

## Спектроскопическое исследование кинетики высвобождения водонерастворимого препарата гризеофульвин из ватеритных контейнеров в водной среде

© М.С. Савельева<sup>1</sup>, Е.В. Ленгерт<sup>1</sup>, А.М. Абрамова<sup>2</sup>, С.Н. Штыков<sup>2</sup>, Ю.И. Свенская<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Образовательно-научный институт наноструктур и биосистем, Саратовский национальный исследовательский государственный университет,  
410012 Саратов, Россия

<sup>2</sup> Институт химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет,  
410012 Саратов, Россия

e-mail: mssaveleva@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.12.2020 г.

В окончательной редакции 06.01.2021 г.

Принята к публикации 26.02.2021 г.

Разработка подходов, обеспечивающих повышение биодоступности гидрофобных лекарственных препаратов, является одной из приоритетных задач медицинского материаловедения и фармацевтики. Одним из таких подходов является инкапсулирование препаратов в объеме биосовместимых микро- и наноконтейнеров, позволяющих осуществлять адресную доставку препарата, снижать вводимую дозу и её токсическое действие и повышать фармакологический эффект. Важным этапом при применении капсулированных препаратов является исследование кинетики высвобождения лекарственного средства *in vitro* в модельных средах. Поскольку гидрофобные лекарственные вещества обладают низкой биодоступностью и слабо растворимы либо нерастворимы в воде, то модельные водные среды не позволяют получать полной информации о кинетике высвобождения препарата из контейнера. Для решения данной проблемы нами на примере антимикотика „гризеофульвин“ (Гф) разработана методика комплексного спектроскопического и электронно-микроскопического исследования процесса высвобождения данного водонерастворимого препарата из ватеритных микроконтейнеров. Добавление диметилформамида (ДМФА) в качестве полярного органического растворителя к водной суспензии частиц ватерита, содержащих Гф, непосредственно перед измерением спектров поглощения обеспечило повышение правильности и точности определения концентрации высвободившегося препарата в разные промежутки времени. Продемонстрирована корреляция данных, полученных при исследовании кинетики высвобождения препарата в воде данным способом, с результатами мониторинга состояния контейнеров в воде методами сканирующей электронной микроскопии и спектроскопии комбинационного рассеяния.

**Ключевые слова:** УФ, видимая, КР-спектроскопия, адресная доставка лекарств, микроконтейнеры ватерита, гризеофульвин, кинетика высвобождения.

DOI: 10.21883/OS.2021.06.50976.5k-21

### Введение

Методы молекулярной спектроскопии вследствие простоты, возможности идентификации и количественного контроля содержания лекарственных веществ, имеющих органическую природу, широко применяются в фармацевтике и медицине [1,2]. По этой причине методы ИК, УФ, видимой спектроскопии и флуоресценции, а также оптической микроскопии включены в современную фармакопею России [3], международную европейскую фармакопею [4] и фармакопею таких стран как США или Япония [5].

Спектроскопические методы применяют также при разработке новых подходов к адресной доставке лекарственных веществ, которая повышает их биодоступность и увеличивает локальную концентрацию вблизи пораженного органа, снижает токсическое действие препаратов, особенно малорастворимых в воде [6]. К та-

ким препаратам относятся, например, различные противогрибковые соединения, ограниченная растворимость которых обуславливает их низкую биодоступность и, следовательно, сниженную терапевтическую эффективность препаратов [7]. Некоторые противогрибковые препараты, например гризеофульвин (Гф), обладают плохой растворимостью не только в воде, но и в этаноле [8,9], поэтому на фармакологическом рынке они представлены исключительно в виде пероральных форм (таблетки, порошки, капсулы или суспензии) [10,11].

Одним из подходов, направленных на повышение биодоступности и снижение системной токсичности водонерастворимых противогрибковых препаратов, является применение различных контейнеров-носителей. В частности, для адресной доставки антимикотиков предложены носители на основе липосом [12], мицелл [13], эмульсий [14–16], везикул [17] различных типов нано- [18,19] и микрочастиц [20–22]. Применение

таких форм обеспечивает увеличение глубины проникновения и эффективности локализации антимикотика в целевой области, а также продлевает терапевтический эффект, что улучшает биодоступность и одновременно сокращает суммарную терапевтическую дозу препарата [23].

При разработке таких носителей необходимым этапом является предварительное исследование их поведения в модельных средах *in vitro*. Особенно важно исследование процессов высвобождения лекарственных препаратов из носителей в дисперсных средах, имитирующих биологические жидкости, включая физиологический раствор (0.15 M NaCl), фосфатно-солевой буфер, питательные среды для культивирования клеток и сыворотку крови. Поскольку такие жидкости представляют собой водные растворы, то исследование высвобождения капсулированных малорастворимых лекарственных форм в воде является нетривиальной задачей, требующей разработки подходов к её решению. В частности, для вышеупомянутого противогрибкового препарата Гф исследовали процесс его высвобождения из носителей только в гидрофобных средах [24], поэтому данные о его высвобождении в водных растворах отсутствуют. Однако комплексное изучение поведения систем адресной доставки и моделирование физиологических процессов требуют накопления информации о растворимости капсулированных лекарственных форм в водных средах.

Ранее мы продемонстрировали возможность иммобилизации Гф в субмикронные контейнеры-носители на основе мезопористых сферических частиц карбоната кальция ( $\text{CaCO}_3$ ) в метастабильной полиморфной модификации ватерита [21,25]. При исследовании процесса высвобождения иммобилизованного антимикотика в воде, физиологическом растворе и культуральной среде возникла проблема образования кристаллов гидрофобного Гф, высвободившихся из ватеритной матрицы, что затрудняло количественную оценку его перехода в водную среду. Образование осадка искажало данные о концентрации антимикотика в исследуемых суспензиях.

Цель настоящей работы состояла в исследовании эффективности высвобождения Гф из микрочастиц ватерита в воде методами УФ, КР- и флуоресцентной спектроскопии. Для увеличения растворимости данного антимикотика до молекулярного состояния к водной суспензии частиц добавляли полярный растворитель. Данные о кинетике высвобождения Гф подтверждали исследованием морфологии микроконтейнеров в процессе инкубации в воде методом сканирующей электронной микроскопии, а также данными мониторинга их состояния методом спектроскопии КР. Это позволило сделать вывод, что разработанный подход позволяет провести оценку и получить адекватное представление о поведении ватеритных контейнеров с Гф в водной среде.

## Материалы и методы

### Синтез микроконтейнеров с Гф

Микрогабаритные частицы ватерита, содержащие противогрибковый препарат Гф (Sigma–Aldrich, США), синтезировали за счет совместного осаждения препарата в процессе формирования частиц ватерита в среде этиленгликоля (Sigma–Aldrich, США) [21]. Гризеофульвин предварительно растворяли в этиленгликоле. Для повышения эффективности растворения антимикотика и получения гомогенного раствора с концентрацией 2 mg/mL раствор обрабатывали в ультразвуковой ванне Сапфир (Россия) с частотой 35 kHz и плотностью мощности 0.64 W/cm<sup>2</sup> в течение 1 h при температуре 50°C. После этого одинаковые объемы эквимоларных водных растворов дигидрата хлорида кальция ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , Sigma–Aldrich, США) и карбоната натрия ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , Sigma–Aldrich, США) смешивали с раствором Гф в этиленгликоле в соотношении 1:5, а затем между собой. Смешивание растворов проводили на магнитной мешалке IKA RO 10 (Германия) при скорости 700 rpm в течение 2.5 h при температуре 25–30°C. По окончании твердую фазу ватерита с включенным Гф отделяли от жидкой на центрифуге Eppendorf 5810 R (Австрия) при скорости 5000 rpm в течение 10 min с последующей трехкратной промывкой водой и однократной промывкой 70%-ным этанолом для удаления остатков этиленгликоля и избыточных ионов солей. Полученные контейнеры высушивали при температуре 60°C в течение 1 h.

Дзета-потенциал полученных контейнеров измеряли с помощью прибора ZetaSizer Nano ZS (Malvern, Великобритания).

### Инкубация в воде контейнеров с Гф

Для исследования процесса высвобождения Гф из ватеритных контейнеров использовали деионизованную воду, полученную на установке Milli-Q Purification System (Millipore, Merck, США). К навескам массой 3.3 mg микроконтейнеров с антимикотиком добавляли 0.7 mL воды, после чего образцы помещали в шейкер Digital Shaking Drybath (Termo Scientific, США) при температуре 25°C и скорости перемешивания 700 rpm.

### Исследование морфологии контейнеров при инкубации

Мониторинг состояния контейнеров в процессе их инкубации в воде осуществляли с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на приборе MIRA II LMU (Tescan, Чехия) при рабочем напряжении 20 kV. Для этого капли суспензии контейнеров объемом 1  $\mu\text{L}$  из каждого образца наносили на кремниевую подложку и изучали морфологическую структуру частиц ватерита, содержащих антимикотик Гф.

## Изучение кинетики высвобождения Гф

При исследовании процесса высвобождения Гф из частиц ватерита в воде в качестве полярного растворителя, добавляемого к водной суспензии частиц для его растворения перед измерением, была проведена апробация протонного растворителя этанола и апротонного ДМФА, обладающих разным механизмом растворения Гф.

На первом этапе кинетику высвобождения Гф из микроконтейнеров в воде изучали, измеряя интенсивность флуоресценции аликвоты раствора в каждый конкретный момент времени (24, 48, 72, 96 и 120 h инкубации). Для этого из пробирок, содержащих 3.3 mg контейнеров с Гф и 0.7 mL воды, в нужный момент времени от суспензии отбирали аликвоту 60  $\mu$ L, разбавляли ее 70%-ным этанолом в 80 раз для растворения высвободившегося Гф и центрифугировали 2 min при 5000 rpm для отделения микроконтейнеров. Концентрацию Гф в супернатанте определяли, измеряя интенсивность его флуоресценции в диапазоне 319–500 nm при возбуждении при 292 nm на приборе Synergy H1 (BioTek, США). Исходные пробирки с образцами ватерита с включенным Гф снова возвращали в эксперимент. Для каждой временной точки исследований проводили три независимых измерения, которые затем использовали для расчета стандартного отклонения.

На следующем этапе для растворения кристаллов Гф, появившихся в растворе после его высвобождения из контейнеров, использовали более эффективный, чем этанол, полярный органический растворитель ДМФА (ЭкоХимАналит, Россия). Для этого к каждому образцу, содержащему 3.3 mg контейнеров с антимикотиком и 0.7 mL воды (водная суспензия ватеритных контейнеров с антимикотиком), непосредственно перед измерением спектров поглощения в нужный момент времени добавляли 0.7 mL ДМФА. Таким образом, соотношение ДМФА:H<sub>2</sub>O в результирующей смеси составляло 1:1 (vol%). Полученную суспензию тщательно перемешивали в течение 2 min для растворения кристаллов Гф, центрифугировали 2 min при 5000 rpm для отделения микроконтейнеров, отбирали аликвоту жидкой фазы и снимали спектры поглощения в стандартной кварцевой кювете  $l = 1$  cm на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Shimadzu, Япония). Для исключения неполного растворения Гф в растворе перед записью спектров аликвоту разбавляли смесью ДМФА:H<sub>2</sub>O в соотношении 1:1 в 100 раз. Максимум поглощения Гф в растворе ДМФА:H<sub>2</sub>O находился при длине волны 294 nm. Для каждой временной точки исследований проводили три независимых измерения, которые затем использовали для расчета стандартного отклонения. Для каждого измерения использовали отдельную пробирку с образцом.

## Мониторинг состояния контейнеров методом спектроскопии комбинационного рассеяния

Процесс деградации ватеритных контейнеров и высвобождение Гф из них в воде исследовали с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния (КР), используя спектрометр Renishaw InVia (Renishaw, Великобритания) с объективом 50X/0.5 n.a., на длине волны лазера 532 nm, мощностью 15 mW и CCD-детектором в диапазоне колебательных частот от 600 до 2000  $\text{cm}^{-1}$ . Погрешность положения пика была менее 0.1  $\text{cm}^{-1}$  (калибровку системы перед измерениями проводили после лазерной термостабилизации с использованием эталонного образца кремния [26]). Идентификацию химического состава объектов проводили с использованием программного обеспечения спектрометра в матрице точек  $10 \times 10$  с шагом 2  $\mu\text{m}$ .

## Результаты и обсуждение

Размер частиц ватерита, содержащих противогрибковый препарат Гф, был равен  $1.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$ , загрузка Гф в ватеритные контейнеры составила 200  $\mu\text{g}$  препарата на 1 mg контейнеров. Измерение дзета-потенциала полученных контейнеров показало, что включение Гф в матрицу ватеритных частиц практически не повлияло на их электрокинетический потенциал, поскольку молекула Гф не имеет заряженных функциональных групп. Так,  $\xi$ -потенциал ненагруженных и нагруженных Гф частиц ватерита составил  $-5.0 \pm 0.8$  mV и  $-7.0 \pm 1.2$  mV соответственно. СЭМ-изображения полученных контейнеров представлены на рис. 1.

На рис. 2 представлены СЭМ-изображения контейнеров с антимикотиком, полученные через различные временные промежутки в ходе их инкубации в деионизованной воде. Изображения позволяют проследить структурно-морфологические изменения контейнеров. Необходимо принять во внимание, что незначительное количество свободных кристаллов Гф присутствует в исходном образце до начала эксперимента (рис. 2, *a*). Можно заметить, что через 24 h после начала инкубации образуются кубические кристаллы кальцита, свидетельствующие о начале процесса перекристаллизации метастабильных микрочастиц ватерита (рис. 2, *b*). Данный процесс завершился полным замещением фазы ватерита фазой кальцита через 72 h инкубации (рис. 2, *d*). Вследствие того, что Гф нерастворим в воде, его высвобождение из ватеритных контейнеров сопровождалось агрегацией отдельных мелких частиц в крупные скопления кристаллов и их осаждением на протяжении всего эксперимента. На изображениях четко различимы такие кристаллы Гф. На вставке на рис. 2, *d* представлены отдельные кристаллы Гф, дающие представление о его морфологии и позволяющие идентифицировать Гф на остальных СЭМ-изображениях. Небольшое количество кристаллов Гф было обнаружено также в исходном

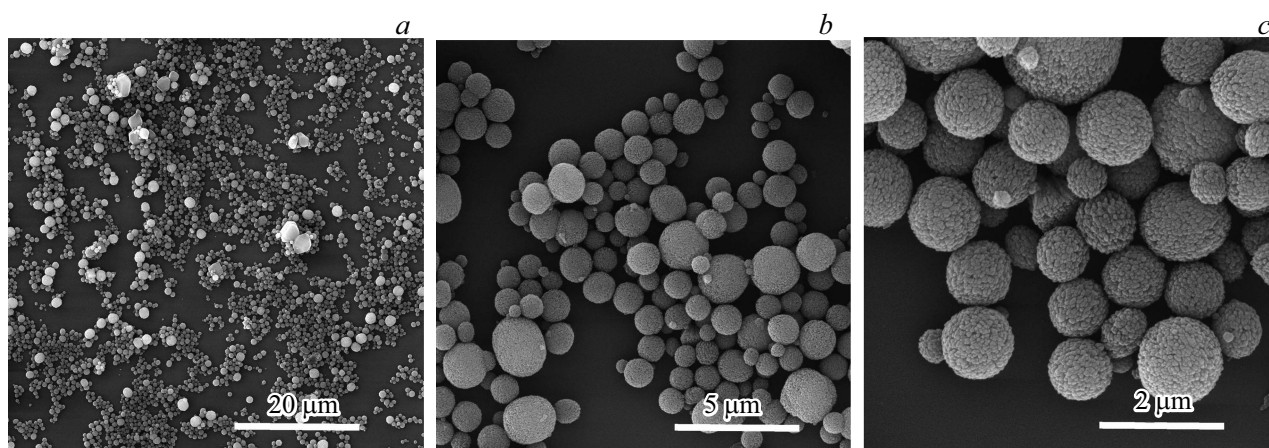


Рис. 1. СЭМ-изображения ватеритных контейнеров, содержащих противогрибковый препарат Гф.

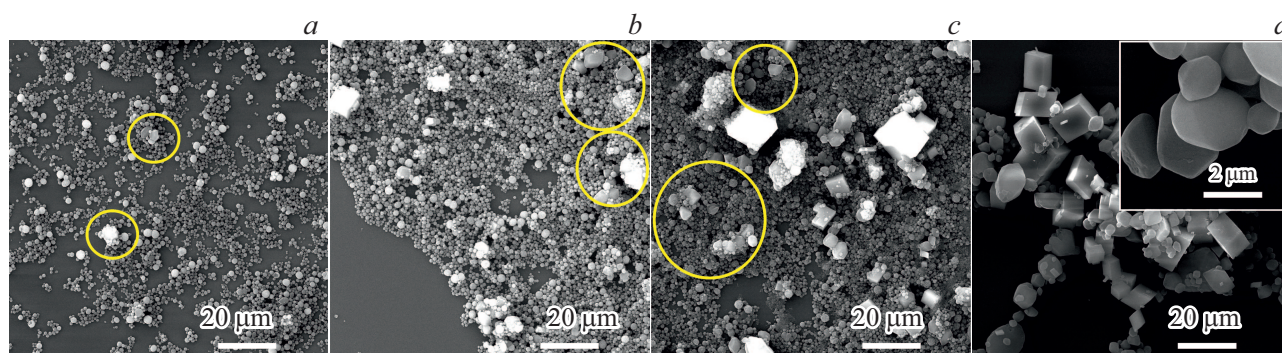


Рис. 2. СЭМ-изображения ватеритных контейнеров, содержащих противогрибковый препарат Гф, полученные в разные моменты времени в ходе инкубации в деионизованной воде: 5 min (*a*), 24 (*b*), 48 (*c*) и 72 h инкубации (*d*). На вставке рисунка *d* приведено увеличенное изображение отдельно лежащего кристалла Гф. Желтыми окружностями выделены области скопления кристаллов Гф.

образце (рис. 1, *a*) и через 5 min после начала эксперимента (рис. 2, *a*). С течением времени число таких кристаллов и их размер заметно увеличивались (рис. 2, *c*, *d*), отмечалась также их агрегация с частицами ватерита (рис. 2, *c*). Данные явления негативно сказываются на точности определения концентрации антимикотика в исследуемых суспензиях.

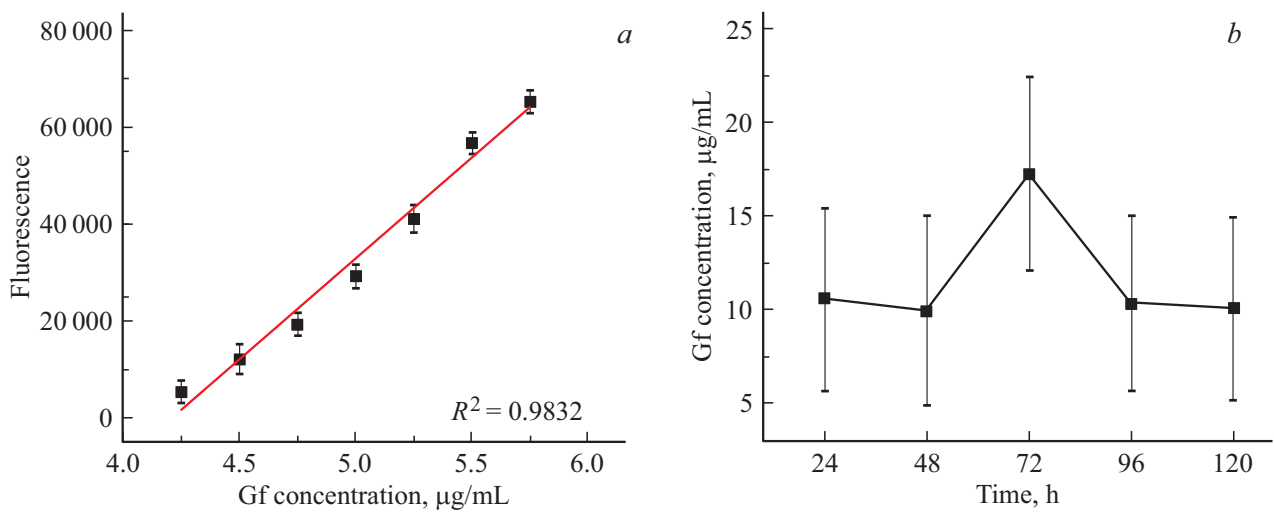
Таким образом, полученные данные выявили необходимость подбора растворителя, способного селективно переводить Гф в молекулярно-дисперсное состояние, для которого выполняется основной закон светопоглощения, справедливый для однородной и изотропной среды [27]. Для указанной цели апробировали два растворителя: протондонорный этанол, который способен ограниченно растворять Гф за счет возможного образования водородной связи по шести атомам кислорода и атому хлора в его молекуле, и сильный сольватирующий растворитель ДМФА, способный хорошо растворять Гф [28], видимо, за счет большого дипольного момента молекулы.

На рис. 3 представлена калибровочная кривая, полученная для растворов Гф в 70%-этаноле (*a*), а также кривая кинетики высвобождения Гф из микрочастиц

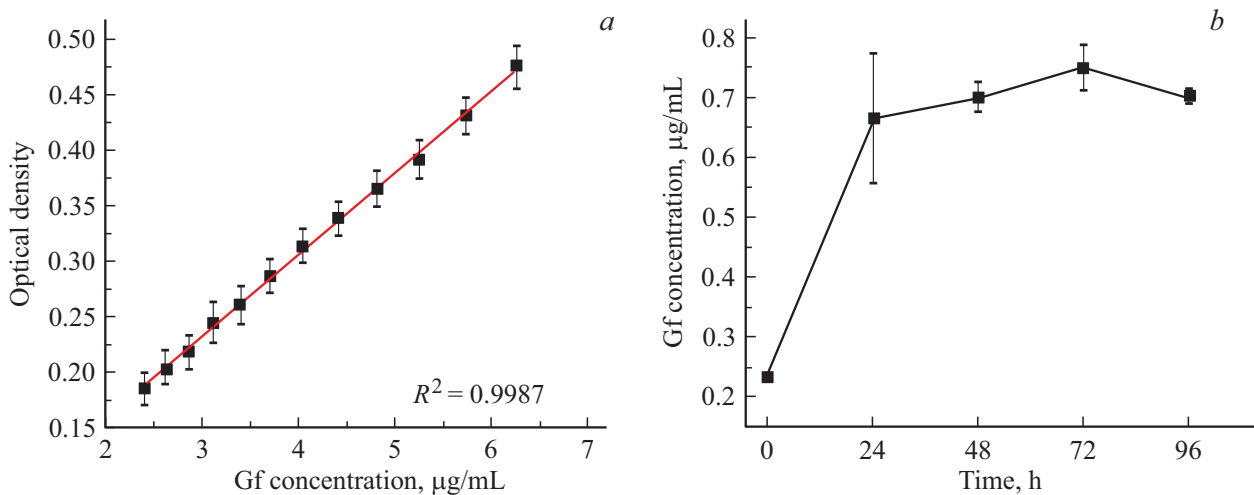
ватерита в воде, полученная при разведении проб в этаноле и последующего их флуориметрического определения (*b*). Следует отметить, что интервал линейной зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации Гф необычно узкий, что не характерно для этого метода и может быть связано с одновременным присутствием в растворе как молекул Гф, так и их агрегатов. Гризеофульвин имеет ограниченную растворимость в этаноле и, как следствие, инкубации проб в этаноле оказалось недостаточным для того, чтобы растворить его крупные агрегаты. Поэтому, как видно из рис. 3, *b*, кривая отображает не кинетику процесса, а скорее, предельную растворимость Гф в данном растворителе.

В связи с этим для повышения растворимости Гф и, следовательно, правильности и точности определения его концентрации в супернатантах далее использовали более сильный растворитель ДМФА. Процедура проведения исследования описана выше в экспериментальной части. Данная процедура позволяла добиться максимального растворения кристаллов Гф, имеющихся в образце в конкретный момент времени.

На рис. 4, *a* представлена калибровочная кривая, полученная для Гф в растворе ДМФА:Н<sub>2</sub>O в соотношении



**Рис. 3.** Калибровочная кривая для определения концентрации Гф флуориметрическим методом в 70%-этаноле,  $\lambda_{\text{фл}} = 413 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{возб}} = 292 \text{ nm}$  (a); зависимость концентрации Гф от времени при его высвобождении из ватеритных контейнеров в воде, полученная флуориметрическим методом по калибровочному графику при добавлении к водной суспензии контейнеров этанола (b). Значения на кривых (a) и (b) представляют собой „среднее  $\pm$  стандартное отклонение“, рассчитанные на основе трех независимых измерений для каждой точки.

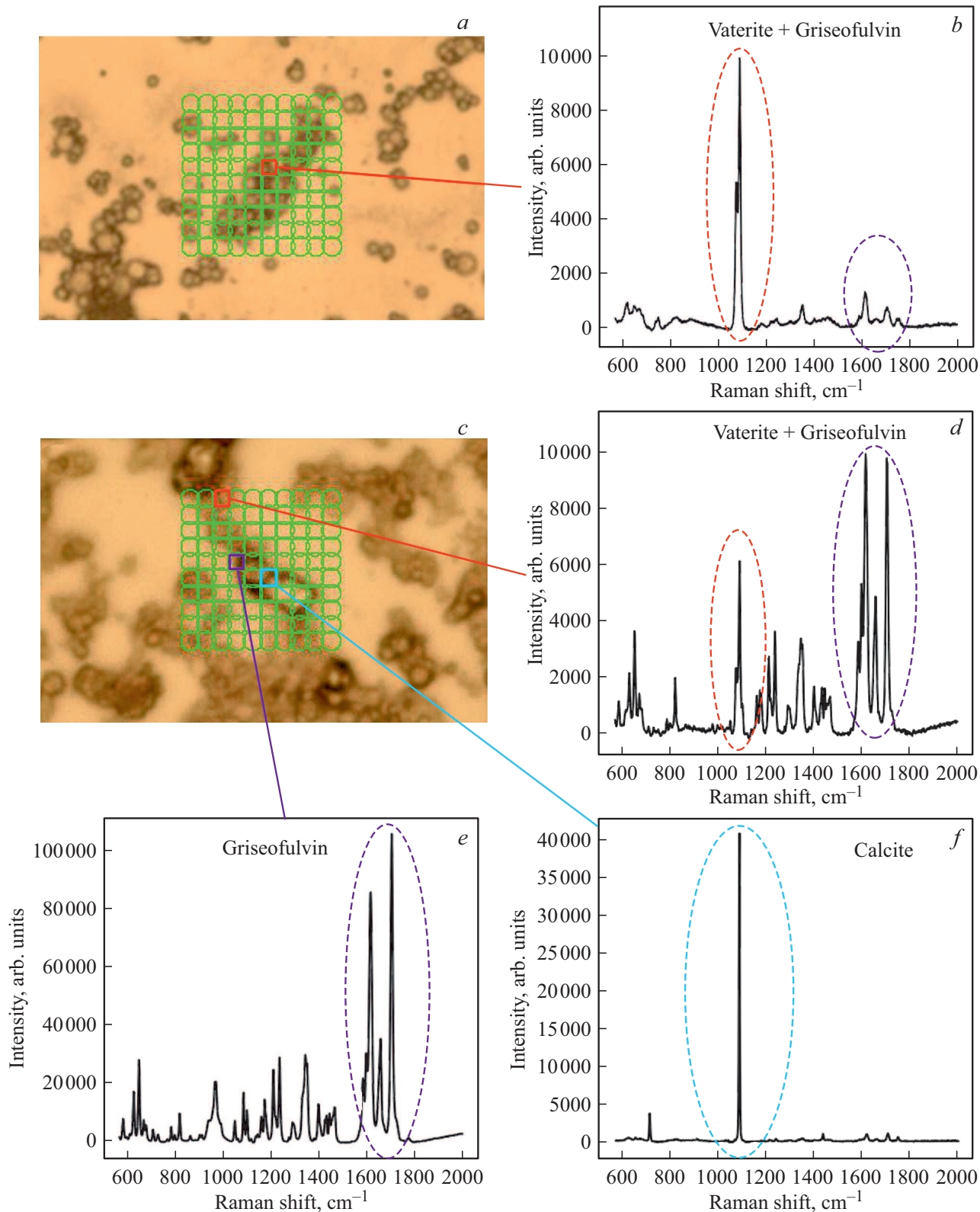


**Рис. 4.** Калибровочная кривая для определения Гф спектрофотометрическим методом в смеси ДМФА:Н<sub>2</sub>О (1:1),  $\lambda_{\text{погл}} = 294 \text{ nm}$  (a); кинетическая кривая процесса высвобождения Гф из ватеритных контейнеров в воде, полученная спектрофотометрическим методом по калибровочному графику при добавлении к водной суспензии контейнеров ДМФА (b). Значения на кривых (a) и (b) представляют собой „среднее  $\pm$  стандартное отклонение“, рассчитанные на основе трех независимых измерений для каждой точки.

1:1 при измерении оптической плотности раствора в максимуме спектра при  $\lambda_{\text{макс}} = 294 \text{ nm}$ . Важно отметить, что в случае ДМФА:Н<sub>2</sub>О калибровочная кривая демонстрирует более линейный характер в большем диапазоне концентраций Гф и имеет лучший коэффициент аппроксимации, чем в случае 70%-этанола, где флуктуации точек относительно аппроксимирующей прямой свидетельствуют о флуктуациях концентраций Гф в растворе вследствие его худшей растворимости (рис. 3, a). В УФ спектре Гф, приготовленном в растворе ДМФА:Н<sub>2</sub>О, имелись характерные максимумы поглощения при 260,

294 nm, плечо в области 315–360 nm и минимум при 272 nm.

На рис. 4, b представлена кривая кинетики высвобождения Гф в воде, полученная путем добавления к водной суспензии контейнеров ДМФА и последующего спектрофотометрического определения Гф в полученном растворе. Установлено, что Гф с наибольшей скоростью растворяется в первые 24 h, на насыщение кинетическая кривая выходила после 72 h инкубации. Это согласуется с изменениями, представленными на СЭМ-изображениях (рис. 2, d), свидетельствующими о



**Рис. 5.** Изображения ватеритных контейнеров, содержащих противогрибковый препарат Гф в начальный момент времени (*a*) и через 48 h инкубации в воде (*c*). Соответствующие спектры КР, полученные при исследовании ватеритных контейнеров, содержащих противогрибковый препарат Гф в начальный момент времени (*b*) и через 48 h инкубации в воде (*d, e, f*).

полном переходе ватерита в кальцит спустя 72 h инкубации в воде. Такой процесс перекристаллизации частиц всегда сопровождается практически полным высвобождением вещества, иммобилизованного в объеме исходной ватеритной матрицы [29].

Таким образом, можно сделать вывод, что при данных условиях эксперимента в ходе инкубации ватеритных контейнеров в воде полное высвобождение Гф, иммобилизованного в ватеритные контейнеры, происходит через 72 h, и при этом напрямую связано с процессом их перекристаллизации в кальцит, который практически не соосаждает Гф. Данное обстоятельство свидетельствует о том, что основная масса Гф в исходном образце была заключена в матрицу частиц ватерита, а инкубация в воде стимулировала его высвобождение, агрегацию и осаждение в виде кристаллов, как видно из СЭМ-изображений (рис. 2).

Для подтверждения факта изменения полиморфной модификации карбоната кальция (перекристаллизации ватерита в кальцит) и высвобождения препарата Гф из частиц ватерита в процессе инкубации контейнеров в воде, были исследованы КР-спектры полученного образца. На рис. 5 представлены спектры контейнеров, снятые в начальный момент времени (рис. 5, *a*), а также через 48 h инкубации в воде (рис. 5, *c*).

Спектр КР ватеритных контейнеров с Гф до инкубации (рис. 5, *a*) содержал ряд пиков, в числе которых стоит выделить интенсивный пик ватерита с волновым числом  $1090\text{ см}^{-1}$  (выделен красной пунктирной линией, рис. 5, *b*) [30,31], а также менее интенсивные пики Гф с волновыми числами в диапазонах  $600\text{--}800\text{ см}^{-1}$  и  $1600\text{--}1800\text{ см}^{-1}$  (выделены фиолетовой пунктирной линией, рис. 5, *b*) [32,33]. Спустя 48 h инкубации контейнеров в воде на видимом изображении были выявлены морфологические изменения в образце: четко обозначилось присутствие кристаллов Гф, частиц кальцита, а также сферических ватеритных контейнеров с Гф, для которых не произошла перекристаллизация в кальцитную модификацию. Полученные результаты полностью согласуются с данными, полученными методом СЭМ (рис. 2, *c*). Измерение КР-спектров для каждой из указанных фаз подтвердило наличие структурных изменений в образце (рис. 5, *c*). Так, в КР-спектрах, полученных для сферических частиц (спектр „Vaterite+Griseofulvin“ на рис. 5, *d*), были выявлены интенсивные пики Гф и менее интенсивный пик ватерита. Характерные пики Гф были также найдены в КР-спектрах, снятых с кристаллов свободного Гф (спектр „Griseofulvin“ на рис. 5, *e*). В то же время спектры, снятые с кубических частиц карбоната кальция („Calcite“ на рис. 5, *f*), обладали ярким характерным пиком кальцита с волновым числом  $1088\text{ см}^{-1}$  [34], а пики Гф в них отсутствовали.

## Выводы

Спектроскопическими методами в модельном варианте изучен процесс высвобождения противогрибкового препарата Гф, иммобилизованного в микроконтейнеры ватерита, в водном растворе, который может иметь место при введении таких носителей для лечения пациента. При сравнении протондонорного этанола и апротонного ДМФА, вводимых в водную суспензию микроконтейнеров, показано, что использование в качестве растворителя ДМФА позволяет полностью перевести в раствор весь высвобождающийся Гф, что было положено в основу методики его спектрофотометрического определения в супернатанте при деградации во времени кристаллов ватерита. Изучена кинетика процесса высвобождения водонерастворимого вещества в деионизованной воде из контейнеров на основе частиц карбоната кальция в ватеритной модификации и показано, что полное высвобождение антимикотика происходит через 72 h, что согласуется с данными, полученными методом КР-спектроскопии и СЭМ. На основе полученных результатов можно сделать вывод, что данный метод позволяет изучать поведение и характер кинетики высвобождения гидрофобного препарата из ватеритного микроконтейнера в водной среде. Применение данной методики представляется также перспективным для исследования кинетики высвобождения лекарств из систем доставки, для которых характерна высокая устойчивость в воде (например, галлуазитные или цеолитные носители, пористые частицы диоксида кремния). Предложенная методика для детектирования и исследования высвобождения из контейнеров-носителей в водной среде может быть адаптирована к широкому ряду лекарственных препаратов, которые нерастворимы в воде, включая как другие типы антимикотиков (нистатин), так и антибиотики (эритромицин) и антибактериальные препараты (нитрофура). Результаты, полученные спектроскопическими методами, представляют большой практический интерес для фармацевтики и биомедицинского материаловедения, а именно для повышения эффективности, биодоступности и безопасности лекарственных препаратов, а также для разработки и усовершенствования носителей и систем для адресной доставки.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность В.С. Аткину за помощь в проведении СЭМ.

## Финансирование работы

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Госзадания (№ FSRR-2020-0002).

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] Беликов В.Г. // Рос. хим журн. 2002. Т. XLVI. № 4. С. 52–56.
- [2] Khoshayand M.R., Abdollahi H., Shariatpanahi M., Saadatfard A., Mohammadi A. // Spectrochim. Acta A. 2008. V. 70. N 3. P. 491–499.
- [3] Государственная фармакопея Российской Федерации. Изд. 14-е. 7.1.[Электронный ресурс] Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
- [4] Электронный ресурс. Режим доступа: <https://apps.who.int/phint/2019/index.html#p/home>
- [5] Электронный ресурс. Режим доступа: <https://www.usp.org/>
- [6] Bhakay A., Rahman M., Dave R., Bilgili E. // Pharmaceutics. 2018. V. 10. N 3. P. 86.
- [7] Zhu P., Zhou L., Song Y., Cai L., Ji M., Wang J., Ruan G., Chen J. // J. Mat. Chem. B. 2020. V. 8. N 22. P. 4899–4907.
- [8] Prasad R., Dalvi S.V. // Cryst. Growth Des. 2019. V. 19. N 10. P. 5836–5849.
- [9] Wani R.J., Sharma P., Zhong H.A., Chauhan H. // ASSAY Drug Dev. Techn. 2020. V. 18. N 3. P. 109–118.
- [10] Aggarwal N., Goindi S. // Int. J. Pharm. 2012. V. 437. N1–2. P. 277–287.
- [11] Marto J., Vitor C., Guerreiro A., Severino C., Eleutério C., Ascenso A., Simões S. // Coll. Surf. B: Bioint. 2016. V. 146. P. 616–623.
- [12] Schreier H., Bouwstra J. // J. Control. Release. 1994. V. 30. N 1. P. 1–15.
- [13] Patel R., Patel H., Baria A. // Int. J. Drug Deliv. Technol. 2009. V. 1. N 2. P. 42–45.
- [14] Hussain A., Samad A., Singh S.K., Ahsan M.N., Haque M.W., Faruk A., Ahmed F.J. // Drug. Deliv. 2016. V. 23. N 2. P. 642–657.
- [15] Shishoo C., Chudasama A., Patel V., Nivsarkar M., Vasu K. // J. Adv. Pharm. Technol. Res. 2011. V. 2. N 1. P. 30.
- [16] Rajpoot P., Pathak K., Bali V. // Recent. Pat. Drug. Deliv. Formul. 2011. V. 5. N 2. P. 163–172.
- [17] Verma P., Pathak K. // Nanomedicine: NBM. 2012. V. 8. N 4. P. 489–496.
- [18] Jain S., Jain S., Khare P., Gulbake A., Bansal D., Jain S.K. Drug. Deliv. 2010. V. 17. N 6. P. 443–451.
- [19] Firooz A., Nafisi S., Maibach H.I. // Int. J. Pharm. 2015. V. 495. N 1. P. 599–607.
- [20] Gusliakova O.I., Lengert E.V., Atkin V.S., Tuchin V.V., Svenskaya Yu.I. // Opt. Spectrosc. 2019. V. 126. N 5. P. 539–544.
- [21] Lengert E., Verkhovskii R., Yurasov N., Genina E., Svenskaya Y. // Mat. Lett. 2019. V. 248. P. 211–213.
- [22] Gusliakova O., Verkhovskii R., Abalymov A., Lengert E., Kozlova A., Atkin V., Nechaeva O., Morrison A., Tuchin V., Svenskaya Y. // Mater. Sci. Eng. C. 2021. V. 119. P. 111428.
- [23] Kumar L., Verma S., Bhardwaj A., Vaidya S., Vaidya B. // Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. 2014. V. 42. N 1. P. 32–46.
- [24] Jambhrunkar S., Qu Z., Popat A., Karmakar S., Xu C., Yu C. // J. Colloid Interface Sci. 2014. V. 434. P. 218–225.
- [25] Verkhovskii R.A., Lengert E.V., Saveleva M.S., Kozlova A.A., Tuchin V.V., Svenskaya Yu.I. // Opt. Spectrosc. 2020. V. 128. N 6. P. 799–808.
- [26] Dashty M. // Diabetes Metab. 2016. V. 7. N 7. P. 1–9.
- [27] Фетисов Г.В., Алов Н.В., Василенко И.А. Аналитическая химия. Т. 2 Инструментальные методы анализа. Часть 1 / Под ред. Ищенко А.А. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2019. 472 с.
- [28] Электронный ресурс. Режим доступа: URL: <https://xumuk.ru/encyklopedia/1151.html>
- [29] Sveskaya Yu.I., Parakhonskiy B.V., Haase A., Atkin V., Lukyanets E., Gorin D.A., Antolini R. // Biophys. Chem. 2013. V. 182. P. 11–15.
- [30] Kontoyannis C.G., Vagenas N.V. // Analyst. 2000. V. 125. N 2. P. 251–255.
- [31] Wehrmeister U., Soldati A.L., Jacob D.E., Häger T., Hofmeister W. // J. Raman Spectrosc. 2010. V. 41. N 2. P. 193–201.
- [32] Zarów A., Zhou B.O., Wang X., Pinal R., Iqbal Z. // Appl. Spectrosc. 2011. V. 65. N 2. P. 135–143.
- [33] Smith G.P.S., Huff G.S., Gordon K.C. // Spectroscopy (Springf). 2016. V. 31. N 2. P. 42–50.
- [34] Zhang X., Guo J., Wu S., Chen F., Yang Y. // Sci. Rep. 2020. V. 10. N 1. P. 168.