

СРАВНЕНИЕ СПОСОБОВ ИНКАПСУЛИРОВАНИЯ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ КАПСУЛЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА

© С. В. Шилова, Г. М. Миргалеев, А. Я. Третьякова, В. П. Барабанов

Казанский национальный исследовательский технологический университет,
420015, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 68
E-mail: s_shilova74@mail.ru

Поступила в Редакцию 3 февраля 2021 г.

После доработки 2 июня 2021 г.

Принята к публикации 16 июня 2021 г.

Методом послойной адсорбции природных полисахаридов хитозана и натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы на микрочастицы карбоната кальция получены многослойные микрокапсулы с инкапсулированной ацетилсалициловой кислотой. Проведено сравнение трех способов включения модельного лекарственного средства: способа, основанного на физической адсорбции ацетилсалициловой кислоты в порах микрочастиц карбоната кальция, способа совместного осаждения кислоты с материалом неорганического темплата в процессе его получения и способа, в основе которого лежит инкорпирование кислоты в полые капсулы за счет изменения проницаемости их оболочек. Предложен способ варьирования проницаемости капсул, основанный на изменении полярности растворителя путем введения в водный раствор 50 об% этанола, посредством которого были получены микрокапсулы с наиболее высокой эффективностью инкапсулирования ацетилсалициловой кислоты и не допускающие высвобождение в кислых средах.

Ключевые слова: хитозан; натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы; ацетилсалициловая кислота; полиэлектролитные капсулы; метод послойной адсорбции

DOI: 10.31857/S0044461821070094

Исследования последних лет показали, что перспективным способом, обеспечивающим адресную доставку активных компонентов лекарственных средств к патологическим образованиям, органам и тканям организма человека, а также их хранение и контролируемое высвобождение, является заключение лекарственных средств в нано- и микрокапсулы [1]. Перспективным методом капсулирования является метод послойной адсорбции, который заключается в поочередной адсорбции полиэлектролитов на частицы капсулируемого вещества либо частицы вспомогательного неорганического темплата [2–4]. Движущей силой формирования такой многослойной

структуры является электростатическое взаимодействие разноименно заряженных функциональных групп полиэлектролитов. Данная технология позволяет проводить капсулирование в условиях, соответствующих физиологической среде (низкая температура, определенный диапазон pH), что особенно важно при работе с лабильными биоактивными веществами.

Широко применяемым полимером в биомедицине и фармакологии, в том числе и для получения оболочек микрокапсул, является природный катионный полиэлектролит хитозан [5–7]. Это обусловлено комплексом биологических и физико-химических свойств, среди которых можно выделить биосовме-

стимость с тканями живых организмов, биodeградируемость, антимикробное действие, способность к волокну- и пленкообразованию, комплексообразованию с полиэлектролитами и поверхностно-активными веществами [8–10].

Для получения капсул с требуемыми характеристиками необходим подбор условий коллоидного синтеза (температурный, концентрационный, кинетический режимы), уникальный для сочетания используемых для создания оболочки полиэлектролитов и инкапсулируемого лекарственного средства. Одним из способов регулирования проницаемости капсул, полученных методом послойной адсорбции полиэлектролитов, является использование растворителей различной природы и полярности, которые могут оказывать влияние на структуру полиэлектролитных комплексов [11].

Цель работы — получение микрокапсул на основе биосовместимых биodeградируемых полиэлектролитов хитозана и натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы, обеспечивающих высокую эффективность инкапсулирования модельного лекарственного средства.

Экспериментальная часть

В работе применяли образцы хитозана с $M = 3.8 \cdot 10^4$, степенью деацетилирования 80% (ЗАО «Биопрогресс») и высокомолекулярной натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы ($M = 1.2 \cdot 10^6$, степень замещения 0.8%, Panreac). В качестве модельного лекарственного средства использовали ацетилсалициловую кислоту ($\geq 99.0\%$, Sigma-Aldrich, кат. номер A5376). При приготовлении растворов применяли бидистиллированную воду и смесь воды с этанолом (ос.ч., ООО «Компонент-Реактив») с содержанием спирта 50 об%. Бидистиллированную воду получали на установке «Бидистиллятор стеклянный БС» (ПАО «Химлаборприбор»), работающей по принципу двойной перегонки воды. Чистоту воды контролировали по величине удельной электропроводности, которая составляла 1.0–3.0 мкСм·см⁻¹.

Капсулы получали методом послойной адсорбции хитозана и натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы на микрочастицы карбоната кальция. CaCO₃ получали методом химического осаждения с использованием солей Na₂CO₃, CaCl₂·2H₂O (х.ч., АО «Реахим»). Смесь растворов 0.33 М Na₂CO₃ и 0.33 М CaCl₂ перемешивали на магнитной мешалке в течение 60 с, затем образовавшуюся суспензию выдерживали 5 мин до полной кристаллизации CaCO₃. Полученный осадок отделяли центрифугированием (3000 об·мин⁻¹) в

течение 5 мин, промывали бидистиллированной водой, затем повторяли процедуру центрифугирования при тех же условиях. Полученные частицы CaCO₃ сушили 1.5–2 ч при $T = 50–60^\circ\text{C}$ в сушильном шкафу, затем хранили в закрытой пробирке при комнатной температуре.

Микрочастицы CaCO₃ (20 мг) ресуспендировали в 1 мл водного раствора хитозана (2 мг·мл⁻¹), содержащем 0.5 М NaCl (х.ч., АО «Реахим») (с целью подавления эффекта полиэлектролитного набухания). Частицы инкубировали при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке в течение 15 мин. Излишек полимера удаляли центрифугированием в течение 5 мин при 3000 об·мин⁻¹. Осадок промывали 1 мл раствора 0.5 М NaCl и повторно центрифугировали. Далее проводили адсорбцию натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (1 мг·мл⁻¹). Для предотвращения агрегации частиц в процессе адсорбции полиэлектролитов суспензию подвергали ультразвуковой обработке (ультразвуковая ванна Ya Xun YX-9050, мощность 50 W) в течение 3–5 с.

После необходимого числа стадий адсорбции полиэлектролитов проводили удаление карбоната кальция из ядра микрочастиц обработкой 0.2 М раствором Трилона Б ($\geq 99.0\%$, Sigma-Aldrich, кат. номер 03660). Процедуру выполняли до полного растворения карбонатной матрицы. Далее проводили отделение капсул путем центрифугирования в течение 5 мин при 3000 об·мин⁻¹.

Удельную электропроводность воды измеряли с помощью кондуктометра SevenCompact S230 (Mettler Toledo). Средний размер частиц и дзета-потенциал поверхности капсул определяли методом динамического рассеяния света на анализаторе размера частиц серии Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments Ltd), оснащенном гелий-неоновым лазером (633 нм, 4 мВт). Обработку результатов измерений проводили с помощью программного обеспечения DTS Application Software компании Malvern Instruments. Определение электрокинетического потенциала поверхности капсул осуществляли методом электрофоретического рассеяния света с применением технологии M3-PALS (использование быстро и медленно переменного электрического поля наряду с фазовым и частотным анализом рассеянного света).

Процесс высвобождения ацетилсалициловой кислоты из капсул проводили в условиях *in vitro* в модельных средах, соответствующих pH желудочного и кишечного содержимого. Среда подбирали в соответствии с требованиями к проведению испытания «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» 2 группы (кишечнорастворимые

капсулы). * В качестве среды растворения 1, соответствующей кислой среде желудка, использовали 0.1 М раствор HCl (ос.ч., АО «Реахим»). Для приготовления среды растворения 2, соответствующей щелочной среде кишечника, к 75 мл среды растворения 1 прибавляли 25 мл фосфатного буфера и доводили pH до 6.8 ± 0.05 с помощью 2 М раствора NaOH (ч.д.а, АО «Реахим»). Профили высвобождения сопоставляли с требованиями испытания для каждой стадии растворения (кислотной и щелочной).

Концентрацию ацетилсалициловой кислоты в среде растворения оценивали спектрофотометрически в УФ-диапазоне на сканирующем двухлучевом спектрофотометре Lambda 35 (Perkin Elmer Instrumental). Пробу объемом 3 см³ отбирали и переносили в кварцевую кювету, после измерения сразу возвращали обратно в исходную систему. Обработку спектров проводили при помощи программного обеспечения UV WinLab. Высвобождение кислоты контролировали по величине оптической плотности в максимуме поглощения 230 нм и при длине волны 299 нм, соответствующей поглощению продукта щелочного гидролиза ацетилсалициловой кислоты — салициловой кислоте, которая является ее главным метаболитом. Концентрацию кислоты рассчитывали на основе закона Бугера–Ламберта–Бера. Эффективность инкапсулирования кислоты оценивали по разности исходного количества ацетилсалициловой кислоты, взятого для инкапсулирования, и равновесного количества ацетилсалициловой кислоты в растворе.

Обсуждение результатов

Инкапсулирование ацетилсалициловой кислоты в капсулы проводили тремя способами: сорбцией в порах (способ 1) [12], соосаждением (способ 2) [13] и способом, основанным на контролируемой проницаемости стенок капсул (способ 3). Первый способ инкапсулирования заключался в адсорбции кислоты на поверхности микрочастиц карбоната кальция. Включение лекарственного средства происходило в результате его физической адсорбции в порах заранее полученных микрочастиц CaCO₃. Второй способ заключался в инкапсулировании ацетилсалициловой кислоты в частицы CaCO₃ за счет совместного осаждения капсулируемого вещества с материалом темплата в процессе получения CaCO₃ при взаимодействии Na₂CO₃ и CaCl₂. После иммобилизации

ацетилсалициловой кислоты в микрочастицы карбоната кальция по первому и второму способам на поверхности частиц были сформированы полиэлектролитные оболочки.

Предварительно был проведен подбор оптимальных концентраций полимеров (хитозана и натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы) для формирования полиэлектролитных слоев на поверхности частиц CaCO₃. Вследствие различной молекулярной массы полимеров и за счет различающейся степени деацетилирования образца хитозана и степени замещения образца карбоксиметилцеллюлозы суммарный заряд макроионов использованных полиэлектролитов различен. Исходные концентрации полимеров подбирались таким образом, чтобы обеспечить изменение знака электрокинетического потенциала после нанесения очередного слоя полиэлектролита. В результате проведенных исследований были выбраны следующие концентрации полимеров: хитозана — 2 мг·мл⁻¹, натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы — 1 мг·мл⁻¹. Методом послойной адсорбции полиэлектролитов на частицах карбоната кальция и последующего удаления CaCO₃ из ядра микрочастиц были получены одно-, двух-, трех-, четырех- и пяти-слойные капсулы с инкапсулированным лекарственным средством.

Формирование многослойной полиэлектролитной оболочки на поверхности микрочастиц CaCO₃ контролировали путем измерения электрокинетического потенциала частиц после каждого этапа адсорбции полиэлектролитов (табл. 1). Смена знака заряда ζ-потенциала частиц после очередной стадии адсорбции противоположно заряженных макромолекул полиэлектролитов свидетельствовала об их сверхэквивалентном связывании. С увеличением количества нанесенных слоев размер капсул возрастает, что так-

Таблица 1

Средний размер d и электрокинетический потенциал ζ капсул

Количество слоев хитозана и натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы	d , мкм	ζ , мВ
Частицы CaCO ₃	3.8	-9.3
1	4.1	+2.8
2	4.4	-12.3
3	5.8	+3.7
4	6.3	-20.5
5	6.7	+5.6

* ОФС.1.4.2.0014.15. Растворение для твердых дозированных лекарственных форм. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М., 2018.

же подтверждает факт последовательной адсорбции полимеров (табл. 1).

Образование многослойной оболочки капсул происходит за счет формирования полиэлектролитного комплекса в результате электростатического взаимодействия противоположно заряженных групп полиэлектролитов. Дополнительной стабилизации формирующихся супрамолекулярных структур могут способствовать и другие образующиеся нековалентные межмолекулярные связи (водородные, гидрофобные взаимодействия) [14, 15]. В силу особенностей механизма формирования полиэлектролитные комплексы относятся к полимерным системам, проявляющим высокую восприимчивость к изменениям внешних факторов. Их фазовое состояние и устойчивость можно регулировать, варьируя природу полиэлектролитов, ионную силу раствора, pH, температуру, состав растворителя и т. д. [16, 17].

Одним из способов влияния на структуру полиэлектролитных комплексов и соответственно изменение проницаемости стенок капсул является использование растворителей различной природы и полярности. Для исследования нами были выбраны водно-этанольные смеси. Изменяя концентрацию этанола в водно-спиртовом растворителе, можно в широких пределах менять полярность смешанного растворителя и варьировать интенсивность гидрофобных взаимодействий. Выбор этанола в качестве соразтворителя также связан с тем, что данное вещество относится к эндогенным биологически активным веществам, которые участвуют в метаболических процессах в организме человека и имеют выраженную физиологическую активность.

Проницаемость полиэлектролитных стенок полых капсул изучали, используя в качестве растворителя смесь состава 50 об% этанола + 50 об% воды. Присутствие такого количества спирта приводит к уменьшению диэлектрической проницаемости растворителя с 81 до 36 [18]. Предварительно проведенные исследования формирования полиэлектролитных комплексов хитозана и натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы в водно-этанольных средах [19] показали, что с ростом содержания спирта в растворителе до 50 об% наблюдается постепенное ослабление интенсивности электростатических взаимодействий противоположно заряженных групп полиэлектролитов и, как следствие, снижение комплексообразующей способности полимеров.

На основании полученных данных предложен способ инкапсулирования ацетилсалициловой кислоты, основанный на изменении проницаемости стенок капсул при варьировании полярности растворителя

(способ 3). В водно-этанольный раствор (50 об% этанола + 50 об% воды) ацетилсалициловой кислоты помещали полые микрокапсулы (эксперименты проводили для пятислойных капсул). Происходило проникновение кислоты внутрь капсул, поскольку при снижении диэлектрической проницаемости среды наблюдается появление дефектов в полиэлектролитных стенках капсул вследствие значительного ослабления электростатического взаимодействия хитозана с карбоксиметилцеллюлозой и оболочка капсул становится проницаемой для ацетилсалициловой кислоты. Затем добавляли избыток воды, взаимодействие полиэлектролитов в стенках капсул усиливалось. Полиэлектролитная оболочка восстанавливалась, кислота оставалась внутри капсул. Идея регулирования проницаемости стенок многослойных капсул основана на том, что изменение pH или полярности растворителя может приводить к появлению в стенках капсул пор вследствие нарушения строения полиэлектролитного комплекса, диаметр которых составляет около 100 нм [20]. Схожая методика была применена для эффективного инкапсулирования уреазы в полимерные микрокапсулы, полученные методом послойной адсорбции полиаллиламина и полистиролсульфоната [11].

Процесс инкапсулирования лекарственного средства контролировали спектрофотометрически. На спектрах поглощения этанольных растворов ацетилсалициловой кислоты различной концентрации отмечаются максимумы поглощения при длинах волн 228 ± 2 и 280 ± 2 нм, что согласуется с литературными данными [21]. Интервал линейной зависимости оптической плотности от концентрации ацетилсалициловой кислоты составил $0.02-0.2$ мг·мл⁻¹.

На основании расчета равновесной концентрации ацетилсалициловой кислоты была оценена эффективность различных способов инкапсулирования лекарственного средства в капсулы (табл. 2). Следует отметить, что при использовании способов, основанных на физической сорбции в порах и соосаждении, эффективность инкапсулирования кислоты была низка. Наименее эффективен способ физической сорбции в порах частиц карбоната кальция. По-видимому, это можно объяснить тем, что наличие карбоксильной группы в ацетилсалициловой кислоте препятствует физической сорбции на отрицательно заряженной поверхности микрочастиц CaCO₃ за счет преобладания электростатических сил отталкивания.

При оценке эффективности инкапсулирования ацетилсалициловой кислоты способом 3, основанным на контролируемой проницаемости полиэлектролитной оболочки, были выявлены изменения в

Таблица 2
Эффективность инкапсулирования ацетилсалициловой кислоты в капсулы

Способ включения ацетилсалициловой кислоты	Исходная концентрация, мг·мл ⁻¹	Равновесная концентрация, мг·мл ⁻¹	Эффективность инкапсулирования, %
1	1.8	1.697	5.7
2	0.24	0.191	20.8
3	1.0	0.152	84.8

Таблица 3
Кинетика инкапсулирования ацетилсалициловой кислоты в капсулы

Время инкапсулирования, мин	Равновесная концентрация ацетилсалициловой кислоты, мг·мл ⁻¹	Эффективность инкапсулирования, %
30	0.152	84.8
60	0.144	85.6
90	0.204	79.6
120	0.228	77.2
150	0.252	74.8

спектрах поглощения ацетилсалициловой кислоты в супернатанте, что затруднило процедуру определения равновесной концентрации кислоты. Электронный спектр характеризовался наличием одного максимума поглощения при 230 нм в отличие от λ_{max} , равных 228 и 281 нм, обнаруженных в спектрах поглощения индивидуальных растворов кислоты. Наблюдаемые спектральные изменения свидетельствуют о значительном влиянии оболочки капсул на электронную структуру ацетилсалициловой кислоты. Причиной, по-видимому, является взаимодействие кислоты с противоположно заряженными (за счет хитозана) внутренними и внешними стенками полиэлектролитной оболочки. Наличие карбоксильной группы в структуре кислоты обуславливает возможность ее комплексобразования с аминогруппами хитозана. Формирование комплексов стехиометрического состава обнаружено также при взаимодействии хитозана с антибиотиком цефотаксимом, имеющим в своем составе карбоксильную группу [22].

При капсулировании ацетилсалициловой кислоты способом 3 наблюдается более высокая эффективность включения лекарственного средства по сравнению со способами сорбции в порах и соосаждения (табл. 2). Можно предположить, что столь высокой эффективности инкапсулирования ацетилсалициловой кислоты в микрокапсулы способствует ее взаимодействие со слоями полиэлектролитной оболочки, которое и тормозит ее выход в объемную фазу. Следует отметить, что эффективность инкапсулирования зави-

сит от продолжительности процедуры инкапсулирования. Самая высокая степень включения отмечается при времени инкапсулирования 30–60 мин (табл. 3).

Важнейшей характеристикой при заключении лекарственного средства в капсулы является их способность к высвобождению субстрата. Скорость высвобождения ацетилсалициловой кислоты из капсул определяется диффузией через оболочку капсулы в объемную фазу и скоростью ее гидролиза. Кинетическая кривая высвобождения лекарственного средства в 0.1 М HCl выходит на плато за 120 мин, при этом высвобождается 7.3% кислоты. Далее на протяжении всего периода эксперимента (150, 180, 210, 240 мин) показатели высвобождения ацетилсалициловой кислоты из капсул в кислой среде остаются стабильно низкими. В щелочной среде наблюдалось медленное устойчивое высвобождение кислоты. Анализ отобранных через 90 мин проб показал, что в раствор перешло 84.1% ацетилсалициловой кислоты. Однако за изученный нами период (270 мин) кинетическая кривая не вышла на плато.

Выводы

При использовании способа инкапсулирования ацетилсалициловой кислоты, основанного на физической сорбции в порах частиц карбоната кальция, эффективность инкапсулирования лекарственного средства составила 6%. Эффективность инкапсулирования кислоты с использованием способа, основан-

ного на совместном осаждении кислоты с материалом неорганического темплата в процессе его получения, равна 21%. Наиболее высокую эффективность включения ацетилсалициловой кислоты (85%) демонстрирует способ, в основе которого лежит инкорпорирование кислоты в полые капсулы за счет изменения проницаемости их полиэлектролитных оболочек. Оптимальным временем инкапсулирования ацетилсалициловой кислоты в полые капсулы является 30–60 мин. Характер высвобождения лекарственного средства зависит от pH модельной среды. В кислую среду высвобождается 7% кислоты за 120 мин, а в щелочную среду — 84% и более.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Информация об авторах

Шилова Светлана Владимировна, д.х.н., доцент, профессор кафедры физической и коллоидной химии Казанского национального исследовательского технологического университета,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0887-8251>

Миргалеев Григорий Маратович,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6524-7926>

Третьякова Алла Яковлевна, к.х.н., доцент, профессор кафедры физической и коллоидной химии Казанского национального исследовательского технологического университета,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6251-7609>

Барабанов Вильям Петрович, д.х.н., проф., профессор кафедры физической и коллоидной химии Казанского национального исследовательского технологического университета,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3850-1890>

Список литературы

- [1] *Shah A., Aftab S., Iftikhar F.J., Nisar J., Ashiq M.N.* Nanocarriers for targeted drug delivery // *J. Drug. Deliv. Sci. Tec.* 2021. V. 62. ID 102426. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102426>
- [2] *Wohl B.M., Engbersen J.F.J.* Responsive layer-by-layer materials for drug delivery // *J. Control. Release.* 2012. V. 158. N 1. P. 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.08.035>
- [3] *Campbell J., Vikulina A.S.* Layer-by-layer assemblies of biopolymers: Build-up, mechanical stability and molecular dynamics // *Polymers.* 2020. V. 12. N 9. ID 1949. <https://doi.org/10.3390/polym12091949>
- [4] *Alkekhia D., Shukla D.A., Hammond P.T.* Layer-by-layer biomaterials for drug delivery // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2020. V. 22. ID 32084319. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-060418-052350>
- [5] *Zhao D., Yu S., Sun B., Gao S., Guo S., Zhao K.* Biomedical applications of chitosan and its derivative nanoparticles // *Polymers.* 2018. V. 10. N 4. P. 462–479. <https://doi.org/10.3390/polym10040462>
- [6] *Victor R.S., Santos A.M.C., Sousa B.V., Neves G.A., Santana L.N.L., Menezes R.R.* A review on chitosan's uses as biomaterial: Tissue engineering, drug delivery systems and cancer treatment // *Materials.* 2020. V. 13. N 21. ID 33171898. <https://doi.org/10.3390/ma13214995>
- [7] *Parhi R.* Drug delivery applications of chitin and chitosan: A review // *Environ. Chem. Lett.* 2020. V. 18. N 3. P. 577–594. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-00963-5>
- [8] *Паламарчук И. А., Бровко О. С., Боголицын К. Г., Бойцова Т. А., Ладесов А. В., Ивахнов А. Д.* Взаимосвязь структуры и ионообменных свойств полиэлектролитных комплексов на основе биополимеров // *ЖПХ.* 2015. Т. 88. № 1. С. 109–114 [*Palamarchuk I. A., Brovko O. S., Bogolitsyn K. G., Boitsova T. A., Ladesov A. V., Ivakhnov A. D.* Relationship of the structure and ion-exchange properties of polyelectrolyte complexes based on biopolymers // *Russ. J. Appl. Chem.* 2015. V. 88. N 1. P. 103–109. <https://doi.org/10.1134/S1070427215010152>].
- [9] *Шилова С. В., Зинурова О. А., Третьякова А. Я., Барабанов В. П.* Полимер-коллоидные комплексы хитозана с додецилсульфатом натрия в водно-спиртовых средах // *ЖПХ.* 2014. Т. 87. № 3. С. 350–359 [*Shilova S. V., Zinurova O. A., Tretyakova A. Y., Barabanov V. P.* Polymer colloid complexes of chitosan with sodium dodecyl sulfate in water–alcohol media // *Russ. J. Appl. Chem.* 2014. V. 87. N 3. P. 315–323. <https://doi.org/10.1134/S1070427214030124>].
- [10] *Quadrado R.F.N., Fajardo A.R.* Microparticles based on carboxymethyl starch/chitosan polyelectrolyte complex as vehicles for drug delivery systems // *Arab. J. Chem.* 2020. V. 13. N 1. P. 2183–2194. <https://doi.org/10.1016/j.arabj.2018.04.004>
- [11] *Lvov Y., Antipov A.A., Mamedov A., Möhwald H., Sukhorukov G.B.* Urease encapsulation in nanoorganized microshells // *Nanoletters.* 2001. V. 1. N 3. P. 125–128. <https://doi.org/10.1021/nl0100015>
- [12] *Sukhorukov G.B., Volodkin D.V., Gunther A.M., Petrov A.I., Shenoy D.B., Mohwald H.* Porous calcium carbonate microparticles as templates for encapsulation of bioactive compounds // *J. Mater. Chem.* 2004. V. 14. P. 2073–2081. <https://doi.org/10.1039/B402617A>

- [13] Volodkin D. CaCO₃ templated micro-beads and capsules for bioapplications // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2014. V. 207. P. 306–324. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.04.001>
- [14] Biesheuvel P. M., Stuart M. A. C. Electrostatic free energy of weakly charged macromolecules in solution and intermacromolecular complexes consisting of oppositely charged polymers // *Langmuir*. 2004. V. 20. P. 2785–2791. <https://doi.org/10.1021/la036204l>
- [15] Ferjaoui Z., Nahle S., Chang C. S., Ghanbaja J., Joubert O., Schneider R., Ferrari L., Gaffet E., Alem H. Layer-by-Layer self-assembly of polyelectrolytes on superparamagnetic nanoparticle surfaces // *ACS Omega*. 2020. V. 5. N 10. P. 4770–4777. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02963>
- [16] Кабанов В. А. Полиэлектrolитные комплексы в растворе и в конденсированной фазе // *Успехи химии*. 2005. Т. 74. № 1. С. 5–23 [Kabanov V. A. Polyelectrolyte complexes in solution and in bulk // *Russ. Chem. Rev.* 2005. V. 74. N 1. P. 3–20. <https://doi.org/10.1070/RC2005v074n01ABEH001165>].
- [17] Краюхина М. А., Самойлова Н. А., Ямсков И. А. Полиэлектrolитные комплексы хитозана: формирование, свойства и применение // *Успехи химии*. 2008. Т. 77. № 9. С. 854–869 [Krayukhina M. A., Samoilova N. A., Yamskov I. A. Polyelectrolyte complexes of chitosan: Formation, properties and applications // *Russ. Chem. Rev.* 2008. V. 77. N 9. P. 799–813. <https://doi.org/10.1070/RC2008v077n09ABEH003750>].
- [18] Райхардт К. Растворители и эффекты среды в органической химии / Пер. с англ. М.: Мир, 1991. С. 354–556 [Reichardt C. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*. New York: Wiley-VCH, 1988].
- [19] Шилова С. В., Миргалеев Г. М., Третьякова А. Я., Барабанов В. П. Полиэлектrolитные комплексы хитозана с натриевой солью карбоксиметилцеллюлозы в водно-спиртовых средах и микрокапсулы на их основе // *Высокомолекуляр. соединения*. 2020. Т. 62А. № 6. С. 413–419 [Shilova S. V., Mirgaleev G. M., Tret'yakova A. Ya., Barabanov V. P. Polyelectrolyte complexes of chitosan with sodium carboxymethyl cellulose in water-alcohol media and microcapsules based on them // *Polym. Sci. Ser. A*. 2020. V. 62. N 6. P. 630–635. <https://doi.org/10.1134/S0965545X20050156>].
- [20] Mendelson J., Barrett C., Chan V., Pal A., Mayes A., Rubner M. Fabrication of microporous thin films from polyelectrolyte multilayers // *Langmuir*. 2000. V. 16. P. 5017–5023. <https://doi.org/10.1021/la000075g>
- [21] Попова А. П., Корнеева И. Н., Савченко И. А., Бондаренко Д. Я., Антонов И. А., Комаровский И. В. Разработка методики определения кислоты ацетилсалициловой в растворах методом спектрофотометрии // *Международ. журн. прикладных и фундаментальных исследований*. 2016. № 7. С. 592–596.
- [22] Мударисова Р. Х., Кулиш Е. И., Зинатуллин Р. М., Таминдарова Н. Э., Колесов С. В., Хунафин С. Н., Монакова Ю. Б. Исследование взаимодействия хитозана с цефотаксимом // *ЖПХ*. 2006. Т. 79. № 7. С. 1220–1222 [Mudarisova R. Kh., Kulish E. I., Zinatullin R. M., Tamindarova N. E., Kolesov S. V., Khunafin S. N., Monakova Y. B. Interaction of chitosan with cefotaxime // *Russ. J. Appl. Chem.* 2006. V. 79. N 7. P. 1210–1212. <https://doi.org/10.1134/S1070427206070354>].
-