (pre-)hypertension: a randomised double-blinded placebo-controlled cross-over trial / Brüll V., Burak C., Stoffel-Wagner B. et al. // The British journal of nutrition. – 2015. – V. 114, No. 8. – P. 1263–1277. <https://doi.org/10.1017/S0007114515002950>

317. Bhat I. U. H. Quercetin: A Bioactive Compound Imparting Cardiovascular and Neuroprotective Benefits: Scope for Exploring Fresh Produce, Their Wastes, and By-Products / Bhat I. U. H., Bhat R. // Biology. – 2021. – V. 10, No. 7. – P. 586. – URL: <https://doi.org/10.3390/biology10070586>

318. Adaramoye O. A. Kolaviron, a biflavonoid fraction from Garcinia kola, protects against isoproterenol-induced injury by mitigating cardiac dysfunction and oxidative stress in rats / Adaramoye O. A., Lawal S. O. // Journal of basic and clinical physiology and pharmacology. – 2015. – V. 26, No. 1. – P. 65–72. – URL: <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2013-0139>

319. Double Y. Characterization of new cardioprotective principle isolated from methanolic extract of Allium humile leaves from Himalayan region / Double Y., Parcha V., Dhasmana D. C. // Bangladesh Journal of Pharmacology. – 2016. – V. 11, No. 2. – P. 383–388. – URL: <https://doi.org/10.3329/bjp.v11i2.25991>

320. Kavya S. Cardioprotective effect of bioflavonoids against isoproterenol induced cardiotoxicity in rats / Kavya S., Kumar M. S. // International Journal of

Pharma Bio Science. – 2016. – V. 7, No. 4. – P. 158–162. – URL: <https://doi.org/10.22376/ijpbs.2016.7.4.p158-162>

321. Protective effect of quercetin against sodium fluoride induced oxidative stress in rat's heart / Nabavi S. F., Nabavi S. M., Mirzaei M., Moghaddam A. H. // Food & function. – 2012. – V. 3, No. 4. – P. 437–441. – URL: <https://doi.org/10.1039/c2fo10264a>

322. Chen J. Y. Proteomic analysis of quercetin-induced cardioprotective effects / Chen J. Y., Chan H. L., Chou H. C. // Genomic Medicine, Biomarkers, and Health Sciences. – 2012. – V. 4, No. 1–2. – P. 51–53. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.gmbhs.2012.04.006>

323. Особливості дії ліпосомальної форми кверцетину на моделі доксорубіцинової кардіоміопатії / Белік Г. В., Григор'єва Г. С., Горбань Е. М., Деримедвідь Л. В. // Ліки. – 2004. – № 5–6. – С. 60–64.

324. Кіриченко С. В. Кверцетин-вмісні ліпосоми відновлюють функціональну активність каналів у гладеньких міоцитах аорти опромінених щурів / Кіриченко С. В., Тишкін С. М., Соловйов А. І. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – № 1–3. – С. 48–52.

325. Фармакологічна корекція перпаратом «Ліпофлавіон» судиної дисфункції, що викликана впливом іонізуючого опромінення / Кіслова О. В., Іванова І. В., Соловйов А. І. та ін. // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 40–41.

326. Порівняння кардіопротекторної активності ліпосомальної та водорозчинної форм кверцетину / Белік Г. В., Солетов Ю. В., Дрововоз С. М., Григор'єва Г. С. // Фармаком. – 2005. – № 4. – С. 107–110.

327. Белік Г. В. Особливості кардіопротекторних властивостей ліпосомальної форми кверцетину / Белік Г. В., Деримедвідь Л. В., Горбань Е. М. // Медична хімія. – 2005. – Т. 7, № 1. – С. 11–15.

328. Афолина Т. В. Влияние Липофлавона в комбинации с ацелизином на комплексные свойства транспортных белков при хронической сердечной недостаточности / Афолина Т. В., Савченкова О. Н. // Лекарства. – 2006. – № 5–6. – С. 65–69.

329. Дубовик А. В. Изменение клинического течения дилатационной кардиомиопатии сывороткой концентрации натрийуритического пептида при применении липосомальных препаратов в схеме лечения / Дубовик А. В. // Кровообіг та гемостаз. – 2012. – № 3. – С. 63–67.

330. Заремба Е. Х. Вплив препарату Ліпофлавіону на показники варіабільності серцевого ритму у хворих на нестабільну стенокардію / Заремба Е. Х., Ка-

пустинський О. О., Заремба О. В. // Львівський медичний часопис. – 2007. – Т. 13, № 1/2. – С. 36–38.

331. Заремба Е. Х. Динамика показників оксипроліну в хворих із нестабільною стенокардією при застосуванні Ліпофлавона / Заремба Е. Х., Капустинський О. О. // Практична медицина. – 2010. – Т. 16, № 3. – С. 129–135.

332. Игнатенко Г. А. Влияние липосомальной формы фосфатидилхолина на состояние диффузионной способности легких у больных с ревматическими пороками сердца / Игнатенко Г. А. // Украинский журнал нефрологии та діалізу. – 2010. – № 4. – С. 24–28.

333. Перекисне окислення ліпідів у патогенезі атеросклерозу та можливості його корекції «Ліпофлавоном» / Белік Г. В., Куценко Т. О., Столетов Ю. В., Прокопішак Н. І. // Медична хімія. – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 57–61.

334. Третьякова О. С. Кардиопротекторные возможности липосом в терапии гипоксически поврежденного миокарда новорожденных / Третьякова О. С., Заднипрянский И. В. // Перинатология и педиатрия. – 2011. – Т. 46, № 2. – С. 122–126.

335. Кожанова Т. А. Возможности коррекции изменения цитокинового гомеостаза и диастолической дисфункции левого желудочка у больных артериальной гипертензией / Кожанова Т. А. // Таврический медико-биологический вестник. – 2010. – Т. 13, № 3. – С. 117–122.

336. Ель Афрах Фхмад, Зупанець І. О. Вплив комбінації кверцетину з похідним глюкозаміну на перебіг доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів / Ель Афрах Фхмад, Зупанець І. О. // Клінічна фармація. – 2012. – № 3. – С. 24–27.

337. Антипова С. В. Опыт применения Липофлавона для предупреждения развития кардиологических осложнений у больных операбельным раком молочной железы, получавших лечение антрациклинами / Антипова С. В., Шепилов А. В., Рябцева О. Д. // Проблеми сучасної медичної науки та освіти. – 2009. – № 2. – С. 44–46.

338. Щетинина Т. А. Оценка эффективности применения Липофлавона для предупреждения развития кардиологических осложнений у больных операбельным раком молочной железы, получающих лечение антрациклинами / Щетинина Т. А., Шепиль А. В. // Украинский медицинский альманах. – 2008. – Т. 11, № 5. – С. 207–208.

339. Узленкова Н. Е. Експериментальна оцінка ефективності ліпосомальних препаратів для профілактики та пом'якшення радіаційних ускладнень / Узленкова Н. Е., Григор'єва Г. С., Конахович Н. Ф. // Український радіологічний

журнал. Дод. 1. Науково-практична конференція «Актуальні питання радіаційної онкології в Україні». – Полтава, 2019. – С. 57–58.

340. Пасечникова Н. В. Предварительная оценка противовоспалительного действия препарата «Липофлакон» у пациентов после экстракапсулярной экстракции катаракты / Пасечникова Н. В., Горшкова Р. А., Гайдамака Т. Б. // Офтальмологический журнал. – 2005. – № 3. – С. 23–25.

341. Пасечникова Н. В. Клинико-биохимическое обоснование применения препарата «Липофлакон» у больных возрастной катарактой после операции экстракции катаракты и имплантации продуктов перекисного окисления / Пасечникова Н. В., Горшкова Р. А. // Украинский медицинский альманах. – 2006. – Т. 9, № 1. – С. 219–221.

342. Рафалюк С. Я. Влияние биофлавоноида кверцетина на течение воспалительного процесса у больных герпетическим кератитом при синдроме сухого глаза / Рафалюк С. Я. // Офтальмологический журнал. – 2016. – № 3(47). – С. 19–21.

343. Фармакотерапевтична ефективність стандартизованої ліпосомальної форми кверцетину при модулюванні кератиту та кератокон'юктивіту / Фесюнова Г. С., Ситнікова О. П., Осташевський В. Л. та ін. // Інтегративна антропологія. – 2017. – № 1(29). – С. 63–67.

344. Савко В. В. Влияние Липофлакона и ацетилцистеина на процессы перекисного окисления липидов у больных увеитом с гипертензией / Савко В. В., Хелири В. // Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии. – 2011. – № 4(105). – С. 413–419.

345. Уманская Ю. В. Результаты применения Липофлакона у больных возрастной макулопатией / Уманская Ю. В., Путиенко А. А. // Офтальмологический журнал. – 2011. – № 1. – С. 36–40.

346. Петруня А. М. Оценка эффектов применения препарата Липофлакона в комплексной терапии больных непролиферативной диабетической ретинопатии / Петруня А. М., Спектор А. В. // Украинский медицинский альманах. – 2006. – № 2. – С. 36–40.

347. Петруня А. М. Применение препарата Липофлакон в офтальмологической практике / Петруня А. М. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. №5. – С. 241–242.

348. Иванова Н. В. Применение модифицированного способа лечения диабетической ретинопатии / Иванова Н. В., Ярошева Н. А. // Таврический медико-биологический вестник. – 2010. – Т. 13, № 1. – С. 72–78.

349. Иванова Н. В. Патогенетическое обоснование применения Липофлавона у больных с различными формами диабетической ретинопатии / Иванова Н. В., Ярошева Н. А. // Клиническая фармакология. – 2008. – Т. 12, № 2. – С. 11–16.

350. Експериментальна верифікація безпечності періокулярних способів застосування ліпосомальної форми кверцетину в офтальмології / Фесюнова О. Г., Віт В. В., Молчанюк Н. І., Григор'єва Г. С. // Фармацевтична та лікарська токсикологія. – 2016. – № 4(48). – С. 94–100.

351. Кауд Д. Особенности эндотоксин- и Липофлавоно-зависимой лимфоидной регуляции синтеза цитокинов IL-1b, IL-4, TNF-a эндотелиальными клетками сосудов у больных псориазом протекающими в сочетании с метаболическим синдромом / Кауд Д. // Дерматология и венерология. – 2008. – № 1. – С. 34–39.

352. Притуло О. А. Клиническая эффективность использования Липофлавона для коррекции цитокинового дисбаланса у больных псориазом / Притуло О. А., Кауд Д. // Дерматология, косметология, сексопатология. – 2008. – № 1–2. – С. 57–59.

353. Беляев Г. М. Современное представление о патогенезе псориазической артропатии и лечения этих больных / Беляев Г. М. // Дерматология и венерология. – 2010. – Т. 47, № 1. – С. 7–30.

354. Кукурудз Н. І. Стан процесів вільнорадикального окислення ліпідів у хворих на генералізований пародонтит та їх корекція амізоном у поєднанні з ліпофлавоном / Кукурудз Н. І., Горелюк В. І. // Медична хімія. – 2006. – Т. 8, № 4. – С. 74–78.

355. Рябоконт Е. М. Худакова М. Б., Черепінська Ю. А. Вміст IL-1b у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит хронічного перебігу I-II ступеня при місцевому медикаментозному лікуванні ліпосомальним кверцетин-лецитиновим комплексом / Рябоконт Е. М. Худакова М. Б., Черепінська Ю. А. // Стоматолог. – 2010. – № 2. – С. 55–57.

356. Обухова Н. В. Влияние Липофлавона на остеопротегерин-опосредованную лимфоидную (лейкоцитарную) регуляцию синтеза клетками эпителия бронхов у больных хроническим обструктивным заболеванием легких, перенесших туберкулез легких / Обухова Н. В. // Буковинський медичний вісник. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 71–75.

357. Шеремета Л. М. Роль расстройств углеводного обмена в прогрессировании моторной дисфункции желудка на фоне сахарного диабета 1 и 2 типов в динамике лечения Липофлавоном и Ребамипидом / Шеремета Л. М., Нечепай Ж.

А. // Клиническая и экспериментальная патология. – 2009. – Т. 8, № 3. – С. 67–69.

358. Харченко В. В. Динаміка простагландинів (E2 та F2a) у крові хворих на неалкогольний стеатогепатит, сполучений з гіпертонічною хворобою, при застосуванні Ліпофлавона та цитраргініну / Харченко В. В. // Український медичний альманах. – 2009. – Т.12, № 5. – С. 196–199.

359. Харченко В. В. Вплив комбінації Ліпофлавоноу та цитрааргініну на стан мікроциркуляторного русла хворих на неалкогольний стеатогепатит в поєднанні з гіпертонічною хворобою / Харченко В. В. // Український морфологічний альманах. – 2009. – Т. 9, № 4. – С. 139–142.

360. Горошко А. М. Лечебные свойства Липофлавона и корвитина при экспериментальной острой почечной недостаточности : дис. ... к. мед. н. – Киев, 2009. – 22 с.

361. Заморский И. И. Нефропротекторные эффекты препаратов кверцетин / Заморский И. И., Горошко А. М., Штриголь С. Ю. // Материалы IV съезда фармакологов России. – Казань, 2012. – С. 69–70.

362. Горошко О. Визначення особливостей впливу Ліпофлавоноу–нео на функції нирок при гострому пошкодженні нирок / Горошко О., Матущак М., Ежнед М. // International Science Group ISG Konform Impact of Modernity on Science and Practice. – Edmonton, 2020. – P. 300–301.

363. Храпай Е. В. Липофлавонон підвищує регенерацію нервних волокон в умовах експериментальної моделі травми периферического нерва / Храпай Е. В. // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2010. – Т. 10, № 1. – С. 116–119.

364. Чайковский Ю. Б., Храпай Е. В. Восстановительная фармакотерапия травмы периферического нерва в эксперименте / Чайковский Ю. Б., Храпай Е. В. // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 6–11.

365. Жилев С. О. Церебропротекторна дія Корвітину і Ліпофлавоноу при черепно-мозковій травмі в експерименті / Жилев С. О., Штриголь С. Ю. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – №5. – С. 114–115.

366. RVG29-functionalized lipid nanoparticles for quercetin brain delivery and Alzheimer's disease / Pinheiro R. G. R., Granja A., Loureiro J. A. et al. // Pharmaceutical research. – 2020. – V. 37, No. 7. – 139. – URL: <https://doi.org/10.1007/s11095-020-02865-1>

367. Potential pharmaceutical applications of quercetin in cardiovascular diseases / Papakyriakopoulou P., Velidakis N., Khatlab E. et al. // Pharmaceuticals. – 2022. – 15, No. 8. – 1019. – URL: <https://doi.org/10.3390/ph15081019>

368. Current advances in the use of nanophytomedicine therapies for human cardiovascular diseases / Hesari M., Mohammadi P., Khademi F. et al. // International journal of nanomedicine. – 2021. – V. 16. – P. 3293–3315. – URL: <https://doi.org/10.2147/IJN.S295508>

369. An evaluation of liposome-based diagnostics of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis / Tandel N., Joseph A. Z., Joshi A. et al. // Expert review of molecular diagnostics. – 2020. – V. 20, No. 5. – P. 533–541. – URL: <https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1740596>

370. Liposome Development and Liposome Manufacturing Services Market 2022-2035: Distribution by Type of Product Formulation, Scale of operation, End User Industry, Key Geographical Regions, Industry Trends and Global Forecasts, 2022-2035. – Roots Analysis Private Ltd., 2023. – 226 p.

371. Liposomal Drug Delivery Devices Market Report 2022-2032. – VisionGain, 2022. – 535 p.

372. Exosome: a review of its classification, isolation techniques, storage, diagnostic and targeted therapy applications / Zhang Y., Bi J., Huang J. et al. // International journal of nanomedicine. – 2020. – V. 15. – P. 6917–6934. – URL: <https://doi.org/10.2147/IJN.S264498>

373. Exosomes: key players in cancer and potential therapeutic strategy / Dai J., Su Y., Zhong S. et al. // Signal transduction and targeted therapy. – 2020. – V. 5, No. 1. – 145. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00261-0>

374. Перспективи застосування екзосом у клінічній практиці / Музиченко П. Ф., Черняк В. А., Шевченко О. О., Левон М. М. // Журнал «Травма». – 2019. – Т. 20, № 5. – С. 84–87.

375. Kalluri R. The biology, function, and biomedical applications of exosomes / Kalluri R., LeBleu V. S. // Science. – 2020. – V. 367, No. P. 64–78. – URL: <https://doi.org/10.1126/science.aau6977>

376. Mesenchymal stem cell derived-exosomes: a modern approach in translational medicine / Nikfarjam S., Rezaie J., Zolbanin N. M., Jafari R. // Journal of translational medicine. – 2020. – V. 18, No. 1. – 449. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02622-3>

377. Aqil F. Exosomes in cancer therapy / Aqil F., Gupta R. C. // Cancer. – 2022. – V. 14., No. 3. – 500. – URL: <https://doi.org/10.3390/cancers14030500>

378. Hikita T. Quantification and imaging of exosomes via luciferase-fused exosome marker proteins: ExoLuc System / Hikita T., Oneyama C. // Methods in molecular biology. – 2022. – V. 2524. – P. 281–290. – URL: [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2453-1\\_21](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2453-1_21)



379. Краснополський Ю. М. Фармацевтична біотехнологія: сьогодення та майбутнє : навчальний посібник для студентів біотехнологічних спеціальностей / Краснополський Ю. М., Пилипенко Д. М. – Харків : ТОВ «Друкарня Мадрид», 2022. – 151 с. – URL: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/59163>

380. Exosomal lipid composition and the role of ether lipids and phosphoinositides in exosome biology / Skotland T., Hessvik N. P., Sandvig K., Llorente A. // Journal of lipid research. – 2019. – V. 60, No. 1. – P. 9–18. – URL: <https://doi.org/10.1194/jlr.R084343>

381. Exosomes in angiogenesis and anti-angiogenic therapy in cancers / Olejarz W, Kubiak-Tomaszewska G, Chrzanowska A, Lorenc T. // International journal of molecular sciences. – 2020. – V. 21, No. 16. – 5840. – URL: <https://doi.org/10.3390/ijms21165840>

382. Milk-derived exosomes for oral delivery of paclitaxel / Agrawal A. K., Aqil F., Jeyabalan J. et al. // Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine. – 2017. – V. 13, No. 5. – P. 1627–1636. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.03.001>

383. Lombardo D. Methods of Liposomes Preparation: Formation and Control Factors of Versatile Nanocarriers for Biomedical and Nanomedicine Application / Lombardo D., Kiselev M. A. // Pharmaceutics. – 2022. – V. 14, No. 3. – 543. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030543>

384. Current advances in the use of exosomes, liposomes, and bioengineered hybrid nanovesicles in cancer detection and therapy / Mukherjee A., Bisht B., Dutta S. et al. // Acta Pharmacologica Sinica. – 2022. – V. 43. – P. 2759–2776 – URL: <https://doi.org/10.1038/s41401-022-00902-w>

385. Gene-engineered exosomes-thermosensitive liposomes hybrid nanovesicles by the blockade of CD47 signal for combined photothermal therapy and cancer immunotherapy / Cheng L., Zhang X., Tang J. et al. // Biomaterials. – 2021. – V. 275. – 120964. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.120964>

386. Thermosensitive exosome-liposome hybrid nanoparticle-mediated chem-immunotherapy for improved treatment of metastatic peritoneal cancer / Lv Q., Cheng L., Lu Y. et al. // Advanced science. – 2020. – V. 7, No. 18. – 2000515. – URL: <https://doi.org/10.1002/adv.202000515>

387. Engineering hybrid exosomes by membrane fusion with liposomes / Sato Y. T., Umezaki K., Sawada S. et al. // Scientific reports. – 2016. – V. 6. – 21933. – URL: <https://doi.org/10.1038/srep21933>

388. Review on strategies and technologies for exosome isolation and purification / Chen J., Li P., Zhang T. et al. // *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. – 2022. – V. 9. – 811971. – URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.811971>

389. Rezaie J. A review on exosomes application in clinical trials: perspective, questions, and challenges / Rezaie J., Fegghi M., Etemadi T. // *Cell communication and signaling*. – 2022. – V. 20, No. 1. – 145. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12964-022-00959-4>

390. Immunoaffinity chromatography: concepts and applications / Fitzgerald J., Leonard P., Darcy E. et al. // *Methods in molecular biology*. – 2017. – V. 1485. – P. 27–51. – URL: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6412-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6412-3_3)

391. Affinity-based isolation of extracellular vesicles by means of single-domain antibodies bound to macroporous methacrylate-based copolymer / Filipovic L., Spasojevic M., Prodanovic R. et al. // *New biotechnology*. – 2022. – V. 69. – P. 36–48. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2022.03.001>

392. Isolation of small extracellular vesicles from human serum using a combination of ultracentrifugation with polymer-based precipitation / Ryu K. J., Lee J. Y., Park C. et al. // *Annals of laboratory medicine*. – 2020. – V. 40, No. 3. – P. 253–258. – URL: <https://doi.org/10.3343/alm.2020.40.3.253>

393. Paper-based ITP technology: an application to specific cancer-derived exosome detection and analysis / Guo S., Xu J., Estell A. P. et al. // *Biosensors & bioelectronics*. – 2020. – V. 164. – 112292. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112292>

394. Пат. 2556825 РФ. Способ получения экзосом из крови / Тамкович С. Н., Лактионов П. Н., Тугаров О. С. – № 2014137279/10; заявл. 15.09.2014; опубл. 20.07.2015., Бюл. № 20.

395. Driscoll J. Development of a lyophilized off-the-shelf mesenchymal stem cell-derived acellular therapeutic / Driscoll J., Yan I. K., Patel T. // *Pharmaceutics*. – 2022. – V. 14, No. 4. – 849. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040849>

396. Pat. WO2018070939A1. Method for lyophilising exosome. / Lim S. K. – № PCT/SG2017/050513; appl. 12.10.2017; publ. 19.04.2018.

397. Freeze-dried extracellular vesicles from adipose-derived stem cells prevent hypoxia-induced muscle cell injury / El Baradie K. B. Y., Nouh M., O'Brien Iii F. et al. // *Frontiers in cell and developmental biology*. – 2020. – V. 8. – 181. – URL: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00181>

398. Exosomes as actively targeted nanocarriers for cancer therapy / Wang Y., Zhang Y., Cai G., Li Q. // *International journal of nanomedicine*. – 2020. – V. 15. – P. 4257–4273. – URL: <https://doi.org/10.2147/IJN.S239548>

399. Exosomes: biological pharmaceutical nanovectors for theranostics / Thomas S. C., Kim J. W., Pauletti G. M. et al. // *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. – 2022. – V. 9. – 808614. – URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.808614>
400. Rodríguez D. A. Extracellular vesicle-based hybrid systems for advanced drug delivery / Rodríguez D. A., Vader P. // *Pharmaceutics*. – 2022. – V. 14, No. 2. – 267. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020267>
401. Tsiapalis D. Mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles for tissue engineering and regenerative medicine applications / Tsiapalis D., O'Driscoll L. // *Cells*. – 2020. – V. 9, No. 4. – 991. – URL: <https://doi.org/10.3390/cells9040991>
402. Ferreira D. New advances in exosome-based targeted drug delivery systems / Ferreira D., Moreira J. N., Rodrigues L. R. // *Critical reviews in oncology/hematology*. – 2022. – V. 172. – 103628. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2022.103628>
403. Review on strategies and technologies for exosome isolation and purification / Chen J., Li P., Zhang T., et al. // *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. – 2022. – V. 9. – 811971. – URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.811971>
404. Exosomal delivery of doxorubicin enables rapid cell entry and enhanced in vitro potency / Schindler C., Collinson A., Matthews C. et al. // *PloS one*. – 2019. – V. 14, No. 3. – e0214545. – URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214545>
405. Development of exosome-encapsulated paclitaxel to overcome MDR in cancer cells / Kim M. S., Haney M. J., Zhao Y. et al. // *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*. – 2016. – V. 12, No. 3. – P. 655–664. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.10.012>
406. Exosomes recovered from the plasma of COVID-19 patients expose SARS-CoV-2 spike-derived fragments and contribute to the adaptive immune response / Pesce E., Manfrini N., Cordiglieri C. et al. // *Frontiers in immunology*. – 2022. – V. 12. – 785941. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.785941>
407. Exosomes decorated with a recombinant SARS-CoV-2 receptor-binding domain as an inhalable COVID-19 vaccine / Wang Z., Popowski K. D., Zhu D. et al. // *Nature biomedical engineering*. – 2022. – V. 6, No. 7. – P. 791–805. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41551-022-00902-5>
408. Gurunathan S. Diverse effects of exosomes on COVID-19: a perspective of progress from transmission to therapeutic developments / Gurunathan S., Kang M. H., Kim J. H. // *Frontiers in immunology*. – 2021. – V. 12. – 716407. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.716407>

409. The big potential of small particles: lipid-based nanoparticles and exosomes in vaccination / Shimon M. B., Shapira S., Seni J., Arber N. // *Vaccines*. – 2022. – V. 10, No. 7. – 1119. – URL: <https://doi.org/10.3390/vaccines10071119>

410. Efficacy and safety of EXOSOME-MSK therapy to reduce hyperinflammation in moderate COVID-19 patients (EXOMSK-COV19). – URL: <https://beta.clinicaltrials.gov/study/NCT05216562>

411. The therapeutic potential and clinical significance of exosomes as carriers of drug delivery system / Li T., Li X., Han G. et al. // *Pharmaceutics*. – 2022. – V. 15, No. 1. – 21. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010021>

412. Roles and clinical application of exosomes in prostate cancer / Hu G., Xie L., Zhou Y. et al. // *Frontiers in urology*. – 2022. – V. 2. – URL: <https://doi.org/10.3389/fruro.2022.843597>

413. A nanodrug consisting of doxorubicin and exosome derived from mesenchymal stem cells for osteosarcoma treatment in vitro. Wei H., Chen J., Wang S. et al. // *International journal of nanomedicine*. – 2019. – V. 14. – P. 8603–8610. – URL: <https://doi.org/10.2147/IJN.S218988>

414. Inhibition of exosome release sensitizes U937 cells to PEGylated liposomal doxorubicin / Hekmatirad S., Moloudizargari M., Moghadamnia A. A. et al. // *Frontiers in immunology*. – 2021. – V. 12. – 692654. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.692654>

415. Expulsion of small molecules in vesicles shed by cancer cells: association with gene expression and chemosensitivity profiles / Shedden K., Xie X. T., Chandaroy P. et al. // *Cancer research*. – 2003. – V. 63, No. 15. – P. 4331–4337.

416. Extracellular vesicle-mediated transfer of long non-coding RNA ROR modulates chemosensitivity in human hepatocellular cancer / Takahashi K., Yan I. K., Kogure T. et al. // *FEBS open bio*. – 2014. – V. 4. – P. 458–467. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.fob.2014.04.007>

417. Microparticle drug sequestration provides a parallel pathway in the acquisition of cancer drug resistance / Gong J., Luk F., Jaiswal R. et al. // *European journal of pharmacology*. – 2013. – V. 721, No. 1-3. – P. 116–125. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.09.044>

418. Paclitaxel incorporated exosomes derived from glioblastoma cells: comparative study of two loading techniques / Salarpour S., Forootanfar H., Pournamdari M. et al. // *Daru*. – 2019. – V. 27, No. 2. – P. 533–539. – URL: <https://doi.org/10.1007/s40199-019-00280-5>

419. Microvesicle- and exosome-mediated drug delivery enhances the cytotoxicity of Paclitaxel in autologous prostate cancer cells / Saari H., Lázaro-Ibáñez E.,

Viitala T. et al. // Journal of controlled release. – 2015. – V. 220, Pt B. – P. 727–737. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.09.031>

420. Potential roles and prognostic significance of exosomes in cancer drug resistance / Mostafazadeh M., Samadi N., Kahroba H. et al. // Cell & Bioscience. – 2021. – V. 11, No. 1. – URL: <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00515-y>

421. Docetaxel-loaded exosomes for targeting non-small cell lung cancer: preparation and evaluation in vitro and in vivo / Wang Y., Guo M., Lin D. et al. // Drug delivery. – 2021. – V. 28, No. 1. – P. 1510–1523. – URL: <https://doi.org/10.1080/10717544.2021.1951894>

422. Antimisiaris S. G. Exosomes and exosome-inspired vesicles for targeted drug delivery / Antimisiaris S. G., Mourtas S., Marazioti A. // Pharmaceutics. – 2018. – V. 10, No. 4. – 218. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10040218>

423. Retracted article: Macrophage-derived exosomes mediate osteosarcoma cell behavior by activating AKT signaling / Yan B., Liu Q., Liu G. et al. // RSC advances. – 2020. – V. 10, No. 9. – P. 5032–5039. – URL: <https://doi.org/10.1039/c9ra07332a>

424. Secretion rates and protein composition of extracellular vesicles released by cancer-associated fibroblasts after radiation / Berzaghi R., Islam A., Hellevik T., Martinez-Zubiaurre I. // Journal of radiation research. – 2021. – V. 62, No. 3. – P. 401–413. – URL: <https://doi.org/10.1093/jrr/rrab018>

425. Tumor-associated exosomes are involved in hepatocellular carcinoma tumorigenesis, diagnosis, and treatment / Wang H., Yu L., Huang P. et al. // Journal of clinical and translational hepatology. – 2022. – V. 10, No. 3. – P. 496–508. – URL: <https://doi.org/10.14218/JCTH.2021.00425>

426. Isolation and purification of exosomes in urine / Gonzales P. A., Zhou H., Pisitkun T. et al. // Methods in molecular biology. – 2010. – V. 641. – P. 89–99. – URL: [https://doi.org/10.1007/978-1-60761-711-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-711-2_6)

427. Osaki M. Exosomes and their role in cancer progression / Osaki M., Okada F. // Yonago acta medica. – 2019. – V. 62, No. 2. – P. 182–190. – URL: <https://doi.org/10.33160/yam.2019.06.002>

428. Von Schulze A. A review on exosome-based cancer therapy / Von Schulze A., Deng F. // Journal of cancer metastasis and treatment. – 2020. – V. 6. – 42. – URL: <http://dx.doi.org/10.20517/2394-4722.2020.79>

429. Exosomes-based therapy of stroke, an emerging approach toward recovery / Seyedaghamiri F., Salimi L., Ghaznavi D. et al. // Cell communication and signaling. – 2022. – V. 20, No. 1. – 110. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12964-022-00919-y>

430. Identification of a novel mechanism of blood-brain communication during peripheral inflammation via choroid plexus-derived extracellular vesicles / Balusu S., Van Wonterghem E., De Rycke R. et al. // *EMBO molecular medicine*. – 2016. – V. 8, No. 10. – P. 1162–1183. – URL: <https://doi.org/10.15252/emmm.201606271>
431. Badhwar A. Biomarker potential of brain-secreted extracellular vesicles in blood in Alzheimer's disease / Badhwar A., Haqqani A. S. // *Alzheimer's & dementia*. – 2020. – V. 12, No. 1. – e12001. – URL: <https://doi.org/10.1002/dad2.12001>
432. Altered lysosomal proteins in neural-derived plasma exosomes in preclinical Alzheimer disease / Goetzl E. J., Boxer A., Schwartz J. B. et al. // *Neurology*. – 2015. – V. 85, No. 1. – P. 40–47. – URL: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001702>
433. Ушакова Г. О. Молекулярні механізми міжклітинної комунікації : монографія / Ушакова Г. О., Недзвецкий В. С., Кириченко С. В. – Дніпро : «Ліра», 2018. – 216 с.
434. Potential use of exosomes as diagnostic biomarkers and in targeted drug delivery: progress in clinical and preclinical applications / Huda M. N., Nafiujjaman M., Deaguero I. G. et al. // *ACS biomaterials science & engineering*. – 2021. – V. 7, No. 6. – P. 2106–2149. – URL: <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.1c00217>
435. Exosome therapy in hair regeneration: a literature review of the evidence, challenges, and future opportunities / Kost Y., Muskat A., Mhaimed N. et al. // *Journal of Cosmetic Dermatology*. – 2022. – V. 21, No. 8. – P. 3226–3231. – URL: <https://doi.org/10.1111/jocd.15008>
436. Overcome the barriers of the skin: exosome therapy / Yang G. H., Lee Y. B., Kang D. et al. // *Biomaterials research*. – 2021. – V. 25, No. 1. – 22. – URL: <https://doi.org/10.1186/s40824-021-00224-8>
437. Clinical efficacy of exosome in degenerative meniscal injury (KNEEXO). – URL: <https://beta.clinicaltrials.gov/study/NCT05261360>
438. Santos P. Exosome-based vaccines: history, current state, and clinical trials / Santos P., Almeida F. // *Frontiers in immunology*. – 2021. – V. 12. – 711565. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.711565>
439. Vesicle-based secretion in schistosomes: Analysis of protein and microRNA (miRNA) content of exosome-like vesicles derived from *Schistosoma mansoni* / Samoil V., Dagenais M., Ganapathy V. et al. // *Scientific reports*. – 2018. – V. 8, No. 1. – 3286. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21587-4>
440. COVID-19 and extracellular vesicles: an intriguing interplay / Pocsfalvi G., Mammadova R., Ramos Juarez A. P. et al. // *Kidney & blood pressure research*. – 2020. – V. 45, No. 5. – P. 661–670. – URL: <https://doi.org/10.1159/000511402>

441. Akbari A. Potential therapeutic application of mesenchymal stem cell-derived exosomes in SARS-CoV-2 pneumonia / Akbari A., Rezaie J. // Stem cell research & therapy. – 2020. – V. 11, No. 1. – 356. – URL: <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01866-6>
442. Huda M. N. Potential application of exosomes in vaccine development and delivery / Huda M.N., Nurunnabi M. // Pharmaceutical Research. – 2022. – V. 39. – P. 2635–2671. – URL: <https://doi.org/10.1007/s11095-021-03143-4>
443. Sun Y. F. Emerging role of exosomes in tuberculosis: from immunity regulations to vaccine and immunotherapy / Sun Y. F., Pi J., Xu, J. F. // Frontiers in immunology. – 2021. – V. 12. – 628973. – URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.628973>
444. Changes in the membrane-associated proteins of exosomes released from human macrophages after Mycobacterium tuberculosis infection / Diaz G., Wolfe L. M., Kruh-Garcia N. A., Dobos K. M. // Scientific reports. – 2016. – V. 6. – 37975. – URL: <https://doi.org/10.1038/srep37975>
445. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: a promising biological tool in nanomedicine / Wei W., Ao Q., Wang X. et al. // Frontiers in pharmacology. – 2021. – V. 11. – 590470. – URL: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.590470>
446. Boosting the biogenesis and secretion of mesenchymal stem cell-derived exosomes / Wang J., Bonacquisti E. E., Brown A. D., Nguyen J. // Cells. – 2020. – V. 9, No. 3. – 660. – URL: <https://doi.org/10.3390/cells9030660>
447. Isolation of exosome-like vesicles from plants by ultracentrifugation on sucrose/deuterium oxide (D<sub>2</sub>O) density cushions / Stanly C., Fiume I., Capasso G., Pocsfalvi G. // Methods in molecular biology. – 2016. – V. 1459. – P. 259–269. – URL: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3804-9\\_18](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3804-9_18)
448. Grape exosome-like nanoparticles induce intestinal stem cells and protect mice from DSS-induced colitis / Ju S., Mu J., Dokland T. et al. // Molecular therapy. – 2013. – V. 21, No. 7. – P. 1345–1357. – URL: <https://doi.org/10.1038/mt.2013.64>
449. Effective methods for isolation and purification of extracellular vesicles from plants / Huang Y., Wang S., Cai Q., Jin H. // Journal of integrative plant biology. – 2021. – V. 63, No. 12. – URL: <https://doi.org/10.1111/jipb.13181>
450. Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis / Cho B. S., Kim J. O., Ha D. H., Yi Y. W. // Stem cell research & therapy. – 2018. – V. 9, No. 1. – 187. – URL: <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0939-5>
451. Hildrech C. The Emerging Role of Exosome therapeutics in 2023 / Hildrech C. – 2023. – URL: <https://bioinformant.com/exosome-therapeutics/>

452. Exosomes: the latest in regenerative aesthetics / Vyas K. S., Kaufman J., Munavalli G. S. et al. // *Regenerative medicine*. – 2023. – V. 18, No. 2. – P. 181–194. – URL: <https://doi.org/10.2217/rme-2022-0134>

453. Nano-scale delivery: A comprehensive review of nano-structured devices, preparative techniques, site-specificity designs, biomedical applications, commercial products, and references to safety, cellular uptake, and organ toxicity / Abdellatif A., Mohammed H., Khan R. et al. // *Nanotechnology Reviews*. – 2021. – V. 10, No. 1. – P. 1493–1559. – URL: <https://doi.org/10.1515/ntrev-2021-0096>

454. A phase I first-in-man study to investigate the pharmacokinetics and safety of liposomal dexamethasone in patients with progressive multiple myeloma / Metselaar J., Lammers T., Boquoi A. et al. // *Drug delivery and translational research*. – 2023. – V. 13, No. 4. – P. 915–923. – URL: <https://doi.org/10.1007/s13346-022-01268-6>

455. Krasnopolsky Yu. Licensed liposomal vaccines and adjuvants in the antigen delivery system / Krasnopolsky Yu., Pylypenko D. // *BioTechnologia – Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology*. – 2022. – V. 103, No. 4. – P. 409–423. – URL: <https://doi.org/10.5114/bta.2022.120709>

456. Trovato M. Novel antigen delivery systems / Trovato M., De Berardinis P. // *World journal of virology*. – 2015. – V. 4, No. 3. – P. 156–168. – URL: <https://doi.org/10.5501/wjv.v4.i3.156>

457. A protocol for isolation, purification, characterization, and functional dissection of exosomes / Rai A., Fang H., Fatmou M. et al. // *Methods in molecular biology*. – 2021. – V. 2261. – P. 105–149. – URL: [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1186-9\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1186-9_9)

458. Wu Z. Bioglass enhances the production of exosomes and improves their capability of promoting vascularization / Wu Z., He D., Li H. // *Bioactive materials*. – 2020. – V. 6, No. 3. – P. 823–835. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.09.011>

459. Designer exosomes: a new platform for biotechnology therapeutics / Jafari D., Shajari S., Jafari R. et al. // *BioDrugs : clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy*. – 2020. – V. 34, No. 5. – P. 567–586. – URL: <https://doi.org/10.1007/s40259-020-00434-x>

460. Engineering stem cells to produce exosomes with enhanced bone regeneration effects: an alternative strategy for gene therapy / Li F., Wu J., Li D. et al. // *Journal of nanobiotechnology*. – 2022. – V. 20, No. 1. – P. 135. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01347-3>



461. Edgar J. R. Q&A: What are exosomes, exactly? / Edgar J. R. // BMC biology. – 2016. – V. 14. – 46. – URL: <https://doi.org/10.1186/s12915-016-0268-z>

462. Preservation techniques of stem cells extracellular vesicles: a gate for manufacturing of clinical grade therapeutic extracellular vesicles and long-term clinical trials / Bahr M. M., Amer M. S., Abo-El-Sooud K. et al. // International journal of veterinary science and medicine. – 2020. – V. 8, No. 1. – P. 1–8. – URL: <https://doi.org/10.1080/23144599.2019.1704992>

463. International society for extracellular vesicles and international society for cell and gene therapy statement on extracellular vesicles from mesenchymal stromal cells and other cells: considerations for potential therapeutic agents to suppress coronavirus disease-19 / Börger V., Weiss D. J., Anderson J. D. et al. // Cytotherapy. – 2020. – V. 22, No. 9. – 482–485. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2020.05.002>

464. Vakhshiteh F. Mesenchymal stem cell exosomes: a two-edged sword in cancer therapy / Vakhshiteh F., Atyabi F., Ostad S. N. // International journal of nanomedicine. – 2019. – V. 14. – P. 2847–2859. – URL: <https://doi.org/10.2147/IJN.S200036>

465. Mesenchymal stem cell derived exosomes in cancer progression, metastasis and drug delivery: a comprehensive review / Zhou J., Tan X., Tan Y. et al. // Journal of Cancer. – 2018. – V. 9, No. 17. – P. 3129–3137. – URL: <https://doi.org/10.7150/jca.25376>

466. Safety evaluation of exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stromal cell / Sun L., Xu R., Sun X. et al. // Cytotherapy. – 2016. – V. 18, No. 3. – P. 413–422. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2015.11.018>

467. Exosomes in clinical trial and their production in compliance with good manufacturing practice / Chen Y. S., Lin E. Y., Chiou T. W., Harn H. J. // Tzu-chi medical journal. – 2019. – V. 32, No. 2. – P. 113–120. – URL: [https://doi.org/10.4103/tcmj.tcmj\\_182\\_19](https://doi.org/10.4103/tcmj.tcmj_182_19)

468. Cell type-specific and common characteristics of exosomes derived from mouse cell lines: Yield, physicochemical properties, and pharmacokinetics / Charoenviriyakul C., Takahashi Y., Morishita M. et al. // European journal of pharmaceutical sciences. – 2017. – V. 96. – P. 316–322. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.10.009>

469. Effect of exosome isolation methods on physicochemical properties of exosomes and clearance of exosomes from the blood circulation / Yamashita T., Takahashi Y., Nishikawa M., Takakura Y. // European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics. – 2016. – V. 98. – P. 1–8. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.10.017>

470. Therapeutic application of extracellular vesicles in kidney disease: promises and challenges / Lv L. L., Wu W. J., Feng Y. et al. // *Journal of cellular and molecular medicine*. – 2018. – V. 22, No. 2. – P. 728–737. – URL: <https://doi.org/10.1111/jcmm.13407>

471. Willis G. R. Toward exosome-based therapeutics: isolation, heterogeneity, and Fit-for-Purpose potency / Willis G. R., Kourembanas S., Mitsialis S. A. // *Frontiers in cardiovascular medicine*. – 2017. – V. 4. – 63. – URL: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2017.00063>

472. Baldrick P. Noneclinical testing evaluation of liposomes as drug delivery system / Baldrick P. // *International journal of toxicology*. – 2022. – V. 42, No. 2. – URL: <https://doi.org/10.1177/10915818221148436>

473. Exosomes and extracellular vesicles as emerging theranostic platforms in cancer research / Ailuno G., Baldassari S., Lai F. et al. // *Cells*. – 2020. – V. 9, No. 12. – 2569. <https://doi.org/10.3390/cells9122569>

474. Exosomes as theranostic targets: implications for the clinical prognosis of aggressive cancers / Gulati R., Nandi D., Sarkar K. et al. // *Frontiers in molecular biosciences*. – 2022. – V. 9. – 890768. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.890768>

475. Роль екзосом у механізмах розвитку запалення у хворих на серцево-судинну патологію та внесок у терапевтичній практиці: стовбурові клітин / Музиченько П. Ф., Мінченко Ж. М., Гавриленко Т. І. та ін. // *Запорізький медичний журнал*. – 2021. – Т. 2, № 4(27). – С. 566–574. – URL: <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2021.4.204886>

476. Alkylphospholipids: An update on molecular mechanisms and clinical relevance / Ríos-Marco P., Marco C., Gálvez X. et al. // *Biochimica et biophysica acta. Biomembranes*. – 2017. – V. 1859, No. 9 Pt B. – P. 1657–1667. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.02.016>

477. Effect of polar head group modifications on the tumor retention of phospholipid ether analogs: role of the quaternary nitrogen / Pinchuk A. N., Rampy M. A., Longino M. A. et al. // *Pharmaceutics*. – 2023. – V. 15, No. 1. – 171. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010171>

478. Developments in combining targeted radionuclide therapies and immunotherapies for cancer treatment / Kerr C. P., Grudzinski J. J., Nguyen T. P. et al. // *Pharmaceutics*. – 2022. – V. 15, No. 1. – 128. – URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010128>

479. Dual gene delivery reagents from antiproliferative alkylphospholipids for combined antitumor therapy / Gaillard B., Remy J. S., Pons F., Lebeau L. // *Frontiers*

in chemistry. – 2020. – V. 8. – 581260. – URL: <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.581260>

480. DOXIL® (doxorubicin HCl liposome injection) for intravenous infusion: highlights of prescribing information. – FDA, 2013. – Reference ID: 3365726. – 35 p. – URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2013/050718s045lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/050718s045lbl.pdf)

481. Final overall survival results of phase III GCIG CALYPSO trial of pegylated liposomal doxorubicin and carboplatin vs paclitaxel and carboplatin in platinum-sensitive ovarian cancer patients / Wagner U., Marth C., Largillier R. et al. // British journal of cancer. – 2012. – V. 107, No. 4. – P. 588–591. – URL: <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.307>

482. Caelyx pegylated liposomal : EPAR - Product Information – EMA, 2023. – 40 p. – URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/caelyx-pegylated-liposomal-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/caelyx-pegylated-liposomal-epar-product-information_en.pdf)

483. FDA approves DaunoXome as first-line therapy for Kaposi's sarcoma. Food and Drug Administration // Journal of the International Association of Physicians in AIDS Care. – 1996. – V. 2, No. 5. – P. 50–51.

484. Liposomal Amphotericin B (AmBisome®): a review of the pharmacokinetics, pharmacodynamics, clinical experience and future directions / Stone N. R., Bicanic T., Salim R., Hope W. // Drugs. – 2016. – V. 76, No. 4. – P. 485–500. – URL: <https://doi.org/10.1007/s40265-016-0538-7>

485. Development of liposomal amphotericin B formulation / Gulati M., Bajad S., Singh S. et al. // Journal of microencapsulation. – 1998. – V. 15, No. 2. – P. 137–151. – URL: <https://doi.org/10.3109/02652049809006844>

486. DEPOCYT (cytarabine liposome injection) : highlights of prescribing information. – FDA, 2014. – Reference ID: 3677517. – 35 p. – URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2014/021041s031lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/021041s031lbl.pdf)

487. Myocet liposomal (previously Myocet) : EPAR - Product Information. – EMA, 2023. – 37 p. – URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/myocet-liposomal-previously-myocet-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/myocet-liposomal-previously-myocet-epar-product-information_en.pdf)

488. VISUDYNE® (verteporfin for injection), for intravenous use : highlights of prescribing information. – FDA, 2016. – Reference ID: 3927523. – 13 p. – URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2016/021119s027lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/021119s027lbl.pdf)

489. Lucentis using Visudyne study: determining the threshold-dose fluence of verteporfin photodynamic therapy combined with intravitreal ranibizumab for exudative macular degeneration / Chen E., Brown D. M., Wong T. P. et al. // Clinical oph-

thalmology. – 2010. – V. 4. – P. 1073–1079. – URL: <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S13969>

490. DepoDur® (morphine sulfate extended-release liposomal injection). – FDA, 2007. – 18 p. – URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2007/021671s019lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2007/021671s019lbl.pdf)

491. Future directions in the treatment of osteosarcoma / Smrke, A., Anderson, P. M., Gulia, A. et al. // Cells. – 2021. – V. 10, No. 1. – 172. – URL: <https://doi.org/10.3390/cells10010172>

492. Mepact : EPAR - Product Information – EMA, 2020. – 32 p. – URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mepact-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mepact-epar-product-information_en.pdf)

493. EXPAREL (bupivacaine liposome injectable suspension) : highlights of prescribing information. – FDA, 2018. – Reference ID: 4245683. – 28 p. – URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2018/022496s9lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/022496s9lbl.pdf)

494. Analgesic efficacy and safety of Exparel® (bupivacaine liposome injectable suspension) in subjects undergoing third molar surgery: preliminary results of a randomized controlled study / Lieblisch S.E., Israel H., Bennett J. D., Viswanath A. // Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. – 2016. – V. 74, No. 9. – P. 42–45. – URL: <https://doi.org/10.1016/j.joms.2016.06.067>

495. Marqibo® (vinCRISTine sulfate LIPOSOME injection), for intravenous use : highlights of prescribing information. – FDA, 2020. – Reference ID: 4620960. – 16 p. – URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2020/202497s011lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/202497s011lbl.pdf)

496. ONIVYDE™ (irinotecan liposome injection), for intravenous use : highlights of prescribing information. – FDA, 2015. – Reference ID: 3836766. – 18 p. – URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2015/207793lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/207793lbl.pdf)

497. VYXEOS™ (daunorubicin and cytarabine) liposome for injection, for intravenous use : highlights of prescribing information. – FDA, 2017. – Reference ID: 4134238. – 22 p. – URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2017/209401s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/209401s000lbl.pdf)

498. Arikayce liposomal : EPAR - Public assessment report – EMA, 2020. – 109 p. – URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/arikayce-liposomal-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/arikayce-liposomal-epar-public-assessment-report_en.pdf)

499. Boulikas T. Clinical overview on Lipoplatin: a successful liposomal formulation of cisplatin / Boulikas T. // Expert opinion on investigational drugs. – 2009. – V. 18, No. 8. – P. 1197–1218. – URL: <https://doi.org/10.1517/13543780903114168>

500. Application of liposomal technologies for delivery of platinum analogs in oncology / Liu D., He C., Wang A. Z., Lin W. // International journal of nanomedicine. – 2013. – V. 8. – P. 3309–3319. – URL: <https://doi.org/10.2147/IJN.S38354>

501. Leong E. W. X. Lipid nanoparticles as delivery vehicles for inhaled therapeutics / Leong E. W. X., Ge R. // Biomedicines. – 2022. – V. 10, No. 9. – 2179. – URL: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092179>

502. Hoy S. M. Patisiran: first global approval / Hoy S. M. // Drugs. – 2018. – V. 78, No. 15. – P. 1625–1631. – URL: <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0983-6>

503. Пат. 14596 України. Спосіб одержання ліпосомальної композиції, що має антитоксичну гепатозахисну дію / Григор'єва Г. С., Стефанов О. В., Конахович Н. Ф. та ін. – № 94033107; заявл. 30.03.1994.; опубл. 25.04.1997; Бюл. №2.

504. Encapsulation of eucalyptus leaves phytoproducts into liposomal nanoparticles and study of their antibacterial activity against Staphylococcus aureus in vivo / Krasnopolsky Y., Pylypenko D. // Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2023. – V. 12, No. 5. – e9445. – <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9445>

## ДОДАТКИ

Таблиця 1 – Перелік ліпосомальних ліцензованих препаратів

Назва препарату	АФІ	Ліцензування, рік	Структура і розмір, нм	Призначення і спосіб введення	Ліпідний склад ліпосом	Літ.
Doxil	Доксорубіцину гідрохлорид	1995	SUVs, 100 нм	Рак яєчників, саркома Капоші, мієлоїдна меланома; в/в	HSPC, mPEG-DSPE, холестерин	480, 481
Caelyx	Доксорубіцину гідрохлорид	1996	SUVs, 100 нм	Рак яєчників, саркома Капоші, мієлоїдна меланома; в/в	HSPC, mPEG-DSPE, холестерин	482
Dauno-Home	Даунорубіцин	1996	SUVs, 40–80 нм	Саркома Капоші; в/в	DSPC, холестерин	483
AmBisome	Амфотерицин В	1997	SUVs, 50–100 нм	Грибкові інфекції; в/в	HSPC, DSPG, холестерин	484

<b>Назва препарату</b>	<b>АФІ</b>	<b>Ліцензування, рік</b>	<b>Структура і розмір, нм</b>	<b>Призначення і спосіб введення</b>	<b>Ліпідний склад ліпосом</b>	<b>Літ.</b>
Abelect	Амфотерицин В	1997	SUVs, 50–100 нм	Грибкові інфекції; в/в	DMPC, DMPG	485
DepoCyt	Цитарабін	1999	MVLs, 20 мкм	Лімфоматозний мєнінгіт; інтратекально	DOPC, DPPG, холестерин, триолеїн	486
Myocet	Доксорубіцину гідрохлорид	2000	SUVs, 80–90 нм	Рак молочної залози; в/в	ЕРС, холестерин	487
Visudyne	Вертепорфірин	2000	SUVs, <100 нм	Офтальмологія ; в/в	ЕРС, DMPC	488, 489
DepoDur	Морфін	2004	MVLs, 17–23 мкм	Епідуральна анестезія; епідурально	DOPC, DPPG, холестерин, триолеїн, трикаприлін	490
Meract	Мураміл-трипептид-фосфатидилетаноламін	2009	MVLs, 2–3,5 мкм	Остеосаркома; в/в	POPC, DOPC	491 492

Назва препарату	АФІ	Ліцензування, рік	Структура і розмір, нм	Призначення і спосіб введення	Ліпідний склад ліпосом	Літ.
Exparel	Бупівакаїн	2011	MVLs, 24–31 мкм	Післяопераційна анестезія; локально	DOPC, DPPG, холестерин, трикаприлін	493, 494
Marqibo	Вінкрестину сульфат	2012	SUVs, 130–150 нм	Лейкемія; в/в	Сфінголієлін, холестерин	495
Onivyde	Іринотекану гідрохлорид	2015	SUVs, 110 нм	Аденокарцинома підшлункової залози; в/в	DSPC, mPEG-2000-DSPE, холестерин	496
Vuheos	Даунорубіцин, цитарабін	2017	SUVs, >110 нм	Лейкемія; в/в	DSPC, DSPG, холестерин	497
Arikayce	Амікацин	2018	LUVs, 200–300 нм	Захворювання легень; орально	DPPC, холестерин	498
Lipoplatin	Цисплатин	Ухвалений FDA та Європейською медичною асоціацією	SUVs, 110 нм	Рак підшлункової залози, аденокарцинома, немілоклітинний рак легень; в/в	HSPC, холестерин, DSPG, mPEG-DSPE	499, 500



Назва препарату	АФІ	Ліцензування, рік	Структура і розмір, нм	Призначення і спосіб введення	Ліпідний склад ліпосом	Літ.
Curosurf	Протеїни В і С легень свині	1999	SUVs, >110 нм	Профілактика синдрому гострої дихальної недостатності у немовлят (респіраторний дистрес-синдром)	Сумарні фосфоліпіди з легень свиней, переважає DPPC	501
Onpattro	Патісіран*	2018	SUVs, >110 нм	Амілоїдна нейропатія, в/в	Ліпід(6Z,9Z,28Z,31Z)**, DSPC, холестерин, PEG2000-C-DMG***	502

*Примітка.* \* Патісіран – синтетичний лікарський препарат олігонуклеотидної природи, який пригнічує синтез білка транстиретину шляхом РНК-інтерференції, являє собою коротку дволанцюгову РНК; \*\*(6Z,9Z,28Z,31Z)-гептатріаконта-6,9,28,31-тетраен-19-іл 4-(диметиламіно)бутаноат: \*\*\*PEG2000-C-DMG – 1,2-димиристоїл-рас-гліцерино-3-карбоніламіноетил-ω-метоксиполіетилленгліколь-2000.

Таблиця 2 – Ліпосомальні препарати ліцензовані в Україні

<b>Назва препарату</b>	<b>АФІ</b>	<b>Ліцензування, рік</b>	<b>Структура і розмір, нм</b>	<b>Ліпідний склад ліпосом</b>	<b>Призначення препарату</b>	<b>Літ.</b>
Ліпін	Фосфатидил-холін	1991	SUVs, 80-140 нм	ЕРС	Пульмонологія, нефрологія, кардіологія, акушерство	10, 22, 23, 227, 229, 232, 262
Ліподокс	Доксорубіцину гідрохлорид	1998	SUVs, 80-120 нм	ЕРС, холестерин	Онкологія	10, 46, 48, 271, 273, 277, 278
Ліолів	Антраль	2003	SUVs, 100-140 нм	ЕРС	Гепатопротектор	10, 26, 503, 284, 285, 287, 290
Ліпофлавон	Кверцетин	2006	SUVs, 130-160 нм	ЕРС	Кардіологія	10, 24, 25, 310, 326, 328, 330
Ліпофлавон	Кверцетин	2007	SUVs, 130-160 нм	ЕРС	Офтальмологія	10, 24, 25, 280, 345, 346, 348

Таблиця 3 – Перелік ліпосомальних препаратів, розроблених в Україні

Назва препарату	АФІ	Стадія розробки	Структура і розмір, нм	Призначення препарату	Ліпідний склад ліпосом	Літ.
Ліпосомальний іринотекан	Іринотекану гідрохлорид	Проведені доклінічні дослідження	SUVs, 80-120 нм	Онкологія	ЕРС, холестерин	32, 51
Ліпоплат	Цисплатин	Проведені клінічні дослідження	SUVs, 140-180 нм	Онкологія	ЕРС, холестерин, PG	10, 48, 56
Ліпотакс	Доцетаксел	Проведені доклінічні дослідження	SUVs, 120-150 нм	Онкологія	ЕРС, DPG	10, 32, 34, 54, 55
Ліпосомальний цитохром С	Цитохром С	Проведені доклінічні дослідження	SUVs, 120-170 нм	Кардіологія	ЕРС, DPG	10, 52, 53, 76
Ліпосомальний куркумін	Куркумін	Проведені доклінічні дослідження	SUVs, 150-200 нм	Антиоксидант, кардіологія	ЕРС, DPPG	4, 5, 57
Ліпосомальний коензим	Коензим Q10	Проведені доклінічні дослідження	SUVs, 140-180 нм	Антиоксидант, кардіологія	ЕРС, DPPG	58–60
Ліпосомальний латанопрост	Латанопрост	Проведені доклінічні дослідження	SUVs, 150–180 нм	Офтальмологія	ЕРС, DPPG, холестерин	61–64
Ліпоеф	Масло листя евкаліпту	Проведені доклінічні дослідження	SUVs, 130–150 нм	Антимікробний	ЕРС, холестерин	248, 250, 504

Таблиця 4 – Ліцензовані ліпосомальні вакцини

Назва вакцини, виробник	Антиген	Ад'ювант	Склад ліпосом/LNP	Механізм дії	Профілактика
«Eраxol-Berna», Swiss Serum Vaccine Institute, Швейцарія	Антиген інактивованого вірусу гепатиту А (штам RG-58)	Глікопротеїни (гемаглютинін, нейрамінідаза), виділені з інактивованого вірусу грипу А	DOPC, DOPE	Забезпечує високу як клітинну, так і гуморальну імунну відповідь (Th1/Th2). Віросома забезпечує представлення антигену вірусу гепатиту А імунокомпетентними клітинами, забезпечуючи імуногенність.	Гепатит А
«Inflexal V», Swiss Serum Vaccine Institute, Швейцарія	Поверхневі антигени вірусів грипу типів А (2 штами) і 1 штаму типу В – субодиниці гемаглютиніну і нейрамінідази	–	DOPC, DOPE	Забезпечує високу як клітинну, так і гуморальну імунну відповідь (Th1/Th2). Віросома забезпечує представлення антигенів вірусу грипу імунокомпетентними клітинами, забезпечуючи імуногенність.	Грип

Назва вакцини, виробник	Антиген	Ад'ювант	Склад ліпосом/LNP	Механізм дії	Профілактика
«Mosquirix», GlaxoSmithKline, Бельгія	Прееритроцитарний циркумспорозоїтний білок <i>Plasmodium falciparum</i> і HBsAg вірусу гепатиту В	AS01: монофосфо- рилліпід А + сапо- нін QS21	DOPC, хо- лестерин	Інфекція запобігається шляхом індукції гумора- льного і клітинного імуні- тету (Th1/Th2) з висо- кими титрами антитіл, які не дозволяють пара- зиту <i>Plasmodium falciparum</i> заражати пе- чінку людини. Ідея поля- гає у сумісній доставці антигена і ад'юванта до антигенпрезентуючих клітин, в клітині антиген і ад'ювант розподіля- ються по ендосомному і цитозольному компар- тментам, що супрово- джується ефектом індук- ції Т-хелперів і цитоток-	Малярія

Назва вакцини, виробник	Антиген	Ад'ювант	Склад ліпосом/LNP	Механізм дії	Профілактика
				сичних Т-клітин.	
«Shingrix», GlaxoSmithKline, Бельгія	Рекомбінантний антиген ліпопротеїну Е вірусу вітряної віспи	AS01: монофосфорицилліпід А + сапонін QS21	DOPC, холестерин	Інфекція запобігається шляхом індукції гуморального і клітинного імунітету (Th1/Th2) з високими титрами антитіл. Ідея полягає у сумісній доставці антигена і ад'юванта до антигенпрезентуючих клітин, в клітині антиген і ад'ювант розподіляються по ендосомному і цитозольному компартментам, що супроводжується ефектом індукції Т-хелперів і цитотоксичних Т-клітин.	Оперізуючий лішай
«Pfizer», Pfizer-	мРНК, яка містить	–	Чотири лі-	мРНК використовується	COVID-

Назва вакцини, виробник	Антиген	Ад'ювант	Склад ліпосом/LNP	Механізм дії	Профілактика
BionTech, США	інформацію про S-білок шипа вірусу SARS-CoV-2		підних компонента: іонізований ліпід*, PEG-ліпід, DSPC, холестерин.	для експресії антигену <i>in situ</i> . На молекулі мРНК записана інформація про S-білок вірусу SARS-CoV-2, який використовується вірусом для проникнення в клітини людини.	19
«Moderna», Moderna Inc., США	мРНК, яка містить інформацію про S-білок шипа вірусу SARS-CoV-2	–	Чотири ліпідних компонента: іонізований ліпід**, PEG-ліпід, DSPC, холестерин.	мРНК використовується для експресії антигену <i>in situ</i> . На молекулі мРНК записана інформація про S-білок вірусу SARS-CoV-2, який використовується вірусом для проникнення в клітини людини.	COVID-19
«Novavax», Novavax, США	S-білок шипа вірусу SARS-CoV-2	ISCOM: високоактивний і слабкий	DPPC і холестерин	Вакцина індукує високий мультифункціональ-	COVID-19

Назва вакцини, виробник	Антиген	Ад'ювант	Склад ліпосом/LNP	Механізм дії	Профілактика
		сапоніновий ад'ювант (фракції сапоніну С і А, відповідно)		ний клітинно-опосередкований імунітет.	

*Примітка.* іонізований ліпід\* – ((4-гідроксибутин)азанедил)біс(гексан-6,1-диіл)біс(2-гексилдеcanoат); іонізований ліпід\*\* – SM-102 (9-гептадеканіл 8-{(2-гідроксиетил)[6-оксо-6-(андексилокси)гексі]аміно} октаноат).

Таблиця 5 – Гібридні екзосомальні препарати

Походження екзосом	Наночастинки, із якими комбінують екзосоми	Методи одержання
СТ-26	Ліпосоми	Заморожування/відтаювання
Мезенхімальні стовбурові клітини	Ліпосоми	Екструзія
Макрофаги	Ліпосоми	Екструзія
Фібробласти	Ліпосоми	Заморожування/відтаювання
Мезенхімальні стовбурові клітини	Наночастинки золота	Інкубація з PEG
Клітини меланоми мишей	Наночастинки золота	Інкубація, заморожування / відтаювання, обробка УЗ, електропорація



Таблиця 6 – Продукти на основі екзосом

<b>Компанія, країна, рік заснування</b>	<b>Вид екзосом</b>	<b>Джерело екзосом</b>	<b>Терапевтична дія</b>
Aegle Therapeutics, США, 2014	Природні	Екзосоми клітин крові людини	У 2018 році отримано перший дозвіл FDA на проведенні клінічних досліджень у хворих з опіками II ступеня
ЕхоСоВіо, Південна Корея, 2017	Природні	Екзосоми стовбурових клітин жирової тканини	Атопічний дерматит, збільшує об'єм підшкірного жиру в області обличчя, сприяє швидкому омолодженню шкіри
Евох Therapeutics, Кембридж, Велика Британія, 2016	Інженерні	Протеїнові молекули	Лізосомні розлади: Хвороба Німана-Піка типу С (накопичення ліпідів, зокрема сфінгомиєліну)
ILIAS Biologics, Південна Корея, 2015	Інженерні	Крупні протеїнові молекули	Сепсис, передчасні пологи, хвороба Гаше
Carmine Therapeutics, Сінгапур, 2016	Інженерні	Екзосоми клітин крові людини	Гематологічні, онкологічні, імунні захворювання

Компанія, країна, рік заснування	Вид екзосом	Джерело екзосом	Терапевтична дія
Aruna Bio, США, 2002	Природні і інженерні	Екзосоми стовбурових клітин нервової тканини	Навантаження екзосом малими молекулами, білками, олігонуклеотидами. За рахунок природних властивостей нейронних екзосом вони проникають через ГЕБ, Посилюють протизапальні, самовідновлювальні та захисні механізми організму
ReNeuron, США, 2013	Інженерні	Екзосоми стовбурових клітин для доставки міРНК, мРНК, білків, лікарських молекул і генів	Реабілітація після інсульту та інших патологій, неврологічні захворювання, наприклад, хвороба Паркінсона

Таблиця 7 – Характеристика параметрів клінічного вивчення екзосом

Показання для застосування	Рік, етап, кількість пацієнтів	Джерело виділення екзосом	Доза	Спосіб введення
Меланома	2000, етап 1, n=15	Незрілі дендритні клітини, аутологічні	$1,3 \times 10^{13}$ молекул МНС II класу	п/шк, в/шк (є повний звіт)
Недрібноклітинний рак легень	2010, етап 2, n= 22.	Зрілі дендритні клітини, індуковані rIFN- $\gamma$	$10^{11}$ – $10^{13}$ молекул МНС II класу	в/шк (є повний звіт)
Рак товстої кишки	етап 1 n= 40	Асцит аутологічний	100–500 мкг білка	п/шк (є повний звіт)
Хронічне захворювання нирок	2014, етап 2/3, n= 40	Алогенні мезенхімальні стовбурові клітини	100 мкг/кг	в/в, внутрішньоартеріально (є повний звіт)
Злоякісний асцит і плеврит	2013, етап 2, n=30	Пухлини	Немає даних	Інфузія у черевну порожнину
Злоякісний плеврит	2016, етап 2, n=90	Злоякісне походження	Немає даних	Немає даних
Метастатичний рак підшлункової залози	2020, етап 1, n=28	Алогенні мезенхімальні стовбурові клітини	Немає даних	в/в

<b>Показання для застосування</b>	<b>Рік, етап, кількість пацієнтів</b>	<b>Джерело виділення екзосом</b>	<b>Доза</b>	<b>Спосіб введення</b>
Бронхолегенева дисплазія	2019, етап 1, n=18	Мезенхімальні стовбурові клітини	200 пмоль фосфоліпідів / кг	в/в
Цукровий діабет 1 типу	2014, етап 1, n=20	Алогенні мезенхімальні стовбурові клітини	$1,5 \times 10^6$ клітин / кг	в/в
Макулярні отвори	2017, етап 1, n=44	Алогенні мезенхімальні стовбурові клітини	50 мкг	Закапування в область скловидного тіла
Гострий ішемічний інсульт	2019, етап 1/2, n=5	Алогенні мезенхімальні стовбурові клітини	200 мкг	Стереотаксична ін'єкція
Рак товстої кишки	2011, етап 1, n=35	Рослинні	Немає даних	Таблетки
Мукозит порожнини рота	2012, етап 1, n=60	Рослинні	Немає даних	<i>Per os</i>

*Наукове видання*

**КРАСНОПОЛЬСЬКИЙ Юрій Михайлович**, доктор фармацевтичних наук, професор,  
Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»  
**ПИЛИПЕНКО Дар'я Михайлівна**, PhD з біотехнологій та біоінженерії,  
Державний біотехнологічний університет

**СТВОРЕННЯ СИСТЕМ ДОСТАВКИ АНТИГЕНІВ ТА ЛІКІВ  
НА ОСНОВІ ШТУЧНИХ І ПРИРОДНИХ ЛІПІДНИХ  
НАНОЧАСТИНОК: ЛІПОСОМИ ТА ЕКЗОСОМИ**

Монографія

Відповідальний за випуск проф. *Близнюк О. М.*  
Роботу до видання рекомендував проф. *Циганков О. В.*  
Тех. редактор *Гобельовська Л.П.*

В авторській редакції  
План 2023 р., поз. 16

Підп. до друку 18.05.23. Формат 60×84 1/16. Папір офсетний.  
Друк цифровий. Гарнітура шкільна. Ум. друк. арк. 10,4. Авторські арк. 8,7.  
Наклад 50 прим. Зам. № 108. Ціна договірна.

Видавець і виготовлювач ТОВ «Друкарня Мадрид»  
61024, м. Харків, вул. Гуданова, 18.  
Тел.: 0800 33 67 62  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи:  
Серія ДК, № 4399 від 27.08.2012 р.

Книжковий магазин: [www.shop.madrid.in.ua](http://www.shop.madrid.in.ua)