

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1538>
УДК 615.074



Оригинальная статья / Research article

Исследование динамики высвобождения дифлунизала из полимерной матрицы

П. А. Михайлова^{1, 2}✉, А. А. Адамова^{1, 4}, Ю. Э. Генералова^{1, 2},
П. П. Снетков^{2, 3}, С. Н. Морозкина^{2, 3}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО». 197101, Россия, г. Санкт-Петербург, Кронверкский пр., д. 49, лит. А

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России). 191036, Россия, г. Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (СПбГУ). 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

✉ Контактное лицо: Михайлова Полина Андреевна. E-mail: mikhaylova@scamt-itmo.ru

ORCID: П. А. Михайлова – <https://orcid.org/0009-0002-3806-6585>; А. А. Адамова – <https://orcid.org/0009-0002-5230-8106>;

Ю. Э. Генералова – <https://orcid.org/0000-0002-2573-6036>, П. П. Снетков – <https://orcid.org/0000-0001-9949-5709>;

С. Н. Морозкина – <https://orcid.org/0000-0003-0122-0251>.

Статья поступила: 29.08.2023

Статья принята в печать: 25.01.2024

Статья опубликована: 26.01.2024

Резюме

Введение. Клинически доказана эффективность дифлунизала при лечении амилоидоза сердца. В настоящее время в мире зарегистрированы только таблетированные формы дифлунизала, однако длительное применение НПВП приводит к характерным побочным эффектам. Поэтому сейчас активно разрабатываются системы доставки дифлунизала (в том числе формы для наружного применения), позволяющие уменьшить побочные эффекты, улучшить его биодоступность.

Цель. Изучение динамики высвобождения действующего вещества дифлунизала из полимерной матрицы гиалуроновой кислоты.

Материалы и методы. Объектами исследования являются гели дифлунизала в гиалуроновой кислоте с концентрацией основного вещества 0,093, 0,14, 0,19 и 0,25 %. Количественное определение проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с использованием хроматографической колонки Prontosil C18,120-5, 75 × 2 мм, термостабируемой при 40 °С. Элюент: фосфатный буферный раствор с pH 3,0 и ацетонитрил (30:70), скорость потока 0,1 мл/мин. Детектировали элюаты на длинах волн 230, 270, 310 нм.

Результаты и обсуждение. Разработана методика определения дифлунизала в матрице гиалуроновой кислоты методом ВЭЖХ. Высвобождение действующего вещества из матриц проводили в среде фосфатного буферного раствора с pH 7,6. Исследуемая система доставки значительно увеличивает растворимость дифлунизала в водном растворе по сравнению с растворением субстанции. Степень высвобождения для всех образцов превышает 90 % через 3 часа после начала эксперимента, при этом большая часть действующего вещества высвобождается в течение часа.

Заключение. Полученные данные позволяют утверждать, что профиль высвобождения характерен для биodeградируемых матриц и диффузионно-контролируемых систем доставки. Достигнута полнота извлечения дифлунизала из ГК при использовании в качестве среды растворения ФБР с pH 7,6.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, дифлунизал, гиалуроновая кислота, полимерная матрица, высвобождение, система доставки

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. П. А. Михайлова, А. А. Адамова – написание текста статьи и осуществление эксперимента. Ю. Э. Генералова – планирование эксперимента и постановка задачи. С. Н. Морозкина и П. П. Снетков – приготовление матриц, редактирование текста статьи. Все авторы участвовали в анализе полученных данных и обсуждении результатов.

Финансирование. Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 21-74-20093). Ссылка на информацию о проекте: <https://rscf.ru/en/project/21-74-20093/>

Для цитирования: Михайлова П. А., Адамова А. А., Генералова Ю. Э., Снетков П. П., Морозкина С. Н. Исследование динамики высвобождения дифлунизала из полимерной матрицы. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2024;13(1):75–80. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1538>

Study of the Dynamics of Diflunisal Release from a Polymer Matrix

Polina A. Mihajlova^{1, 2}✉, Aleksandra A. Adamova^{1, 4}, Yulia E. Generalova^{1, 2},
Petr P. Snetkov^{2, 3}, Svetlana N. Morozkina^{2, 3}

¹ Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

² ITMO University, 49A, Kronverksky prospect, Saint-Petersburg, 197101, Russia

³ Saint-Petersburg State Research Institute of Phthiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 2–4, Ligovsky ave., Saint-Petersburg, 191036, Russia

⁴ St Petersburg University, Saint Petersburg State University, SPbU, 7–9, Universitetskaya naberezhnaya, Saint-Petersburg, 199034, Russia

✉ Corresponding author: Polina A. Mihajlova. E-mail: mikhaylova@scamt-itmo.ru

© Михайлова П. А., Адамова А. А., Генералова Ю. Э., Снетков П. П., Морозкина С. Н., 2024

© Mihajlova P. A., Adamova A. A., Generalova Yu. E., Snetkov P. P., Morozkina S. N., 2024

ORCID: Polina A. Mihajlova – <https://orcid.org/0009-0002-3806-6585>; Aleksandra A. Adamova – <https://orcid.org/0009-0002-5230-8106>;
Yulia E. Generalova – <https://orcid.org/0000-0002-2573-6036>, Petr P. Snetkov – <https://orcid.org/0000-0001-9949-5709>;
Svetlana N. Morozkina – <https://orcid.org/0000-0003-0122-0251>.

Received: 29.08.2023 Revised: 25.01.2024 Published: 26.01.2024

Abstract

Introduction. The effectiveness of diflunisal in the treatment of cardiac amyloidosis has been clinically proven. Currently, only tablet forms of diflunisal are registered in the world, however, long-term use of NSAIDs leads to characteristic side effects. Therefore, delivery systems for diflunisal (including a form for external use) are now being actively developed to reduce side effects and improve its bioavailability.

Aim. Research of the dynamics of release of the active substance diflunisal from the polymer matrix of hyaluronic acid.

Materials and methods. The objects of the study are diflunisal gels in hyaluronic acid with a concentration of the main substance of 0.093, 0.14, 0.19 and 0.25 %. Quantitative determination was carried out by reverse-phase HPLC using a Prontosil C18, 120-5, 75 × 2 mm chromatographic column, thermostatically controlled at 40 °C. Eluent: phosphate buffer solution (PBS) with pH 3.0 and acetonitrile (30:70), flow rate 0.1 ml/min. Eluates were detected at wavelengths of 230, 270, 310 nm.

Results and discussion. During the work, a method (HPLC) was selected and a method for determining diflunisal in a HA matrix was developed. The delivery system under study significantly increases the solubility of diflunisal in an aqueous solution compared to the dissolution of the substance. The release of the active substance from the matrices was carried out in a phosphate buffer solution with pH 7.6. The release rate for all samples exceeded 90 % after 3 hours after the start of the experiment, with most of the active substance released within an hour.

Conclusion. The data obtained suggest that the release profile is characteristic of biodegradable matrices and diffusion-controlled delivery systems. Complete extraction of diflunisal from HA was achieved using PBS with pH 7.6 as a dissolution medium.

Keywords: high performance liquid chromatography, diflunisal, hyaluronic acid, polymer matrix, release, delivery system

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Polina A. Mihajlova, Aleksandra A. Adamova – writing the text of the article and conducting an experiment. Yulia E. Generalova – statement of the problem and planning an experiment. Svetlana N. Morozkina, Petr P. Snetkov – preparation of matrices, article text editing. All authors participated in the analysis of the obtained data and discussion of the results.

Funding. The work was completed by the grant of the Russian Science Foundation (project № 21-74-20093). Link to project information: <https://rscf.ru/en/project/21-74-20093/>

For citation: Mihajlova P. A., Adamova A. A., Generalova Yu. E., Snetkov P. P., Morozkina S. N. Study of the dynamics of diflunisal release from a polymer matrix. *Drug development & registration*. 2024;13(1):75–80. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1538>

ВВЕДЕНИЕ

Одним из развивающихся направлений фармацевтической науки является создание и исследование систем доставки лекарственного препарата – способа контролируемого введения медикамента в организм пациента, при котором повышается его эффективность, безопасность, точность дозирования, селективность, улучшаются фармакокинетика и фармакодинамика. Использование систем доставки особенно оправданно при терапии тяжелых орфанных заболеваний, к которым относится транстиретиновая семейная амилоидная полинейропатия (ТСАП). ТСАП является генетическим системным заболеванием, возникающим вследствие мутации гена транстиретина.

Дифлунизал (рисунок 1) – нестероидный противовоспалительный препарат (НПВП), производное салициловой кислоты с анальгетическим и противовоспалительным действием. Рекомендован к применению при легкой и умеренной боли, остеоартрите, ревматоидном артрите, воспалении, является потенциальным препаратом для лечения ТСАП I и

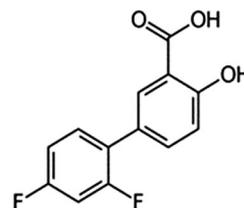


Рисунок 1. Структурная формула дифлунизала

Figure 1. Structural formula of diflunisal

II стадии [1]. В последние годы дифлунизал привлек внимание благодаря доказательствам его эффективности при лечении амилоидоза сердца, что было подтверждено в клинических исследованиях [2–4]. В нерандомизированном исследовании было продемонстрировано, что дифлунизал обеспечивает лучшую выживаемость пациентов по сравнению с клинически одобренным тафамидисом [5].

В настоящее время в мире зарегистрированы только таблетированные формы дифлунизала (Долобид®). Однако длительное применение НПВП приво-

дит к почечной дисфункции, желудочно-кишечным кровотечениям, образованию язв и другим характерным нежелательным лекарственным реакциям. Поэтому сейчас активно разрабатываются новые системы доставки дифлунизала, позволяющие уменьшить побочные эффекты, повысить его стабильность, улучшить биодоступность. Например, описана технология получения твердых липидных наночастиц для локального или кожного применения [6], изготовлены стабильные многослойные полимерные наночастицы методом послойной сборки [7], разработаны гидрогели состава хитозан – поливиниловый спирт без токсичных сшивающих агентов методом замораживания – оттаивания [8], получены циклодекстриновые комплексы дифлунизала на основе β -циклодекстрина или гидроксипропил- β -циклодекстрина [9], изучены комплексы с блок-сополимерами поли(этиленгликоля) и поли(ϵ -капролактона) [10]. Также для повышения растворимости дифлунизала в воде и его пролонгированного высвобождения в одном из исследований были использованы полиамидаминовые дендримеры, сшитые с тиолированным полиэтиленгликолем, для образования гидрогеля [11].

Одним из вариантов систем доставки являются системы с диффузионно-контролируемым высвобождением. Активно в качестве матриц применяются биodeградируемые полимеры, такие как гиалуроновая кислота (ГК). ГК действует как мукоадгезив, удерживая лекарство в определенном месте действия/всасывания. Полимерная матрица также может изменять *in vivo* скорость высвобождения и всасывания терапевтического агента и способна локализовать доставку лекарственного средства в эпидермис [12]. Кроме того, ГК сама может оказывать противовоспалительное [13] действие посредством множества механизмов, включающих рецепторы, ферменты и другие метаболические пути [14]. Авторами [15] была предложена система доставки дифлунизала в полимерной матрице гиалуроновой кислоты, которая стала объектом данного исследования.

Научные статьи и материалы, в которых проводится исследование высвобождения дифлунизала из матриц, представлены достаточно ограниченно [7, 9, 16, 17]. В большинстве таких исследований высвобождение дифлунизала рассматривают в средах со значениями pH, близкими к нейтральным [7, 9, 18]. Процесс высвобождения непосредственно дифлунизала из матрицы ГК описан ранее не был, а потому требуется исследование его свойств и характеристик. Кроме того, дифлунизал характеризуется низкой растворимостью в нейтральных и кислых водных средах (14,5 мг/л по данным PubChem), предположительно, использование системы доставки позволит увеличить его растворимость, а следовательно, биодоступность. Таким образом, важность использования дифлунизала и известные ограничения его применения заставили разработать новые системы

доставки дифлунизала, позволяющие уменьшить побочные эффекты, повысить его стабильность, а также улучшить его фармакокинетический профиль и биораспределение.

Целью исследования является изучение динамики высвобождения активной фармацевтической субстанции дифлунизала из полимерной матрицы ГК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись гели дифлунизала следующего состава: 5 мл дистиллированной воды, 5 мл диметилсульфоксида (ДМСО), 190 мг ГК и 10 (15, 20 или 25) мг дифлунизала, что соответствует 0,093 (0,14, 0,19 или 0,25) % [15]. В работе использовали стандартный образец дифлунизала (Diflunisal, analytical standard). Количественное определение проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на жидкостном хроматографе «Миличром-А02» (ООО ИХ «ЭкоНова», Россия).

Стандартные растворы дифлунизала. 10,0 мг дифлунизала (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в этиловом спирте 95%-м с использованием УЗ-бани и доводили раствор до метки этиловым спиртом 95%-м (исходный раствор). Исходный раствор разбавляли до требуемой концентрации дистиллированной водой.

Процедура процесса высвобождения дифлунизала из геля. К 100 мг (точная навеска) геля любой дозировки добавляли 10,0 мл фосфатного буферного раствора (ФБР), растворы оставляли для высвобождения действующего вещества. Пробы отбирали сразу после добавления буфера, через 30, 60, 120 и 180 мин, фильтровали (через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм) и анализировали. Степень высвобождения рассчитывали относительно заявленной концентрации действующего вещества в геле.

Количественное определение дифлунизала проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с использованием хроматографической колонки Prontosil 120-5, C18, 75 × 2 мм (ООО ИХ «ЭкоНова», Россия), термостатируемой при 40 °С. Элюент: фосфатный буферный раствор (ФБР) с pH 3,0 и ацетонитрил (30:70), скорость потока 0,1 мл/мин, изократический режим элюирования. Детектировали элюаты на длинах волн 230, 270, 310 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор метода анализа

Несмотря на то, что гель содержит только одно действующее вещество, применение простого метода УФ-спектрометрии невозможно. В УФ-спектре подкисленного раствора дифлунизала наблюдается 3 максимума поглощения – 205, 228 и 314 нм ($\epsilon = 17514, 14812, 2302$ л/моль · см соответственно). Согласно данным литературы, максимум светопогло-

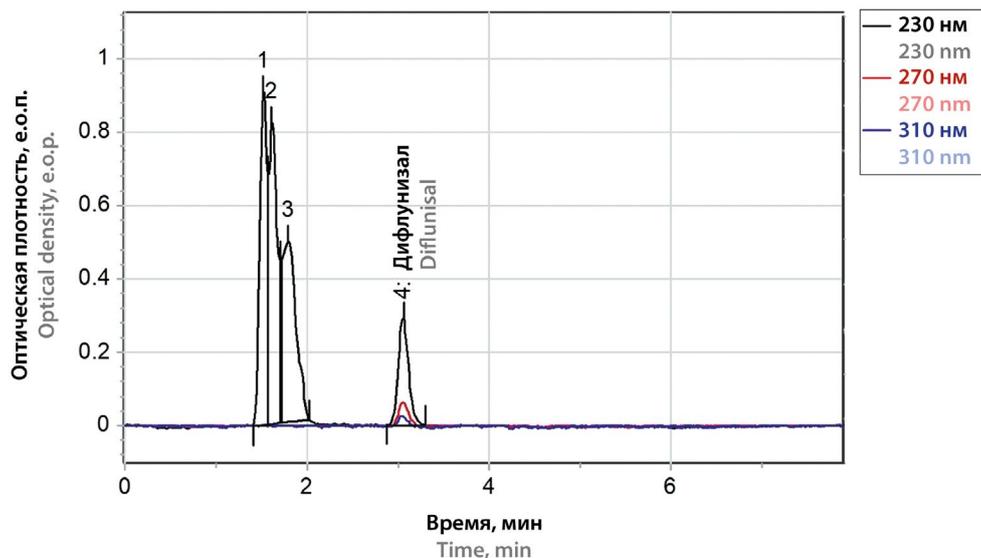


Рисунок 2. Хроматограмма раствора геля дифлунизала (пики 1–3 – матрица, пик 4 – дифлунизал)

Figure 2. Chromatogram of diflunisal gel solution (peaks 1–3 – matrix, peak 4 – diflunisal)

щения ГК наблюдается при 230 нм [19], ДМСО – при 210 нм¹. ГК и ДМСО имеют собственные широкие полосы поглощения (за счет большого содержания по сравнению с содержанием действующего вещества) в УФ-области спектра, которые перекрывают спектр дифлунизала в ФБР, что делает невозможным его количественное определение. Поэтому количество дифлунизала, высвободившегося из матрицы, определяли методом ВЭЖХ.

Оптимизация хроматографических условий

Ранее были выбраны хроматографические условия [20] для количественного определения дифлунизала (выбор условий проводили с использованием стандартного образца дифлунизала), наилучшие результаты были достигнуты при использовании 0,03%-го раствора трифторуксусной кислоты (ТФУК). При апробации этих условий в процессе растворения гелей в буферных растворах было показано, что буферной емкости ТФУК недостаточно для подавления влияния растворителя в пробе, из-за чего пик дифлунизала переставал удерживаться на сорбенте. Поэтому в качестве подвижной фазы выбрали ФБР с pH 3,0, вторым компонентом подвижной фазы был ацетонитрил, оптимальное соотношение элюентов 30:70. Типичная хроматограмма раствора, полученного при растворении геля дифлунизала, представлена на рисунке 2.

¹ National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 679, Dimethyl Sulfoxide. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dimethyl-Sulfoxide>. Accessed: 17.08.2023.

На хроматограмме наблюдается пик дифлунизала, имеющий оптимальные хроматографические характеристики (фактор асимметрии = 1,14, эффективность = $3,8 \cdot 10^3$ теоретических тарелок).

Для выбранных хроматографических условий оценили сходимость получаемых результатов, для чего 6 раз хроматографировали водно-спиртовой раствор дифлунизала с концентрацией 20 мкг/мл. Относительное среднее квадратичное отклонение времен удерживания составляет 0,28 %, а площадей пиков – 2,2 %, что подтверждает сходимость полученных результатов.

Для проверки наличия линейности отклика сигнала от концентрации был построен график в диапазоне концентраций дифлунизала 1–30 мкг/мл. По результатам анализа стандартных растворов была получена зависимость площади пика от концентрации. На графике наблюдается линейная зависимость площади пика дифлунизала от концентрации, зависимость аппроксимируется уравнением $S = 0,4617C + 0,7204$ с коэффициентом корреляции (r) 0,9952. Полученные результаты свидетельствуют о наличии линейного отклика в выбранном диапазоне концентраций, в дальнейшем исследовании представленное уравнение будет использовано для количественной оценки степени высвобождения дифлунизала.

Для исследования динамики высвобождения дифлунизала из матрицы ГК использовали ФБР с pH 7,6. Это значение pH использовали, чтобы смоделировать кислотность воспаленной кожи человека [21]. Для этого к навеске геля добавляли буфер, раствор оставляли при комнатной температуре, без перемешивания. При этом гель оставался на дне емкости и постепенно растворялся с поверхности,

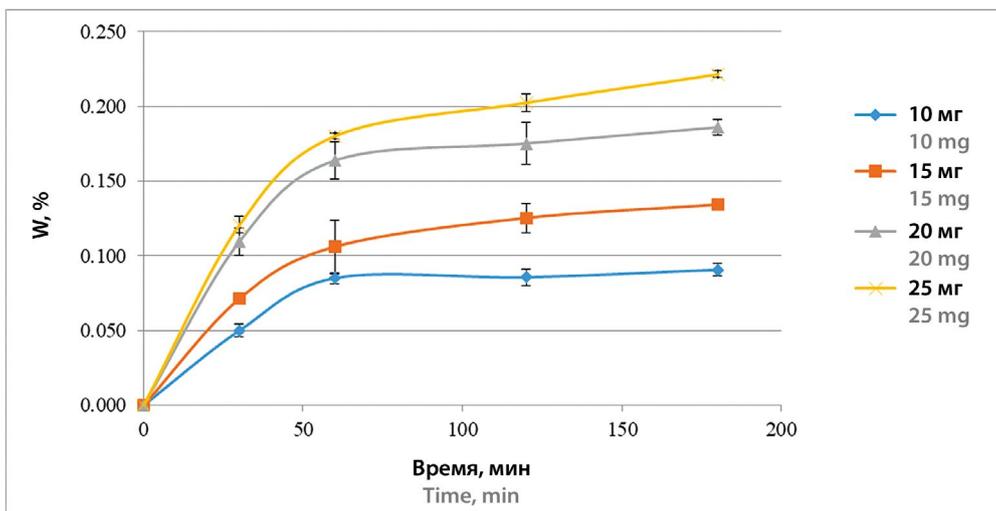


Рисунок 3. Профили высвобождения дифлунизала из геля разных дозировок при pH 7,6

Figure 3. Release profiles of diflunisal from gel of different dosages at pH 7.6

приводя к высвобождению действующего вещества из матрицы. В последней временной точке исследуемый раствор представляет собой прозрачную бесцветную жидкость, без механических включений и раздела фаз. В предварительных исследованиях оценили влияние перемешивания на процесс высвобождения, результаты показали, что высвобождение в первые минуты эксперимента достигает 100 % и в дальнейшем не меняется, что демонстрирует возможность полного перехода действующего вещества из геля в среду растворения, а также стабильность аналита в буферном растворе. По полученным результатам процесса высвобождения дифлунизала из гелей разных дозировок без перемешивания построили графики зависимости концентрации дифлунизала W (%) от времени высвобождения (рисунок 3).

Общий вид кривых высвобождения характерен для матриц ГК, описанных в статьях [16]. Наши результаты демонстрируют, что независимо от дозировки динамика высвобождения дифлунизала во всех образцах сопоставима друг с другом, степень высвобождения для всех дозировок в последней анализируемой точке превышает 90 %. При этом большая часть действующего вещества высвобождается в течение часа, последующие 2 часа происходит постепенное увеличение концентрации. Кроме того, использование системы доставки значительно увеличивает растворимость дифлунизала в водном растворе, максимальная концентрация дифлунизала, которая была достигнута в ходе экспериментов, составляет 100 мг/л.

Авторы [18] проводили исследование высвобождения в кислой среде, имитирующей среду желудка, и не наблюдали высвобождения дифлунизала из матрицы, что было подтверждено экспериментально.

При использовании буферных растворов с pH около 2 дифлунизал выпадает в осадок и процесс высвобождения невозможен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для изучения динамики высвобождения дифлунизала из матрицы гиалуроновой кислоты в качестве среды растворения использовали фосфатный буферный раствор с pH 7,6. Исследуемая система доставки значительно увеличивает растворимость дифлунизала в водном растворе по сравнению с растворением субстанции. Полученные данные позволяют утверждать, что профиль высвобождения характерен для биodeградируемых матриц и диффузионно-контролируемых систем доставки. Степень высвобождения для всех образцов превышает 90 % через 3 часа после начала эксперимента, при этом большая часть действующего вещества высвобождается в течение часа. При перемешивании растворов в процессе высвобождения полнота извлечения достигается за первые минуты эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kopishinskaia S.V. Transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *Journal of Neurology and Psychiatry of S.S. Korsakov*. 2018;118(10):82–89. (In Russ.) DOI: 10.17116/jnevro201811810182.
2. Adams D., Suhr O. B., Hund E., Obici L., Tournev I., Campistol J. M., Slama M. S., Hazenberg B. P., Coelho T. First European consensus for diagnosis, management, and treatment of transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *Current Opinion in Neurology*. 2016;29:14–26. DOI: 10.1097/WCO.0000000000000289.
3. Sekijima Y., Tojo K., Morita H., Koyama J., Ikeda S. Safety and efficacy of long-term diflunisal administration in hereditary transthyretin (ATTR) amyloidosis. *Amyloid*. 2015;22:79–83. DOI: 10.3109/13506129.2014.997872.
4. Ikram A., Donnelly J. P., Sperry B. W., Samaras C., Valent J., Hanna M. Diflunisal tolerability in transthyretin cardiac amyloidosis: A single center's experience. *Amyloid*. 2018;25:197–202. DOI: 10.1080/13506129.2018.1519507.

- Rosenblum H., Castano A., Alvarez J., Goldsmith J., Helme S., Maurer M.S. TTR (transthyretin) stabilizers are associated with improved survival in patients with TTR cardiac amyloidosis. *Circulation: Heart Failure*. 2018;11:e004769. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.117.004769.
- Amanpreet K., Shishu G., Katare O.P. Formulation, characterisation and in vivo evaluation of lipid-based nanocarrier for topical delivery of diflunisal. *Journal of Microencapsulation*. 2016;33:475–486. DOI: 10.1080/02652048.2016.1216189.
- Rochín-Wong S., Rosas-Durazo A., Zavala-Rivera P., Maldonado A., Martínez-Barbosa M. E., Vélaz I., Tánori J. Drug Release Properties of Diflunisal from Layer-By-Layer Self-Assembled κ-Carrageenan/Chitosan Nanocapsules: Effect of Deposited Layers. *Polymers*. 2018;10(7):760. DOI: 10.3390/polym10070760.
- Figueroa-Pizano M. D., Vélaz I., Martínez-Barbosa M. E. A Freeze-Thawing Method to Prepare Chitosan-Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Without Crosslinking Agents and Diflunisal Release Studies. *Journal of Visualized Experiments*. 2020;155:e59636. DOI: 10.3791/59636.
- Bashir M., Syed H. K., Asghar S., Irfan M., Almalki W. H., Menshawi S. A., Khan I. U., Shah P. A., Khalid I., Ahmad J., Gohar U. F., Peh K. K., Iqbal M. S. Effect of Hydrophilic Polymers on Complexation Efficiency of Cyclodextrins in Enhancing Solubility and Release of Diflunisal. *Polymers*. 2020;12:1564. DOI: 10.3390/polym12071564.
- Zhong Z., Yang X., Fu X. B., Yao Y. F., Guo B. H., Huang Y., Xu J. Crystalline inclusion complexes formed between the drug diflunisal and block copolymers. *Chinese Chemical Letters*. 2017;28:1268–1275. DOI: 10.1016/j.ccl.2017.04.001.
- Kegley Z., Makay M., Rogers J., Phelps K., Malcom C., Hellmig D., Kroninger A., Bi X. Polyamidoamine dendrimer-polyethylene glycol hydrogel for solubility enhancement and sustained release of diflunisal. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. 2022;104:160–168. DOI: 10.1007/s10971-022-05904-y.
- How K. N., Yap W. H., Lim C. L. H., Goh B. H., Lai Z. W. Hyaluronic Acid-Mediated Drug Delivery System Targeting for Inflammatory Skin Diseases: A Mini Review. *Front Pharmacol*. 2020;11:1105. DOI: 10.3389/fphar.2020.01105.
- Chen Z. What's new about the mechanism of methotrexate action in psoriasis? *British Journal of Dermatology*. 2018;179(4):818–819. DOI: 10.1111/bjd.16908.
- Gupta R. C., Lall R., Srivastava A., Sinha A. Hyaluronic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Trajectory. *Frontiers in Veterinary Science*. 2019;6:192. DOI: 10.3389/fvets.2019.00192.
- Snetkov P., Morozkina S., Olekhovich R., Vu T. H. N., Tyanutova M., Uspenskaya M. Curcumin/Usnic Acid-Loaded Electrospun Nanofibers Based on Hyaluronic Acid. *Materials*. 2020;13(16):3476. DOI: 10.3390/ma13163476.
- Cavallaro G., Pierro P., Palumbo F. S., Testa F., Pasqua L., Aiello R. Drug delivery devices based on mesoporous silicate. *Drug Delivery*. 2004;11(1):41–46. DOI: 10.1080/10717540490265252.
- Bashir M., Ahmad J., Asif M., Khan S. U. D., Irfan M., Ibrahim A. Y., Asghar S., Khan I. U., Iqbal M. S., Haseeb A., Khalid S. H., Abourehab M. A. S. Nanoemulgel, an Innovative Carrier for Diflunisal Topical Delivery with Profound Anti-Inflammatory Effect: in vitro and in vivo Evaluation. *International Journal of Nanomedicine*. 2021;16:1457–1472. DOI: 10.2147/IJN.S294653.
- Bayer I. S. Hyaluronic Acid and Controlled Release: A Review. *Molecules*. 2020;25(11):2649. DOI: 10.3390/molecules25112649.
- Shlini P., Sana F. M., Shambhavi U. Isolation and purification of hyaluronic acid like components from Ipomoea Batatas (sweet potato). *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 2017;4(8),282–286.
- Mihajlova P. A., Generalova Ju. E. Research of the chromatographic behavior of diflunisal. In: I International Scientific and Practical Conference dedicated to the memory of Professor P. V. Kuznetsov. Chromatography in chemistry, medicine and biology: current issues, achievements and innovations. Kemerovo. 2021. P. 124–127. (In Russ.)
- Proksch E. pH in nature, humans and skin. *The Journal of Dermatology*. 2018;45(9):1044–1052. DOI: 10.1111/1346-8138.14489.