



## Исследование влияния молекулярной массы гиалуроновой кислоты на кинетику высвобождения мангиферина из полимерной матрицы

П. П. Снетков<sup>1</sup>✉, Р. О. Шайкенов<sup>1</sup>, В. И. Климшина<sup>1</sup>, Ю. Э. Генералова<sup>1,2</sup>,  
С. Н. Морозкина<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО». 197101, Россия, г. Санкт-Петербург, Кронверкский проспект, д. 49, литера А

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, литера А

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова». 360004, Россия, Северо-Кавказский федеральный округ, Кабардино-Балкарская Республика, г. Нальчик, ул. Чернышевского, д. 173

✉ Контактное лицо: Снетков Петр Петрович. E-mail: ppsnetkov@itmo.ru

ORCID: П. П. Снетков – <https://orcid.org/0000-0001-9949-5709>;  
Р. О. Шайкенов – <https://orcid.org/0009-0005-1721-1044>;  
В. И. Климшина – <https://orcid.org/0000-0002-9979-3922>;  
Ю. Э. Генералова – <https://orcid.org/0000-0002-2573-6036>;  
С. Н. Морозкина – <https://orcid.org/0000-0003-0122-0251>.

Статья поступила: 26.07.2024

Статья принята в печать: 24.10.2024

Статья опубликована: 15.01.2025

### Резюме

**Введение.** В настоящее время широкое распространение получает применение природных биологически активных веществ (БАВ) в качестве эффективных антибактериальных препаратов как для наружного, так и для внутреннего применения. Особый интерес представляет полифенол мангиферин, извлекаемый из листьев растения *Mangifera indica*. Несмотря на доказанную противомикробную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных штаммов бактерий, применение мангиферина ограничено его низкой растворимостью в воде. Для повышения растворимости и, соответственно, биодоступности применяют различные подходы, в частности инкапсулирование в полимерные и биополимерные матрицы. Одним из перспективных биополимеров для инкапсуляции БАВ является гиалуроновая кислота, обладающая полной биосовместимостью с тканями живого организма и способная к полной биодеградации под воздействием ферментов (гиалуронидаз).

**Цель.** Изучение кинетики высвобождения природного биологически активного соединения мангиферина из полимерной матрицы на основе гиалуроновой кислоты с различной молекулярной массой.

**Материалы и методы.** Объектами исследования являлись полимерные плёнки, полученные методом полива 1,5 масс.% формовочных растворов гиалуроновой кислоты с молекулярной массой 1,30 и 2,48 МДа с различным содержанием мангиферина. Соотношение гиалуроновой кислоты к мангиферину варьировалось в пределах от 5 до 25 (по массе). Количественное определение высвободившегося мангиферина проводили методом УФ/ВИД-спектрофотометрии при длине волны 237 нм. В качестве модельной среды использовался фосфатный буферный раствор с pH 7,4. Кинетику высвобождения мангиферина оценивали с помощью различных математических моделей.

**Результаты и обсуждение.** Исследование кинетики высвобождения мангиферина из полимерной матрицы на основе гиалуроновой кислоты показало сигмоидальный характер высвобождения биологически активного агента. Механизм высвобождения имеет сложный характер типа Super Case II transport, за исключением образца с низким содержанием мангиферина и гиалуроновой кислотой 1,3 МДа, для которого обнаруживается аномальный характер высвобождения (диффузия не по закону Фика), что обусловлено гидрофильной природой гиалуроновой кислоты, быстрым набуханием полимерной матрицы, а также значительным опережением темпов диффузии мангиферина по сравнению со скоростью релаксации полимера. Наиболее подходящей является модель Weibull, описывающая кинетику высвобождения мангиферина с большей точностью по сравнению с другими математическими моделями.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной возможности использовать разработанные полимерные плёнки в качестве биомедицинских материалов наружного применения, обеспечивая таким образом трансдермальную доставку лекарственных препаратов. В дальнейшем авторы работы планируют разработать методику обеспечения пролонгированного и контролируемого высвобождения загруженного лекарственного агента, в том числе за счет применения различных сшивающих агентов.

**Ключевые слова:** гиалуроновая кислота, кинетика высвобождения, коэффициент ёмкости матрицы, мангиферин, полимерная матрица, система доставки, эффективность инкапсуляции

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

**Вклад авторов.** П. П. Снетков, С. Н. Морозкина – разработка концепции исследования. П. П. Снетков, Ю. Э. Генералова – разработка методологии. П. П. Снетков, В. И. Климшина, Р. О. Шайкенов, Ю. Э. Генералова, С. Н. Морозкина – проведение исследования. П. П. Снетков – обработка экспериментальных данных. П. П. Снетков, В. И. Климшина, Р. О. Шайкенов, Ю. Э. Генералова – подготовка текста статьи к публикации. П. П. Снетков, С. Н. Морозкина – доработка и редактирование текста. П. П. Снетков – визуализация. П. П. Снетков – ресурсное обеспечение исследования. П. П. Снетков – научное руководство и администрирование проекта. Все авторы участвовали в анализе полученных данных и обсуждении результатов.

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, научный проект № 24-23-00269, <https://rscf.ru/project/24-23-00269/>

**Для цитирования:** Снетков П. П., Шайкенов Р. О., Климшина В. И., Генералова Ю. Э., Морозкина С. Н. Исследование влияния молекулярной массы гиалуроновой кислоты на кинетику высвобождения мангиферина из полимерной матрицы. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(1):171–180. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-1-1881>

## The influence of the molecular weight of hyaluronic acid on the mangiferin release kinetics from the polymer matrix

Petr P. Snetkov<sup>1</sup>✉, Roman O. Shaikenov<sup>1</sup>, Vladislava I. Klimshina<sup>1</sup>, Yuliya E. Generalova<sup>1,2</sup>, Svetlana N. Morozkina<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ITMO University. 49A, Kronverkskiy prospekt, Saint-Petersburg, 197101, Russia

<sup>2</sup> Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

<sup>3</sup> Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov. 173, Chernyshevskogo str., Nalchik, Kabardino-Balkarian Republic, North Caucasus Federal District, 360004, Russia

✉ **Corresponding author:** Petr P. Snetkov. **E-mail:** ppsnetkov@itmo.ru

**ORCID:** Petr P. Snetkov – <https://orcid.org/0000-0001-9949-5709>;  
Roman O. Shaikenov – <https://orcid.org/0009-0005-1721-1044>;  
Vladislava I. Klimshina – <https://orcid.org/0000-0002-9979-3922>;  
Yuliya E. Generalova – <https://orcid.org/0000-0002-2573-6036>;  
Svetlana N. Morozkina – <https://orcid.org/0000-0003-0122-0251>.

**Received:** 26.07.2024

**Accepted:** 24.10.2024

**Published:** 15.01.2025

### Abstract

**Introduction.** Currently, the use of natural biologically active agents (BAA) as effective antibacterial drugs for both external and internal use is becoming widespread. Polyphenol mangiferin, extracted from the leaves of the *Mangifera indica* plant, is the most attractive BAA. Despite high antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative strains of bacteria, the use of mangiferin is limited by its low aqueous solubility. To increase solubility and, accordingly, bioavailability, various approaches are used, in particular, encapsulation in polymer and biopolymer matrices. One of the promising biopolymers for the encapsulation of biologically active substances is hyaluronic acid, which is completely biocompatible with the tissues of a living organism and is capable of complete biodegradation under the influence of enzymes (hyaluronidases).

**Aim.** Study of the release kinetics of the biologically active agent (mangiferin) from a polymer matrix based on hyaluronic acid with different molecular weights.

**Materials and methods.** Polymer films obtained by casting method from 1.5 wt.% forming solutions of hyaluronic acid with a molecular weight of 1.30 and 2.48 MDa with different contents of mangiferin were used as the objects of the study. The weight ratio of hyaluronic acid to mangiferin varied from 5 to 25. Released mangiferin was measured by UV/Vis spectrophotometry at a wavelength of 237 nm. A phosphate buffered saline with pH 7.4 was used as a model medium. The mangiferin release kinetic was assessed using various mathematical models.

**Results and discussion.** Mangiferin release kinetic from a polymer matrix based on hyaluronic acid has a release sigmoidal pattern. The release mechanism has a complex nature of the Super Case II transport type, with the exception of a sample with a low content of mangiferin and hyaluronic acid with molecular weight equal to 1.3 MDa, for which an abnormal release pattern is detected (non-Fickian diffusion), due to the hydrophilic nature of hyaluronic acid, the rapid swelling of the polymer matrix, as well as a significant leading in the diffusion of mangiferin compared to the relaxation rate of the polymer. The most suitable model is the Weibull model, which describes the mangiferin release kinetics with greater accuracy compared to other mathematical models.

**Conclusion.** The results obtained indicate the potential possibility of using the developed polymer films as biomedical materials for external use, which provide transdermal delivery of pharmaceutical agents. The authors of the study are planning to develop a methodology for prolonged and controlled release of a loaded biologically active agent, including by various cross-linking agents.

**Keywords:** hyaluronic acid, release kinetics, drug loading capacity, mangiferin, polymer matrix, delivery system, encapsulation efficiency

**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.** Petr P. Snetkov, Svetlana N. Morozkina – conceptualization. Petr P. Snetkov, Yuliya E. Generalova – methodology. Petr P. Snetkov, Vladislava I. Klimshina, Roman O. Shaikenov, Yuliya E. Generalova, Svetlana N. Morozkina – investigation. Petr P. Snetkov – data curation. Petr P. Snetkov, Vladislava I. Klimshina, Roman O. Shaikenov, Yuliya E. Generalova – preparing the text of the article for publication. Petr P. Snetkov, Svetlana N. Morozkina – text revision and editing. Petr P. Snetkov – visualization. Petr P. Snetkov – resources. Petr P. Snetkov – supervision and project administration. All authors participated in the analysis of the data obtained and discussion of the results.

**Funding.** This research was funded by the Russian Science Foundation, project number 24-23-00269. Link to information about the project: <https://rscf.ru/en/project/24-23-00269/>

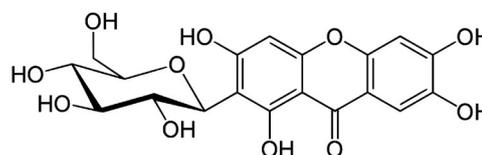
**For citation:** Snetkov P. P., Shaikenov R. O., Klimshina V. I., Generalova Yu. E., Morozkina S. N. The influence of the molecular weight of hyaluronic acid on the mangiferin release kinetics from the polymer matrix. *Drug development & registration*. 2025;14(1):171–180. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-1-1881>

## ВВЕДЕНИЕ

Антибиотики нашли широкое применение в животноводстве в целях профилактики инфекционных заболеваний, однако это может привести к попаданию антибиотиков через продукты животноводства и рыбного хозяйства в организм человека, отравлению и появлению резистентных штаммов бактерий [1–3]. Чтобы не допустить развития резистентности к антибиотикам, их использование было ограничено в США [4], в Индии [5], в ЕС также были приняты меры по ограничению использования антибиотиков без предписания ветеринара и в качестве стимулирующих добавок к кормам [6]. В Китае антибиотик колистин был полностью запрещен к использованию в животноводстве [7].

В качестве альтернативы антибиотиками возможно использование фитобиотиков – биологически активных веществ, выделенных из растений. Они обладают широким спектром антибактериальной, антиоксидантной, противовирусной, противовоспалительной и иммуномодулирующей активности, но при этом не вызывают появления резистентных штаммов бактерий [8–9].

Мангиферин (рисунок 1) – это биологически активное вещество, выделяемое из листьев растения *Mangifera indica*. Мангиферин обладает множеством свойств: антиоксидантным, противовоспалительным, нейро- и кардиоукрепляющим, иммуномодулирующим и другими. Эти свойства в перспективе позволяют использовать его как эффективное лекарство [10–11].



**Рисунок 1. Химическая структура мангиферина**

**Figure 1. Chemical structure of mangiferin**

Исследователи отмечают высокую антибактериальную активность мангиферина против распространенных штаммов патогенных бактерий. Так, было показано, что мангиферин подавляет рост 9 штаммов *Staphylococcus aureus*, 7 штаммов *Salmonella typhi*, а также *Salmonella citreus* [12], *Bacillus cereus*, *Salmonella virchow*, *Pseudomonas aeruginosa*, а также грибов *Aspergillus flavus* и *Thermoascus aurantiacus* [13]. Частично эти результаты подтвердили N.T.T. Loan с соавторами [14].

Мангиферин также обладает противовирусными свойствами, например в отношении вируса герпеса [15–16] и вируса гриппа H1N1 [17]. Более того, мангиферин обладает также противовоспалительными свойствами, что было показано на клеточных и животных моделях [18]. Он оказывает положительное терапевтическое действие при различных патологических осложнениях, а также обеспечивает защиту от широкого спектра физиологических нарушений [19]. Было обнаружено, что мангиферин отличается очень

высоким уровнем антиоксидантной активности [20]. Чем выше степень очистки используемого мангиферина, тем большей антиоксидантной активностью он обладает [14].

Однако для мангиферина характерна низкая биодоступность вследствие низкой липофильности, препятствующей прохождению его молекул через мембраны клеток [10]. Также низкая биодоступность – следствие плохой растворимости мангиферина в воде: всего 0,38 мг/мл при 25 °С [21]. Для повышения эффективности биологически активных соединений используют различные методы, в том числе инкапсуляцию («загрузку») активных агентов в полимерные матрицы [22]. Полисахариды являются перспективными кандидатами для использования в качестве полимерных систем, улучшающих биологическую эффективность загруженных природных соединений. Так, D. H. Kim с соавт. [23] инкапсулировали экстракт прополиса в наночастицы, полученные методом ионного гелеобразования, где в качестве оболочки был использован полиэлектролитный комплекс хитозана и гиалуроновой кислоты. Это позволило увеличить растворимость природного соединения в 2,43 раза и обеспечить диспергирование наночастиц в дистиллированной воде без их агломерации. T. Wu и др. [24] доказали, что добавление альгината натрия к наночастицам, состоящим из зеина и содержащим нарингенин, увеличило растворимость последнего в 1,27 раза, а по сравнению с чистым флавоноидом растворимость улучшилась в 3,13 раза.

Гиалуроновая кислота – это природный гетерополисахарид, состоящий из повторяющихся остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина. Благодаря своим уникальным свойствам, таким как биodeградируемость, биосовместимость, гигроскопичность и мукоадгезивность, этот полисахарид используется для адресной доставки лекарств и во многих медицинских приложениях [25]. Кроме того, гидрогели на основе гиалуроновой кислоты являются подходящими кандидатами для использования в качестве полимерных систем для «загрузки» природных соединений с целью ускорения заживления ран [26].

Варьирование молекулярной массы гиалуроновой кислоты позволяет регулировать свойства полимера. Так, низкомолекулярный полисахарид (6–20 кДа) связан с процессами ангиогенеза, экспрессии генов и провоспаления, среднемолекулярный (20 кДа – 1 МДа) – с регенерацией и эмбриогенезом, а высокомолекулярная кислота (более 1 МДа) обладает иммуносупрессивным и антиангиогенным эффектами [27]. В зависимости от молекулярной массы изменяются не только биологические свойства гиалуроновой кислоты [28], но и физические, физико-химические, структурные параметры и степень деградации [29]. Кроме того, размер полимерной цепи определяет способность полисахарида к адресной

доставке лекарственных препаратов. Y. Chi с соавт. [30] показали, что микроиглы на основе гиалуроновой кислоты с молекулярной массой 74 000 Да обладали максимальной степенью высвобождения лекарственного агента *in vitro*, а также продемонстрировали наибольшее количественное содержание лекарственного агента в тканях и самое длительное время удерживания лекарства *in vivo* по сравнению с микроиглами на основе гиалуроновой кислоты с молекулярной массой 10 000 Да и 290 000 Да.

Целью данной работы является исследование кинетики высвобождения природного биологически активного агента мангиферина из полимерной матрицы на основе гиалуроновой кислоты с разной молекулярной массой.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

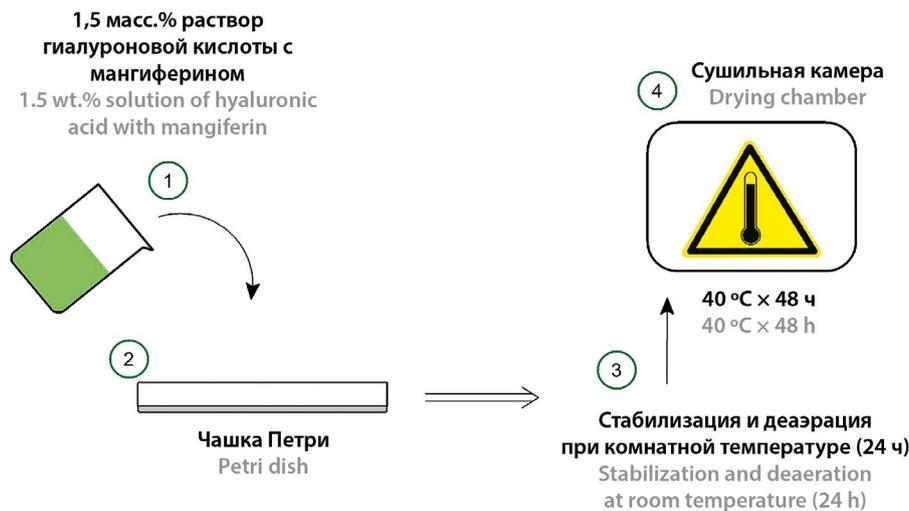
Объектами исследования являлись полимерные пленки, полученные из 1,5 масс.% формовочных растворов гиалуроновой кислоты двух молекулярных масс: 1,30 МДа (Rensin Chemicals Limited, Китай) и 2,48 МДа (Amhwa Biopharm Co., Ltd., Китай). Мангиферин (98 %, abcr GmbH, Германия) вводился в состав формовочных растворов из расчета 1:5, 1:15, 1:25 (по отношению к массе гиалуроновой кислоты). В качестве растворителя использовалась равнообъемная смесь воды очищенной ФС.2.2.0020 и диметилсульфоксида (ХЧ, ТУ 2635-114-44493179-08, АО «ЭКОС-1», Россия). Формовочные полимерные растворы выливали в чашки Петри  $D = 90$  мм, оставляли на 24 ч при комнатной температуре для стабилизации и деаэрации и затем сушили при температуре 40 °С в течение 48 ч. Схема изготовления пленок представлена на рисунке 2.

Наименования и описания полученных полимерных пленок представлены в таблице 1.

Таблица 1. Полученные полимерные пленки на основе гиалуроновой кислоты

Table 1. The polymer samples based on hyaluronic acid

№	Наименование Name	Молекулярная масса ГК, МДа Molecular weight of HA, MDa	Массовое соотношение ГК и мангиферина Mass ratio of HA and mangiferin
1	ГК1_25 HA1_25	1,30	25:1
2	ГК1_15 HA1_15	1,30	15:1
3	ГК1_5 HA1_5	1,30	5:1
4	ГК2_25 HA2_25	2,48	25:1
5	ГК2_15 GK2_15	2,48	15:1
6	ГК2_5 HA2_5	2,48	5:1



**Рисунок 2.** Схема изготовления полимерных пленок на основе гиалуроновой кислоты

**Figure 2.** Schematic illustration of the polymer samples preparation

### Оценка кинетики высвобождения мангиферина из полимерных пленок

Для изучения кинетики высвобождения мангиферина из пленок на основе гиалуроновой кислоты брали навеску пленки 100 мг, добавляли 50 мл фосфатного буферного раствора (pH 7,4), помещали на магнитную мешалку с нагреванием (37 °C, 200 об/мин). Отбор проб объемом 1,0 мл осуществляли через заданные промежутки времени, при этом каждый раз взамен взятой пробы добавляли 1,0 мл чистого буферного раствора. При необходимости пробы разбавляли в 10–50 раз. Количественное определение проводили в кварцевых кюветках с длиной оптического пути 10 мм методом спектрофотометрии при длине волны 237 нм (спектрофотометр Lambda 1050, PerkinElmer, США). Перед непосредственным определением оптической плотности пробу фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. В качестве калибровочного графика использовался раствор мангиферина в фосфатном буферном растворе с pH 7,4. Эксперимент проведен в трех повторностях для каждого типа образца.

Высвобождение мангиферина рассчитывали исходя из количества высвободившегося и исходного количества мангиферина в полимерном образце с использованием следующего уравнения [31]:

$$\text{Высвобождение мангиферина (\%)} = \frac{m_{\text{высвободившегося мангиферина}}}{m_{\text{мангиферина в образце}}} \cdot 100 \%, \quad (1)$$

где  $m_{\text{высвободившегося мангиферина}}$  – количество мангиферина (г), высвободившегося в модельную среду за 15, 30, 45, 60, 90, 120 и 180 мин;  $m_{\text{мангиферина в образце}}$  – общее фактическое содержание мангиферина в образце (г).

### Оценка количественного содержания мангиферина в исходных образцах

Для количественного определения мангиферина в образцах с целью дальнейшего расчета высвобождения, а также для оценки емкости полимерной матрицы и эффективности инкапсуляции точную навеску массой 100 мг полностью растворяли в смеси этанола и дистиллированной воды (объемное соотношение 1:4), после чего пропускали пробу через мембранный шприцевой фильтр с размером пор 0,45 мкм и определяли содержание мангиферина спектрофотометрическим методом при длине волны 237 нм. Калибровочный график был получен с использованием растворов мангиферина в смеси этанола и дистиллированной воды (объемное соотношение 1:4). Каждый эксперимент проведен три раза для каждого типа образца.

Оценка емкости полимерной матрицы и эффективности инкапсуляции производилась по следующим формулам [32–33]:

$$\text{Емкость полимерной матрицы} = \frac{m_{\text{мангиферина в образце}}}{m_{\text{образца}}} \cdot 100 \%, \quad (2)$$

$$\text{Эффективность инкапсуляции} = \frac{m_{\text{мангиферина в образце}}}{\text{исх. } m_{\text{мангиферина}}} \cdot 100 \%, \quad (3)$$

где  $m_{\text{мангиферина в образце}}$  – фактическое содержание мангиферина в анализируемом образце (г);  $m_{\text{образца}}$  – масса анализируемого образца (пленки) (г);  $\text{исх. } m_{\text{мангиферина}}$  – масса мангиферина (г), «загруженного» в исходный формовочный полимерный раствор.

### Математическая модель кинетики высвобождения мангиферина

Для определения кинетики высвобождения мангиферина из полимерных образцов использовались различные математические модели, включая нулевой порядок, первый порядок, Higuchi, Hixson – Crowell, Korsmeyer – Peppas, Peppas – Sahlin, Weibull [33–36]. Значения кинетических параметров были получены при анализе экспериментальных данных в программе OriginPro 2019b (OriginLab Corporation, США). В таблице 2 показаны соответствующие уравнения для каждой модели.

**Таблица 2.** Различные математические модели, описывающие кинетику высвобождения мангиферина

**Table 2.** Various models for mathematical description the mangiferin release kinetics

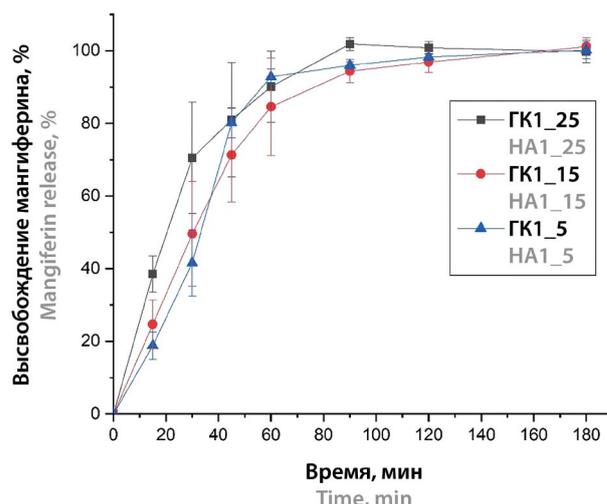
Наименование модели Model name	Уравнение Equation
Нулевой порядок Zero order	$Q_t = Q_0 + K_0 \cdot t$
Первый порядок First order	$\ln(Q_t) = \ln(Q_0) + K_f \cdot t$
Higuchi	$Q_t = K_H \cdot t^{\frac{1}{2}}$
Hixson – Crowell	$Q_0^{\frac{1}{3}} - Q_t^{\frac{1}{3}} = K_s \cdot t$
Korsmeyer – Peppas	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_k \cdot t^n$
Peppas – Sahlin	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_{p1} \cdot t^m + K_{p2} \cdot t^{2m}$
Weibull	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - e^{-\alpha \cdot t^\beta}$

**Примечание.**  $Q_t$  – количество высвободившегося вещества за время  $t$ ;  $Q_0$  – исходное количество «загруженного» вещества в системе;  $Q_\infty$  – количество высвободившегося вещества при полном «истощении» полимерной матрицы (капсулы);  $K$  – константа скорости высвобождения;  $m$  – показатель высвобождения;  $n$  – коэффициент диффузии;  $\alpha$  – масштабный коэффициент;  $\beta$  – параметр формы.

**Note.**  $Q_t$  – amount of substance released during time  $t$ ;  $Q_0$  – initial amount of “loaded” substance in the system;  $Q_\infty$  – amount of substance released upon complete “depletion” of the polymer matrix (capsule);  $K$  – release rate constant;  $m$  – release rate;  $n$  – diffusion coefficient;  $\alpha$  – scale factor;  $\beta$  – shape parameter.

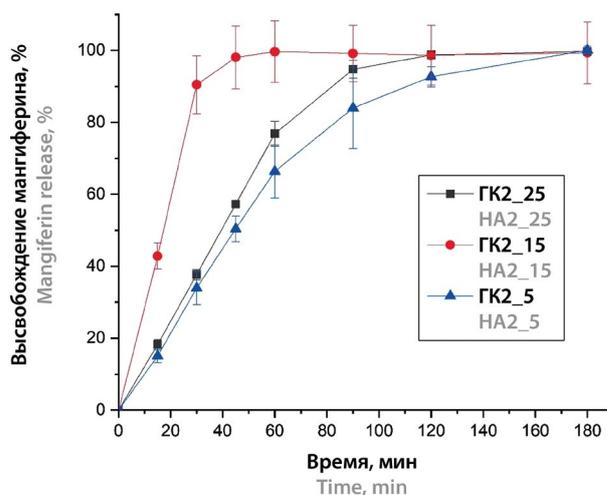
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кинетика высвобождения мангиферина в фосфатный буферный раствор (pH 7,4) из полимерных пленок на основе гиалуроновой кислоты с молекулярной массой 1,30 МДа и 2,48 МДа приведена на рисунках 3 и 4 соответственно.



**Рисунок 3.** Кинетика высвобождения мангиферина в фосфатный буферный раствор (pH 7,4) из полимерной матрицы на основе гиалуроновой кислоты с ММ 1,30 МДа

**Figure 3.** Mangiferin release profiles from the polymer samples based on hyaluronic acid with MW 1,30 MDa into phosphate-buffered saline (pH 7,4)



**Рисунок 4.** Кинетика высвобождения мангиферина в фосфатный буферный раствор (pH 7,4) из полимерной матрицы на основе гиалуроновой кислоты с ММ 2,48 МДа

**Figure 4.** Mangiferin release profiles from the polymer samples based on hyaluronic acid with MW 2,48 MDa into phosphate-buffered saline (pH 7,4)

Профили высвобождения мангиферина в случае использования гиалуроновой кислоты с молекулярной массой 1,30 МДа имели схожую кинетику вне зависимости от содержания биологически активного агента в образце. В этом случае не наблюдалось взрывного характера высвобождения – мангиферин постепенно высвобождался в течение 180 мин.

В случае использования более высокомолекулярной гиалуроновой кислоты (2,48 МДа) высвобождение идет медленнее, за исключением образца ГК2\_15, который имеет существенное отличие кинетики высвобождения на начальном этапе, характеризующееся более быстрым выходом на плато. Такой характер высвобождения может быть обусловлен изменениями силы взаимодействия между полимером-носителем и загруженным агентом [37, 38], диффузией биологически активного агента к поверхности образца при сушке [38, 39], различной микроструктурой поверхности образца [39, 40], изменением осмотического давления гиалуроновой кислоты с увеличением ее молекулярной массы [29], а также другими факторами.

Учитывая широкий спектр биологической активности природного мангиферина, а также профили его высвобождения из полимерных матриц, можно сделать вывод о перспективах использования полученных полимерных пленок в качестве потенциального антибактериального и противовоспалительного раневого/ожогового покрытия с постепенным высвобождением «загруженного» лекарственного средства и оперативным купированием воспалительных реакций и бактериального роста.

Механизм высвобождения мангиферина из полимерных матриц на основе гиалуроновой кислоты можно проанализировать путем сопоставления экспериментальных данных о высвобождении мангиферина с различными математическими моделями кинетики высвобождения лекарственных средств, включая модели нулевого порядка, первого порядка, Higuchi, Hixson – Crowell, Korsmeyer – Peppas, Peppas – Sahlin, Weibull. Эти модели были применены к профилю высвобождения мангиферина из пленок, полученных с использованием гиалуроновой кислоты двух марок. Результаты расчета параметров моделей приведены в таблице 3.

Модели Korsmeyer – Peppas, Peppas – Sahlin и Weibull в наилучшей степени описывают кинетику высвобождения мангиферина из полимерных матриц на основе гиалуроновой кислоты. Значение параметра  $n$  в модели Korsmeyer – Peppas для всех анализируемых образцов, кроме ГК1\_25 и ГК1\_15, превышает 1,00, что свидетельствует об аномальном механизме диффузии биологически активного агента из полимерного слоя по типу Super Case II transport mechanism [41–43]. Подобный механизм высвобождения мангиферина в этом случае обусловлен гидрофильной природой гиалуроновой кислоты, быст-

**Таблица 3. Кинетические параметры высвобождения мангиферина из образцов на основе гиалуроновой кислоты**

**Table 3. Kinetic parameters of mangiferin release from the samples based on hyaluronic acid**

Модель и параметры Model and parameters		Наименование образца Sample name					
		ГК1_25 HA1_25	ГК1_15 HA1_15	ГК1_5 HA1_5	ГК2_25 HA2_25	ГК2_15 HA2_15	ГК2_5 HA2_5
Нулевой порядок Zero order	$K_0$	0,10658	0,19426	0,64742	0,14085	0,14950	0,72543
	$R^2$	0,58515	0,7125	0,64914	0,77886	0,40097	0,88507
Первый порядок First order	$K_F$	0,00424	0,00664	0,00763	0,00864	0,00268	0,00961
	$R^2$	0,49494	0,56313	0,48119	0,61809	0,26783	0,66875
Higuchi	$K_H$	2,21371	3,30737	10,90744	2,10289	3,86734	9,0445
	$R^2$	0,90234	0,90631	0,84131	0,91837	0,56117	0,94561
Hixson – Crowell	$K_S$	-0,00993	-0,01286	-0,01973	-0,01208	-0,01077	-0,02052
	$R^2$	0,37432	0,46433	0,47319	0,53554	0,30248	0,57855
Korsmeyer – Peppas ( $Q_t/Q_0 < 0,6$ )	$K_K$	0,02732	0,01671	0,00524	0,01102	0,02203	0,00908
	$n$	0,97471	0,99543	1,30021	1,03805	1,11265	1,05658
	$R^2$	0,99989	0,99993	0,98966	0,99999	0,99965	0,99890
Korsmeyer – Peppas (все данные) Korsmeyer – Peppas (all data)	$K_K$	0,07498	0,02816	0,00324	0,08379	0,42347	0,05766
	$n$	0,63405	0,83729	1,44488	0,50247	0,18354	0,56781
	$R^2$	0,94795	0,98948	0,99266	0,91838	0,87585	0,95249
Peppas – Sahlin	$K_1$	0,08436	0,03765	0,0292	0,01523	0,16211	0,01279
	$K_2$	-0,00169	$-3,3911 \cdot 10^{-4}$	$-1,9716 \cdot 10^{-4}$	$-5,4461 \cdot 10^{-5}$	-0,00619	$-4,0278 \cdot 10^{-5}$
	$m$	0,66501	0,81308	0,88258	0,99795	0,54923	1,00289
	$R^2$	0,98981	0,98492	0,94665	0,99188	0,94168	0,99602
Weibull	$\alpha$	0,02182	0,00729	$6,0028 \cdot 10^{-4}$	0,00260	0,00207	0,00411
	$\beta$	1,15873	1,3456	2,04681	1,53902	2,08613	1,35633
	$R^2$	0,99631	0,99894	0,99287	0,99812	0,99940	0,99968

**Таблица 4.** Емкость полимерной матрицы и эффективность инкапсуляции мангиферина в полимерной матрице на основе гиалуроновой кислоты ( $n = 3, \pm SD$ )

**Table 4.** Drug loading capacity and encapsulation efficiency of mangiferin-loaded polymer films based on hyaluronic acid ( $n = 3, \pm SD$ )

Наименование образца Sample name	Емкость полимерной матрицы, % Drug loading capacity of the polymer matrix, %		Эффективность инкапсуляции, % Encapsulation efficiency, %	
	Теоретическая Theoretical	Экспериментальная Experimental	Теоретическая Theoretical	Экспериментальная Experimental
ГК1_25 HA1_25	3,85	3,39 ± 0,09	~100,0	96,03 ± 2,64
ГК1_15 HA1_15	6,25	5,20 ± 0,15	~100,0	95,12 ± 3,21
ГК1_5 HA1_5	16,67	14,74 ± 0,28	~100,0	98,56 ± 2,10
ГК2_25 HA2_25	3,85	3,63 ± 0,04	~100,0	99,25 ± 1,02
ГК2_15 HA2_15	6,25	5,18 ± 0,11	~100,0	98,35 ± 1,87
ГК2_5 HA2_5	16,67	14,18 ± 0,09	~100,0	95,73 ± 0,98

рым набуханием полимерной матрицы, а также значительным опережением темпов диффузии мангиферина по сравнению со скоростью релаксации полимера [33].

Параметр  $n$  модели Korsmeyer – Peppas для образцов ГК1\_25 и ГК1\_15 составляет 0,97471 и 0,99543 соответственно, что для тонких пленок свидетельствует об аномальном диффузионном механизме высвобождения не по закону Фика ( $0,5 < n < 1,0$ ) [43, 44]. В этом случае скорости диффузии мангиферина и релаксации полимера сопоставимы [34]. Таким образом, кинетика высвобождения зависит также от содержания мангиферина в полимерной матрице, а не только от молекулярной массы полимера.

В уравнении Weibull параметр формы  $\beta$  характеризует форму кривой высвобождения. Так, при  $\beta = 1,0$  кривая высвобождения представляет собой экспоненциальную форму, при  $\beta > 1,0$  – сигмоидальную форму и при  $\beta < 1,0$  – параболическую форму [33, 45]. Для исследуемых пленок на основе гиалуроновой кислоты параметр формы  $\beta$  больше 1,0, что соответствует сигмоидальной форме профиля высвобождения мангиферина. Помимо этого, значение  $\beta > 1,26$  для большинства образцов (кроме образца ГК1\_25) свидетельствует о сложном механизме высвобождения биологически активного агента (Super Case II transport) [33, 34, 43]. Для образца ГК1\_25,  $\beta = 1,15873$  ( $0,65 < \beta < 1,26$ ) обнаруживается аномальный характер высвобождения (диффузия не по закону Фика) [43]. Данная модель вносит некоторое уточнение к модели Korsmeyer – Peppas, в особенности для образцов на основе гиалуроновой кислоты с молекулярной массой 1,30 МДа с низким содержанием мангиферина.

Таким образом, модель Weibull описывает кинетику полного высвобождения мангиферина с большей точностью по сравнению с другими используе-

мыми моделями. Эта модель достаточно гибкая и позволяет описывать сложные системы, в том числе на основе гидрофильных полимеров, обладающих способностью набухать в процессе высвобождения БАВ.

Результаты определения емкости полимерной матрицы и эффективности инкапсуляции мангиферина в полимерной матрице на основе гиалуроновой кислоты приведены в таблице 4.

Из представленной таблицы видно, что в целом эффективность инкапсуляции для всех полимерных образцов имеет высокие значения (более 90 %) и не имеет явной зависимости от содержания мангиферина в системе и от молекулярной массы гиалуроновой кислоты.

Емкость полимерной матрицы напрямую зависит от исходного количества мангиферина, загруженного в полимерную матрицу, и увеличивается с увеличением содержания мангиферина в системе. В то же время авторами обнаружено, что дальнейшее увеличение содержания мангиферина в исходном формулируемом полимерном растворе не приводит к выпадению осадка, поэтому массовое соотношение гиалуроновой кислоты и мангиферина может быть увеличено для усиления терапевтического эффекта. Разницу между теоретическими и экспериментальными значениями емкости полимерной матрицы можно объяснить наличием остаточных количеств связанной воды и ДМСО в образцах.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для изучения кинетики высвобождения мангиферина из полимерной матрицы использовались пленки на основе гиалуроновой кислоты двух молекулярных масс, а также фосфатный буферный раствор с pH 7,4.

При этом важно отметить, что активирующие агенты 4-диметиламинопиридин или 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид не применялись в данном исследовании для включения мангиферина в матрицу гиалуроновой кислоты.

Исследование кинетики высвобождения мангиферина из полимерной матрицы показало, что высвобождение мангиферина проходит по сигмоидальной форме и имеет сложный механизм типа Super Case II transport, за исключением образца ГК1\_25, для которого обнаруживается аномальный характер высвобождения (диффузия не по закону Фика). При этом наиболее подходящей является модель Weibull, описывающая кинетику высвобождения мангиферина с большей точностью по сравнению с другими математическими моделями.

Эффективность инкапсуляции мангиферина в полимерной матрице не зависит от содержания БАВ в системе и от молекулярной массы гиалуроновой кислоты и составляет более 90 %, что является высоким показателем.

Емкость полимерной матрицы прямо пропорциональна количеству загруженного мангиферина; расхождение экспериментальных и расчетных значений обусловлено наличием связанной воды и ДМСО в полимерных образцах.

Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшего усовершенствования разработанных полимерных систем доставки мангиферина, в частности для обеспечения их ограниченного набухания и контролируемого (продолжительного) высвобождения активного агента путем проведения химической и/или физической сшивки полимерной матрицы.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Chen J., Sun R., Pan C., Sun Y., Mai B., Li Q. X. Antibiotics and food safety in aquaculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020;68(43):11908–11919. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c03996.
- Manyi-Loh C., Mamphweli S., Meyer E., Okoh A. Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: potential public health implications. *Molecules*. 2018;23(4):795. DOI: 10.3390/molecules23040795.
- Liu X., Steele J. C., Meng X.-Z. Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: A review. *Environmental Pollution*. 2017;223:161–169. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.01.003.
- Casey J. A., Tartof S. Y., Davis M. F., Nachman K. E., Price L., Liu C., Yu K., Gupta V., Innes G. K., Tseng H. F., Do V., Pressman A. R., Rudolph K. E. Impact of a Statewide Live-stock Antibiotic Use Policy on Resistance in Human Urine *Escherichia coli* Isolates: A Synthetic Control Analysis. *Environmental Health Perspectives*. 2023;131(2):027007. DOI: 10.1289/ehp11221.
- Dutta T. K., Yadav S. K., Chatterjee A. Antibiotics as feed additives for livestock: Human health concerns. *Indian Journal of Animal Health*. 2019;58(2-Special Issue):121–136. DOI: 10.36062/ijah.58.2spl.2019.121-136.
- Simjee S., Ippolito G. European regulations on prevention use of antimicrobials from January 2022. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*. 2022;44:e000822. DOI: 10.29374/2527-2179.bjvm000822.
- Umair M., Hassan B., Farzana R., Ali Q., Sands K., Matthias J., Afegbua S., Haque M. N., Walsh T. R., Mohsin M. International manufacturing and trade in colistin, its implications in colistin resistance and One Health global policies: a microbiological, economic, and anthropological study. *The Lancet Microbe*. 2023;4(4):e264–e276. DOI: 10.1016/s2666-5247(22)00387-1.
- Alghirani M. M., Chung E. L. T., Jesse F. F. A., Sazili A. Q., Loh T. C. Could Probiotics replace Antibiotics as Feed Additives to Stimulate Production Performance and Health Status in Poultry? An Overview. *Journal of Advanced Veterinary Research*. 2021;11(4):254–265.
- Gheisar M. M., Kim I. H. Probiotics in poultry and swine nutrition – a review. *Italian Journal of Animal Science*. 2017;17(1):92–99. DOI: 10.1080/1828051x.2017.1350120.
- Du S., Liu H., Lei T., Xie X., Wang H., He X., Tong R., Wang Y. Mangiferin: An effective therapeutic agent against several disorders (Review). *Molecular Medicine Reports*. 2018;18(6):4775–4786. DOI: 10.3892/mmr.2018.9529.
- Jyotsna N., Khare P., Shanker K. Mangiferin: A review of sources and interventions for biological activities. *Bio-Factors*. 2016;42(5):504–514. DOI: 10.1002/biof.1308.
- Biswas T., Sen A., Roy R., Maji S., Maji H. S. Isolation of Mangiferin from Flowering Buds of *Mangifera indica* L and its Evaluation of *in vitro* Antibacterial Activity. *Research & Reviews: Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2015;4(3):49–56.
- Singh S. K., Tiwari R. M., Sinha S. K., Danta C. C., Prasad S. K. Antimicrobial evaluation of mangiferin and its synthesized analogues. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012;2(2):S884–S887. DOI: 10.1016/s2221-1691(12)60329-3.
- Loan N. T. T., Long D. T., Yen P. N. D., Hanh T. T. M., Pham T. N., Pham D. T. N. Purification Process of Mangiferin from *Mangifera indica* L. Leaves and Evaluation of Its Bioactivities. *Processes*. 2021;9(5):852. DOI: 10.3390/pr9050852.
- Zheng M. S., Lu Z. Y. Antiviral effect of mangiferin and isomangiferin on herpes simplex virus. *Chinese medical journal*. 1990;103(2):160–165.
- Rechenchoski D. Z., Agostinho K. F., Faccin-Galhardi L. C., Garcia Lonni A. A. S., Honório da Silva J. V., Goulart de Andrade F., Pacheco Cunha A., Pontes Silva Ricardo N. M., Nozawa C., Carvalho Linhares R. E. Mangiferin: A promising natural xanthone from *Mangifera indica* for the control of acyclovir – resistant herpes simplex virus 1 infection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2020;28(4):115304. DOI: 10.1016/j.bmc.2020.115304.
- Grienke U., Schmidtke M., von Grafenstein S., Kirchmair J., Liedl K. R., Rollinger J. M. Influenza neuraminidase: A druggable target for natural products. *Natural Product Reports*. 2012;29(1):11–36. DOI: 10.1039/c1np00053e.
- Mei S., Ma H., Chen X. Anticancer and anti-inflammatory properties of mangiferin: A review of its molecular mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*. 2021;149:111997. DOI: 10.1016/j.fct.2021.111997.
- Saha S., Sadhukhan P., Sil P. C. Mangiferin: A xanthone with multipotent anti-inflammatory potential. *BioFactors*. 2016;42(5):459–474. DOI: 10.1002/biof.1292.

20. Adin S. N., Gupta I., Aqil M., Mujeeb M., Ahad A. BBD Driven Optimization of Extraction of Therapeutically Active Xanthanoid Mangiferin from *Mangifera indica* L. Leaves and its Antioxidant Activity. *Pharmacognosy Research*. 2022;15(1):84–93. DOI: 10.5530/097484900279.
21. Khurana R. K., Kaur R., Kaur M., Kaur R., Kaur J., Kaur H., Singh B. Exploring and validating physicochemical properties of mangiferin through GastroPlus® software. *Future Science OA*. 2017;3(1):FSO167. DOI: 10.4155/fsoa-2016-0055.
22. Morozkina S. N., Nhung Vu T. H., Generalova Y. E., Snetkov P. P., Uspenskaya M. V. Mangiferin as new potential anti-cancer agent and mangiferin-integrated polymer systems—a novel research direction. *Biomolecules*. 2021;11(1):79. DOI: 10.3390/biom11010079.
23. Kim D. H., Jeong E. W., Baek Y., Lee H. G. Development of propolis extract-loaded nanoparticles with chitosan and hyaluronic acid for improving solubility and stability. *LWT*. 2023;181:114738. DOI: 10.1016/j.lwt.2023.114738.
24. Wu T., Han W., Han Y., Ma L., Li M., Sun Y., Liua B., Tian B., Fu Q. Fabrication and characterization of zein-sodium alginate complex nanoparticles as an effective naringenin delivery system: Physicochemical stability, solubility, antioxidant activity. *Journal of Molecular Liquids*. 2023;386:122569. DOI: 10.1016/j.molliq.2023.122569.
25. Fallacara A., Baldini E., Manfredini S., Vertuani S. Hyaluronic Acid in the Third Millennium. *Polymers*. 2018;10(7):701. DOI: 10.3390/polym10070701.
26. Falbo F., Spizzirri U. G., Restuccia D., Aiello F. Natural Compounds and Biopolymers-Based Hydrogels Join Forces to Promote Wound Healing. *Pharmaceutics*. 2023;15(1):271. DOI: 10.3390/pharmaceutics15010271.
27. Bayer I. S. Hyaluronic Acid and Controlled Release: A Review. *Molecules*. 2020;25(11):2649. DOI: 10.3390/molecules25112649.
28. Jabbari F., Babaeipour V., Saharkhiz S. Comprehensive review on biosynthesis of hyaluronic acid with different molecular weights and its biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;240:124484. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124484.
29. Snetkov P., Zakharova K., Morozkina S., Olekhnovich R., Uspenskaya M. Hyaluronic Acid: The Influence of Molecular Weight on Structural, Physical, Physico-Chemical, and Degradable Properties of Biopolymer. *Polymers*. 2020;12(8):1800. DOI: 10.3390/polym12081800.
30. Chi Y., Huang Y., Kang Y., Dai G., Liu Z., Xu K., Zhong W. The effects of molecular weight of hyaluronic acid on transdermal delivery efficiencies of dissolving microneedles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2022;168:106075. DOI: 10.1016/j.ejps.2021.106075.
31. Lee J. H., Tachibana T., Wadamori H., Yamana K., Kawasaki R., Kawamura S., Isozaki H., Sakuragi M., Akiba I., Yabuki A. Drug-Loaded Biocompatible Chitosan Polymeric Films with Both Stretchability and Controlled Release for Drug Delivery. *ACS Omega*. 2023;8(1):1282–1290. DOI: 10.1021/acsomega.2c06719.
32. Raveendran R. L., Anirudhan T. S. Development of Macroscopically Ordered Liquid crystalline hydrogel from Biopolymers with robust Antibacterial activity for controlled drug delivery applications. *Polymer Chemistry*. 2021;12(27):3992–4005. DOI: 10.1039/D1PY00610J.
33. Shirvan A. R., Hemmatinejad N., Bahrami S. H., Bashari A. A comparison between solvent casting and electrospinning methods for the fabrication of neem extract-containing buccal films. *Journal of Industrial Textiles*. 2022;51(1\_suppl):3115–3355. DOI: 10.1177/15280837211027785.
34. Filippova N. I., Teslev A. A. Application of mathematical modeling in the evaluation of *in vitro* drug release. *Drug development & registration*. 2017;4:218–226. (In Russ.)
35. Sjöholm E., Mathiyalagan R., Rajan Prakash D., Lindfors L., Wang Q., Wang X., Ojala S., Sandler N. 3D-Printed Veterinary Dosage Forms—A Comparative Study of Three Semi-Solid Extrusion 3D Printers. *Pharmaceutics*. 2020;12(12):1239. DOI: 10.3390/pharmaceutics12121239.
36. Herold S. E., Kyser A. J., Orr M. G., Mahmoud M. Y., Lewis W. G., Lewis A. L., Steinbach-Rankins J. M., Frieboes H. B. Release Kinetics of Metronidazole from 3D Printed Silicone Scaffolds for Sustained Application to the Female Reproductive Tract. *Biomedical Engineering Advances*. 2023;5:100078. DOI: 10.1016/j.bea.2023.100078.
37. Yoo J., Won Y.-Y. Phenomenology of the Initial Burst Release of Drugs from PLGA Microparticles. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2020;6(11):6053–6062. DOI: 10.1021/acsbmaterials.0c01228.
38. Huang X., Brazel C. S. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*. 2001;73(2–3):121–136. DOI: 10.1016/s0168-3659(01)00248-6.
39. Bakhrushina E. O., Sakharova P. S., Konogorova P. D., Pyzhov V. S., Kosenkova S. I., Bardakov A. I., Zubareva I. M., Krasnyuk I. I., Krasnyuk I. I. Jr. Burst Release from In Situ Forming PLGA-Based Implants: 12 Effectors and Ways of Correction. *Pharmaceutics*. 2024;16(1):115. DOI: 10.3390/pharmaceutics16010115.
40. Yarcе C. J., Pineda D., Correa C. E., Salamanca C. H. Relationship between Surface Properties and In Vitro Drug Release from a Compressed Matrix Containing an Amphiphilic Polymer Material. *Pharmaceutics*. 2016;9(3):34. DOI: 10.3390/ph9030034.
41. Strankowska J., Grzywińska M., Łęgoska E., Józefowicz M., Strankowski M. Transport Mechanism of Paracetamol (Acetaminophen) in Polyurethane Nanocomposite Hydrogel Patches—Cloisite® 30B Influence on the Drug Release and Swelling Processes. *Materials*. 2024;17(1):40. DOI: 10.3390/ma17010040.
42. Danyuo Y., Ani C. J., Salifu A. A., Obayemi J. D., Dozie-Nwachukwu S., Obanawu V. O., Akpan U. M., Odusanya O. S., Abade-Abugre M., McBagonluri F., Soboyejo W. O. Anomalous Release Kinetics of Prodigiosin from Poly-N-Isopropyl-Acrylamid based Hydrogels for The Treatment of Triple Negative Breast Cancer. *Scientific Reports*. 2019;9(1):3862. DOI: 10.1038/s41598-019-39578-4.
43. De Jesús Martín-Camacho U., Rodríguez-Barajas N., Sánchez-Burgos J. A., Pérez-Larios A. Weibull  $\beta$  value for the discernment of drug release mechanism of PLGA particles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023;640:123017. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.123017.
44. Ritger P. L., Peppas N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*. 1987;5(1):37–42. DOI: 10.1016/0168-3659(87)90035-6.
45. Papadopoulou V., Kosmidis K., Vlachou M., Macheras P. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;309(1–2):44–50. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2005.10.044.