https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-2-50-61
УДК 615.453.4.014.6

Check for updates

CC BY 4.0

Обзорная статья / Review article

Современные исследования в области микрокапсулирования (обзор)

Ю. А. Полковникова*, Н. А. Ковалёва

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»), 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1

***Контактное лицо:** Полковникова Юлия Александровна. **E-mail:** juli-polk@mail.ru

ORCID: Ю. А. Полковникова – https://orcid.org/0000-0003-0123-9526; Н. А. Ковалёва – https://orcid.org/ 0000-0002-3507-5665.

Статья поступила: 17.12.2020 **Статья принята в печать:** 01.04.2021 **Статья опубликована:** 25.05.2021

Резюме

Введение. Микрокапсулирование – одно из перспективных направлений получения новых лекарственных форм. Особенность микрокапсулированных форм заключается в том, что вещество защищено от воздействия различных факторов окружающей среды, которые могут вызвать их разрушение (кислотность желудочного сока, влияние пищи, совместный прием других препаратов, заболевания желудочно-кишечного тракта и т. п.). Данный метод применяется для различных групп препаратов, таких как антибиотики, ноотропы, витамины, пробиотики, противосудорожные препараты, ферменты. Особое внимание следует уделить антибактериальным препаратам, так как возможность микрокапсулирования решает одну из важнейших проблем терапии антибиотиками – резистентность микроорганизмов.

Текст. Цель обзора – анализ современных исследований в области микрокапсулирования, изучение тенденций и направлений по созданию микрокапсул с высокой активностью и биодоступностью и с минимальными побочными эффектами. В статье приводятся краткие сведения и основные выводы по разработке методик и подбору условий для микрокапсулирования индивидуальных лекарственных веществ, по изучению полимеров различной природы для использования в качестве носителей, по способам формирования двойных оболочек микрокапсул, а также исследована эффективность микрокапсулирования биологически активных веществ, таких как антибактериальные препараты, вещества растительного и животного происхождения, и препаратов из различных фармакологических групп. Приведены варианты методик микрокапсулирования для конкретных соединений, которые подходят для сходных по составу и действию веществ, а также способы создания микрокапсул с двойными оболочками для нерастворимых в воде соединений.

Заключение. В статье показаны достижения и перспективы использования микрокапсулирования лекарственных веществ и их преимущества перед стандартными лекарственными формами. Активное внедрение разработанных методик в производство позволит создать новые лекарственные формы с известными лекарственными веществами, обладающими пролонгированным действием, что позволит сократить кратность применения препарата, а также сохраняющими свою активность под влиянием негативных факторов внутренней среды организма. Также в форме микрокапсул вещества проявляют большую активность в сравнении с незакапсулированными веществами.

Ключевые слова: микрокапсулирование, полимер, пролонгированная лекарственная форма, антибактериальные препараты, ферменты, двойная оболочка, двойные эмульсии, биодоступность, высвобождение

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

Вклад авторов. Ю. А. Полковникова осуществила обзор публикаций, написание текста рукописи, проверку конечной версии рукописи и перевод. Н. А. Ковалёва сделала обзор публикаций, оформление рукописи.

Для цитирования: Полковникова Ю. А., Ковалёва Н. А. Современные исследования в области микрокапсулирования. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(2):50–61. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-2-50-61

Modern Research in the Field of Microencapsulation (Review)

Yulia A. Polkovnikova*, Nalalia A. Kovaleva

Voronezh State University, 1, University sq., Voronezh, 39401, Russia

***Corresponding author:** Yulia A. Polkovnikova. **E-mail:** juli-polk@mail.ru

ORCID: Yulia A. Polkovnikova – https://orcid.org/0000-0003-0123-9526; Nalalia A. Kovaleva – https://orcid.org/ 0000-0002-3507-5665.

Received: 17.12.2020 **Revised:** 01.04.2021 **Published:** 25.05.2021

Abstract

Introduction. Microencapsulation is one of the promising areas for obtaining new dosage forms. The peculiarity of microencapsulated forms is that the substance is protected from the effects of various environmental factors that can cause their destruction (acidity of gastric juice, the effect of food, joint intake of other drugs, diseases of the gastrointestinal tract, etc.). This method is used for various groups of drugs, such as antibiotics, nootropics, vitamins, probiotics, anticonvulsants, enzymes. Particular attention should be paid to antibacterial drugs, since the possibility of microencapsulation solves one of the most important problems in antibiotic therapy – the resistance of microorganisms.

Text. The purpose of the review is to analyze modern research in the field of microencapsulation, to study trends and directions for the creation of microcapsules with high activity and bioavailability and with minimal side effects. The article provides brief information and main conclusions on the development of techniques and selection of conditions for microencapsulation of individual medicinal substances, on the study of polymers of various natures for use as carriers, on the methods of forming double shells of microcapsules, and also investigated the efficiency of microencapsulation of biologically active substances, such as antibacterial preparations, substances of plant and animal origin and preparations from various pharmacological groups. Variants of microencapsulation techniques for specific compounds that are suitable for substances similar in composition and action, as well as methods for creating microcapsules with double shells for compounds insoluble in water, are presented.

© Полковникова Ю. А., Ковалёва Н. А., 2021
© Polkovnikova Yu. A., Kovaleva N. A., 2021

Conclusion. The article shows the achievements and prospects of using microencapsulation of medicinal substances and their advantages over standard dosage forms. The active introduction of the developed methods into production will allow the creation of new dosage forms with known medicinal substances that have a prolonged effect, which will reduce the frequency of use of the drug, as well as retain their activity under the influence of negative factors of the internal environment of the body. Also, in the form of microcapsules, the substances are more active in comparison with non-encapsulated substances.

Keywords: microencapsulation, polymer, prolonged dosage form, antibacterial drugs, enzymes, double shell, double emulsions, bioavailability, release

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. Yulia A. Polkovnikova carried out a review of publications, writing the text of the manuscript, checking the final version of the manuscript and translating. Nalalia A. Kovaleva reviewed publications, manuscript design.

For citation: Polkovnikova Yu. A., Kovaleva N. A. Modern research in the field of microencapsulation. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(2):50–61. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-2-50-61

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы микрокапсулирование активных фармацевтических субстанций (АФС) активно изучается. Проводится большое количество исследований, посвященных выбору условий микрокапсулирования для конкретных АФС, особенностям фармакологического действия инкапсулированных лекарственных препаратов, их высвобождению и биодоступности, подбору полимеров для микрокапсулирования и их влиянию на вещество, разработке методик инкапсулирования АФС, проведению качественного и количественного анализа микрокапсул.

Особенность микрокапсулированных форм заключается в том, что вещество защищено от воздействия различных факторов окружающей среды, которые могут вызвать их разрушение (кислотность желудочного сока, влияние пищи, совместный прием других препаратов, заболевания желудочно-кишечного тракта и т. п.). В такой форме лекарственный препарат достигает органа-мишени с максимальной биодоступностью.

Данный метод применяется для различных групп препаратов, таких как антибиотики, ноотропы, витамины, пробиотики, противосудорожные препараты, ферменты и ряд других.

УСЛОВИЯ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОКАПСУЛ

К каждому объекту, в зависимости от его физико-химических свойств, необходимо подбирать соответствующие условия получения микрокапсул [1].

Одной из первых технологий получения микрокапсул является коацервация, или фазовое разделение. Коацервация представляет собой процесс образования в растворе высокомолекулярных соединений, обогащенных растворенным веществом. В качестве примера коацервации можно привести получение микрокапсул токоферола ацетата. Полимерами служат водорастворимые соединения – смесь желатина и аравийской камеди. В уксуснокислой среде желатин приобретает положительный заряд и взаимодействует с аравийской камедью с образованием полиэлектролитного коацерватного комплекса. При медленном охлаждении вводят белый уголь и проводят обезвоживание изопропиловым спиртом, сушат. Получаются микрокапсулы с диаметром частиц 100–200 мкм.

На основе микрокапсул возможно производство таких лекарственных форм, как таблетки, суспензии, подкожные имплантаты [2].

ТИПЫ ПОЛИМЕРОВ-НОСИТЕЛЕЙ

Большая роль отводится выбору полимера для микрокапсулирования. В качестве оболочки нередко используется альгинат натрия – водорастворимый и биодеградируемый полимер. Его часто применяют в качестве антацидного средства, а также как загуститель в пищевой промышленности. Проведено исследование микрокапсулирования АФС в альгинат натрия. В основе процесса лежит образование оболочек вокруг образующихся микрокапсул при введении альгината натрия в соли кальция и образование ионно-сшитых микрогелей альгината кальция (рисунок 1).

Использовались такие ЛВ, как акридон, фурацилин, тетрациклин, дибазол и метронидазол. Наилучшие результаты микрокапсулирования акридона были получены ультразвуковым диспергированием смеси, что позволило сократить время получения микрокапсул, увеличить количество получаемых микрокапсул, а также улучшить физико-химические характеристики микрокапсулируемого вещества. Анализ влияния природы растворителя показал, что при использовании этанола выход продукта больше, чем при использовании ацетона. Для микрокапсулирования остальных веществ применен метод с использованием магнитной мешалки, так как при применении

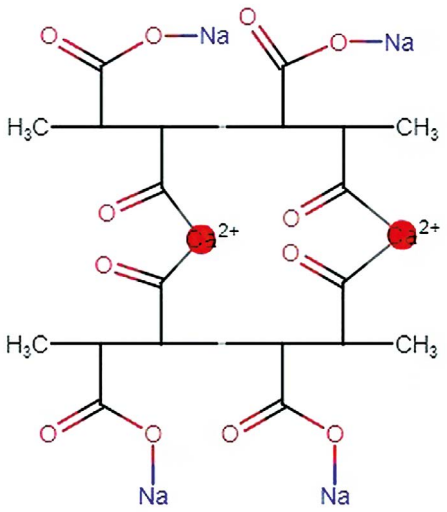

Рисунок 1. Ионно-сшитые микрогели альгината кальция

Figure 1. Ion-crosslinked calcium alginate microgels

ультразвукового диспергатора происходил перегрев реакционной смеси и коагулирование тонкой дисперсии. Результаты исследования свидетельствуют о том, что для каждого инкапсулированного вещества необходимо подбирать индивидуальные условия проведения процесса. Исследовано влияние pH на процесс седиментации фурацилина. С увеличением pH среды устойчивость водных дисперсий микрокапсул увеличивается [3].

Помимо альгината натрия в качестве оболочки используют поливиниловый спирт (ПВС) и поливинилпирролидон (ПВП). Это водорастворимые полимеры, используемые для микрокапсулирования нерастворимых в воде соединений, таких как, например, антибактериальные лекарственные препараты. В водорастворимой форме повышается степень их биодоступности. Методом осаждения полимера на поверхности вещества путем замены растворителя получены микрокапсулы производного акридона – 4-карбоксиакридона, обладающего антибактериальной, противовирусной и противоопухолевой активностью. Методом ИК-спектроскопии установлено, что вещество находится внутри капсулы и отсутствует на поверхности. При анализе антимикробной активности микрокапсул 4-карбоксиакридона доказано, что активность инкапсулированного вещества не отличается от активности исходного. Проведенное исследование подтверждает, что оболочки из ПВС и ПВП не снижают активность инкапсулированного АФС, а полное включение его внутрь полимера защищает от воздействия вредных факторов внутренней среды организма [4].

Также широко используются для микрокапсулирования водонерастворимые полусинтетические полимеры – эфиры целлюлозы, такие как ацетилцеллюлоза, этилцеллюлоза и нитроцеллюлоза. Разработаны методики инкапсулирования АФС с их использованием. Примером данного процесса является микрокапсулирование акридинуксусной кислоты, обладающей противовирусным, иммуностимулирующим и противовоспалительным действием. Микрокапсулы получены физико-химическим методом с переосаждением полимера на поверхности АФС путем замены растворителя. В качестве осадителя использован водный раствор ацетона, в котором осаждение происходит не так активно и на поверхности формируется плотная оболочка полимера. Методом ИК-спектроскопии установлено, что на поверхности оболочки отсутствуют частицы инкапсулированного вещества. Методом тонкослойной хроматографии подтверждено наличие АФС в микрокапсулах. Для количественного определения применяется УФ-спектрофотометрия. Наибольшим выходом характеризуются микрокапсулы нитроцеллюлозы [5].

СОЗДАНИЕ МИКРОКАПСУЛИРОВАННЫХ ФОРМ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Микрокапсуляция клеток животных позволяет не только снижать иммуногенность, но и предотвращать миграцию инкапсулированных клеток. Чаще всего для микрокапсулирования таких клеток используются альгинатные/поли-L-лизиновые микросферы [6].

Клетки помещают в раствор альгината натрия и с помощью раствора хлорида кальция получают микрокапсулы за счет образования ионно-сшитого комплекса. Полученные микрокапсулы помещают в раствор поли-L-лизина, образующий их внешнюю оболочку. В основе лежит взаимодействие между положительно заряженными аминогруппами поли-L-лизина и свободными отрицательно заряженными карбоксильными группами альгината. Толщина оболочки регулируется концентрацией поли-L-лизина. Полученные микрокапсулы необходимо выдержать в растворе альгината натрия для нейтрализации свободных положительно заряженных аминогрупп поли-L-лизина.

При лечении гипотиреоза основным методом является пероральное введение гормонов щитовидной железы. Данный метод имеет ряд недостатков, в том числе низкую биодоступность и побочные эффекты. Проведено исследование по микрокапсулированию клеток щитовидной железы свиньи в качестве метода замещения тиреоидных гормонов. Полимер, в который заключена ткань, предотвращает проникновение антител, что позволяет проводить имплантацию органоидов с клетками щитовидной железы. Это даст возможность отказаться от иммуносупрессии пациентов. Клетки щитовидной железы свиней выделяли и инкапсулировали в альгинат-поли-L-орнитин-альгинатные микрокапсулы с помощью микрофлюидного устройства. Принцип метода описан выше на примере альгинат-поли-L-лизин-альгинатных микрокапсул. Результаты исследования показали, что высвобождение тироксина из инкапсулированных клеток было выше, чем из неинкапсулированных ($P < 0,05$), и сохраня-

лось на протяжении всего эксперимента (>28 дней). Эти результаты позволяют предположить, что микрокапсулированные органоиды клеток щитовидной железы могут иметь потенциал для использования в терапии и/или скрининге лекарств [7].

Преодоление иммуногенности и отказ от применения иммуносупрессоров при микрокапсулировании тканей доказано в исследовании иммуноизоляции хондроцитами ушного хряща (CMI-islet) тканей островков поджелудочной железы крыс. Полученные микрокапсулы подвергались воздействию глюкозы. Исследование показало, что клетки способны выделять достаточное количество инсулина в соответствии с концентрацией глюкозы. В сравнении с обнаженными островками, они реагировали лучше. Секреция инсулина была подтверждена в течение 100 дней, что свидетельствует о выживаемости и секреторной активности.

Микрокапсулируя панкреатические островки с клетками реципиентного ушного хряща, можно поддерживать долгосрочную секрецию инсулина и улучшать реакцию на проблемы с глюкозой. Эта новая технология иммуноделюции отличается от других методов иммуноизоляции тем, что донорская ткань заключена в ткань реципиента, что позволяет трансплантированным клеткам быть распознанными как клетки реципиента. Этот метод микроинкапсуляции может привести к разработке жизнеспособных методов ксенотрансплантации, которые не используют иммуносупрессивные средства [8].

В одном из исследований получены микрокапсулы альбумина с лизоцимом. Цель микрокапсулирования – снижение иммуногенности. Для получения микрокапсул раствор альбумина химически сшивали с глутаровым диальдегидом, а затем добавляли АФС-лизоцим. Для предотвращения сшивки АФС с альбуминовой матрицей избыток глутарового диальдегида нейтрализовали бисульфитом натрия. Процесс заканчивался распылительной сушкой. Оценка биоактивности подтвердила, что лизоцим сохранил свои свойства и активность. В ходе исследований *in vivo* выявлено отсутствие повышения уровня антигенспецифического сывороточного IgG, что свидетельствует о безопасности и биосовместимости сшитого альбуминового матрикса [9].

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ МЕТОДАМИ МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЯ

Микрокапсулирование применяется не только для АФС, но и для различных ферментов. Проведено исследование по иммобилизации тиаминкиназы из печени свиньи. В результате исследования установлено, что иммобилизация фермента в гидрофобный носитель на основе бутадиенового каучука повышает ее стабильность и термоустойчивость. Гидрофильная оболочка из нитрата целлюлозы за счет нитрогруппы с отрицательным зарядом сосредотачивает около себя положительно заряженные молекулы тиамина и катионы магния, что снижает их содержание вокруг каталитического центра фермента и, следовательно, активность. Поэтому для микрокапсулирования возможно использовать гидрофобный носитель тиаминкиназы в качестве препарата с пролонгированным действием [10].

Также проведено исследование по инкапсулированию пепсина в 10%-й раствор мальтодекстрина. Для проведения микрокапсулирования ферментов был разработан специальный аппарат, в котором проводили струйное диспергирование. Данный аппарат отличался от ранее разработанных тем, что за счет диффузии мальтодекстрина в фермент обеспечивается его высокая длительная активность. У полученных с помощью этого аппарата микрокапсул были оценены протеолитические свойства и активность. Анализ результатов исследований показал, что чем толще слой мальтодекстрина, тем дольше сохраняется его первоначальная активность. Подтверждено, что мальтодекстрин обеспечил высокую твердость стенок капсулы, что позволяет использовать только это вещество в качестве эффективного капсулирующего материала без дополнительных добавок [11].

Трансглутаминаза (ТГ) – важный фермент, повышающий твердость, вязкость и водосвязывающую способность за счет катализа реакции сшивания белков. Получение микрокапсулированной формы ТГ позволяет сохранить активность фермента на длительное время. В исследовании фермент ТГ микрокапсулирован с использованием сублимационной сушки. Покрытие – манит, гуммиарабик и казеин. Оптимальные условия: скорость гомогенизации – 11 200 об/мин, время гомогенизации – 1,27 мин, смесь маннита, гуммиарабика и казеина в соотношении 38,2, 40,2 и 21,6 % соответственно. Остаточную активность микрокапсулированного фермента ТГ определяли методом фотоколориметрии. Она составила 93 %, а фермента без покрытия – 64 % при тех же условиях. Поскольку данный параметр является важной характеристикой фермента, можно сделать вывод, что применение сублимационной сушки способствует сохранению активности ТГ [12].

МИКРОКАПСУЛЫ – НОВАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА ИЗВЕСТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Создание микрокапсулированных форм применяется для ноотропных АФС. Помимо подбора условий процесса осуществляется комплексный анализ полученного продукта. В этой области проведено комплексное исследование альгинат-хитозановых микрокапсул с винпоцетином. Методом экструзии получены микрокапсулы с использованием в качестве полимера альгината натрия различной концентрации, а также раствор хитозана средней вязкости. Сшивание альгинатного комплекса проводилось раствором кальция

хлорида по механизму, описанному выше. Далее микрокапсулы помещали в раствор хитозана, где молекулы образовывали полиэлектролитный альгинат-хитозановый комплекс за счет взаимодействия между аминогруппами хитозана и свободными, не связанными ионами кальция, карбоксильными группами альгината натрия. Комплексообразование происходит по механизму электростатического взаимодействия между противоположно заряженными функциональными группами. Методом атомно-силовой микроскопии проведено сравнение микрокапсул, имеющих хитозановую оболочку и без нее. В результате установлено, что поверхность частиц имеет характерные отличия с увеличением концентрации альгината натрия (рисунок 2).

Методом спектрофотометрии определено, что эффективность микрокапсулирования максимальна при концентрации альгината натрия 2,5 % (86,8 %) (рисунок 3).

При этом наибольшая степень высвобождения винпоцетина отмечена у образцов с концентрацией альгината натрия 1 % (41,17 %), но при концентрации 2,5 % отмечается постепенное высвобождение АФС, что позволяет использовать данные микрокапсулы для получения пролонгированных лекарственных препаратов.

В результате комплексных исследований установлено, что микрокапсулы можно использовать для получения капсульных лекарственных форм [13].

Методы микрокапсулирования используются для создания лекарсатвенных препаратов пролонгированного действия. Исследование поводили на примере модельных соединений – *о*-крезоксуксусной и акридонуксусной кислот, – оказывающих иммуностимулирущее и противовирусное действие. Оболочка – полимер Eudragit® L100, представляющий собой катионный сополимер метакриловой кислоты и метилметакрилата (1:1). Изучение кинетики высвобождения АФС из микрокапсул проводили спектрофотометрическим методом. Установлено, что наиболее длительное время высвобождения наблюдается при использовании в качестве наполнителя натрий карбоксиметилцеллюлозы (192 ч) и гуаровой камеди (168 ч). Данное исследование подтверждает возможность создания лекарственных препаратов пролонгированного действия с использованием данных полимеров [14].

Разработано получение микрокапсул урсодезоксихолевой кислоты (УДХК). Цель исследования – разработка микрокапсул УДХК для перорального применения с целью использования у больных сахарным диабетом 1 типа. УДХК для микрокапсулирования брали в виде суспензии в концентрации 1 мг/мл. В качестве матрицы использовался 2%-й раствор альгината натрия. Ионное сшивание проводили 2%-м раствором кальция хлорида. Полученные микрокапсулы испытывали на 3 равных группах мышей: 1-я получала УДХК; 2-я – пустые микрокапсулы; 3-я – микрокапсулы УДХК. Эксперимент показал, что микрокапсулы УДХК приводили к снижению повышенного уровня глюкозы в крови, уменьшению воспаления и изменению концентрации первичной и вторичной желчной кислоты. УДХК оказывает прямое защитное действие на β-клетки поджелудочной железы [15].

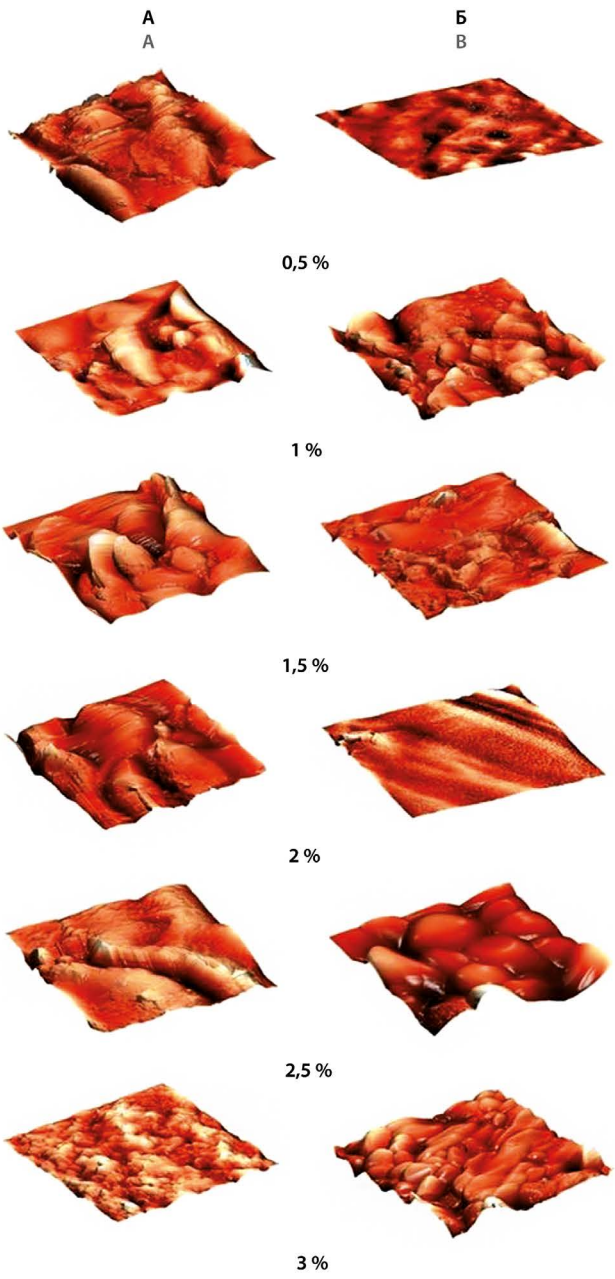

Рисунок 2. Трехмерные АСМ-изображения поверхности микрокапсул с различными концентрациями альгината натрия, обработанных раствором хитозана (А) и без хитозана (Б) при площади сканирования 5 × 5 мкм²
Figure 2. Three-dimensional AFM images of the surface of microcapsules with different concentrations of sodium alginate treated with a solution of chitosan (A) and without chitosan (B) at a scanning area of 5 × 5 microns²

Также проведены исследования по микрокапсулированию дутастерида – препарата для лечения заболеваний предстательной железы. Полимером явля-

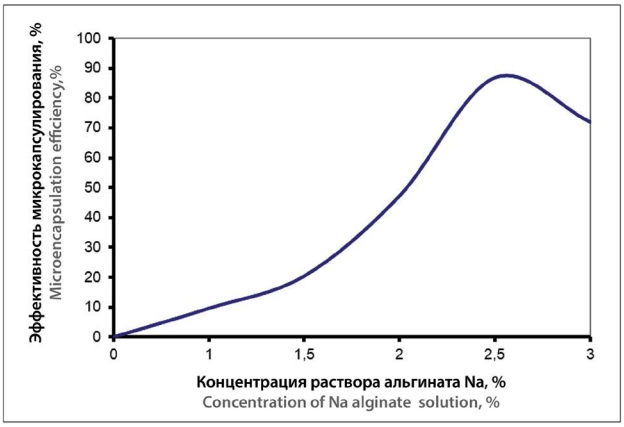

Рисунок 3. Зависимость эффективности микрокапсулирования от концентрации альгината натрия

Figure 3. Dependence of the microcapsulation efficiency on the concentration of sodium alginate

лась этилцеллюлоза в соотношении с препаратом 1:1, 1:3 и 1:5. АФС и этилцеллюлозу растворяли в дихлорметане, а затем эмульгировали в водном растворе поливинилового спирта (ПВС) с целью получения однородных по размеру микрокапсул. Размер полученных микрокапсул составлял 95–119 мкм с хорошей эффективностью и высвобождением. Методом Фурье-спектроскопии установлено, что между АФС и полимером образовалась водородная связь. Данный тип взаимодействия повышает растворимость гидрофобных молекул дудастерида, что, в свою очередь, повышает его высвобождение и биодоступность. Принимая в расчет физико-химические свойства и молекулярные взаимодействия веществ, можно получать микрокапсулы с заданными свойствами и интенсивностью высвобождения [16].

Заключение веществ в микрокапсулы позволяет не только повысить биодоступность и снизить вероятность развития побочных эффектов, но и маскировать неприятный вкус препаратов. Ярким примером служит инкапсуляция противоаллергического препарата – цетиризина дигидрохлорида – в наночастицы хитозана. Для получения микрокапсул использовали метод ионотропного гелеобразования с последующей распылительной сушкой. Хитозан в концентрации 0,5–2,0 % получали путем его растворения в разведенной уксусной кислоте. В полученном растворе производили растворение АФС с использованием магнитной мешалки до получения однородной смеси. Для образования ионного геля к смеси добавляли триполифосфат натрия. Образование микрокапсул происходит в результате взаимодействия отрицательно заряженных фосфатных групп триполифосфата натрия и положительно заряженных аминогрупп цетиризина. Полученные микрокапсулы имели гладкую поверхность и диаметр 0,5–5 мкм. Методом ВЭЖХ установлено, что эффективность инкапсулированной АФС составляет около 70 % независимо от концентрации цетиризина и соотношения АФС/полимер. Для определения степени высвобождения микрокапсулы высушивали распылительной сушкой, помещали на мембрану с размером пор 8 кДа в среду фосфатного буфера и инкубировали при 37 ± 0,5 °C в течение 12 часов. Далее методом ВЭЖХ отмечен высокий уровень высвобождения вещества в течение первых двух часов, а затем замедление и плавный выход оставшегося компонента. Данная методика применима для АФС, имеющих хорошую растворимость в воде, так как для процесса микрокапсуляции используется водный раствор хитозана и вещество должно в нем раствориться [17].

МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Проводятся исследования возможности микрокапсулирования пробиотиков. Для этого использовался кишечнорастворимый сополимер Eudragit® L100 и препарат, содержащий штаммы пробиотических микроорганизмов: *Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis*. Микрокапсулы получены физико-химическим методом переосаждения полимера на поверхность инкапсулируемого вещества путем замены растворителя. Наполнитель – Полисорб® и масляная основа. В результате качественного анализа микрокапсул установлено наличие азотсодержащих соединений, что доказывает наличие белка. Исследование подтвердило возможность использования сополимера Eudragit® L100 для микрокапсулирования пробиотиков [18].

Микрокапсулирование пробиотических бактерий *Lactobacillus plantarum* проводится в биокомпозите, состоящем из натрия альгината, пектина и желатина (1,06, 0,55 и 0,39 % соответственно). Полученные микрокапсулы показали большую выживаемость бактерий на 88,66 % по сравнению с некапсулированными бактериями. Далее проанализированы микрокапсулы, содержащие пробиотик и жирную кислоту – докозагексаеновая кислота (ДГК). Результаты подтвердили, что бактерии полностью захвачены матрицей, а ДГК увеличила гладкость поверхности частиц. Методом Фурье-спектроскопии установлено, что между ядром из альгинат-пектин-желатинового комплекса и ДГК образованы водородные связи. Это позволило обеспечить термическую стабильность таких микрокапсул по сравнению с бактериями, не заключенными в микрокапсулы [19].

МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЕ КАК СПОСОБ ПРЕОДОЛЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Микрокапсулирование активно применяется для антибактериальных препаратов. Поскольку антибиотики необходимо принимать несколько раз в сутки (перорально и/или парентерально), а также они имеют, как правило, невысокую биодоступность, помеще-

ние этих веществ в микрокапсулы позволит решить подобные проблемы. В этой области проведено исследование процесса микрокапсулирования таких антибактериальных препаратов, как окситетрациклин и цефтриаксон, в двойные оболочки, включающие два вида полимера: водорастворимый (альгинат натрия, поливиниловый спирт и поливинилпирролидон) – внешняя оболочка и водонерастворимый (ацетилцеллюлоза) – внутренняя оболочка. Использование внутренней водонерастворимой оболочки позволяет обеспечить разную скорость высвобождения АФС, варьируя размеры микрокапсулы. Внешняя водорастворимая оболочка, защищая от воздействия негативных факторов, повышает биодоступность АФС. В суспензию антибиотика вводили ацетоновый раствор ацетилцеллюлозы и осуществляли осаждение на поверхности АФС за счет постепенного прибавления дистиллированной воды (замена растворителя). Далее создавали вторую оболочку путем прибавления водного раствора альгината натрия или ПВС (ПВП), добавляя насыщенный раствор натрия хлорида (для достижения полноты осаждения).

Методом ИК-спектроскопии установлено наличие всех компонентов в микрокапсулах, а также подтверждено послойное нанесение полимеров на АФС. Выход антибиотиков из микрокапсул с ПВС и альгинатом натрия выше, чем с ПВП (соотношение 1:1:1). Использование двойных оболочек обеспечит пролонгированное действие препарата и создание оптимальной терапевтической концентрации лекарственного вещества в крови [20].

В настоящее время наблюдается тенденция к устойчивости бактерий к применяющимся антибактериальным препаратам. В связи с этим одним из методов лечения инфекционных заболеваний является фаготерапия. Разработана микрокапсулированная форма бактериофага на модели клебсиеллезного бактериофага. Бактериофаг предварительно концентрировали в 100 раз методом мембранной ультрафильтрации. В качестве носителя использовали натрия альгинат. Получение микрокапсул осуществляли несколькими способами. В первом случае в вазелиновое масло (дисперсионная среда) вливали гидрогель с бактериофагом на основе альгината натрия в концентрации от 0,25 до 3 %, который диспергировался на капли различного размера. С помощью кальция хлорида проводили сшивку, и оболочка затвердевала. Полученные микрокапсулы имели размер от 26 до 300 мкм. Во втором случае микрокапсулирование проводили аналогично, но без использования альгината натрия. Размер микрокапсул составил от 66 до 1250 мкм. Использование второй методики нецелесообразно, так как такие микрокапсулы имели неправильную форму, обладали неудовлетворительными технологическими характеристиками (сыпучесть, однородность дозирования). Оптимальными технологическими характеристиками обладают микрокапсулы, полученные на полимерном носителе с концентрацией от 1,0 до 2,0 %. Далее проводился подбор стабилизирующих веществ для бактериофага. Наилучшая стабильность наблюдалась в присутствии сахаров – сорбита, лактозы, маннита и метилцеллюлозы. Следующий этап – подбор вида и режима сушки. Экспериментально установлено, что наиболее оптимальной является вакуумная сушка однократным высушиванием при средней глубине вакуума. Стандартизацию проводили по показателям: внешний вид, влагосодержание, средняя масса и отклонение от средней массы, диаметр, литическая активность. Оценку фармакологической биодоступности разработанных микрокапсул с клебсиеллезным бактериофагом проводили *in vitro* в мерном стакане с магнитной мешалкой для жидкого клебсиеллезного бактериофага и в лабораторном индентификаторе процесса распадаемости для микрокапсулированного препарата. Исследования показали, что микрокапсулы с бактериофагом после воздействия кислой среды имеют большую биодоступность, чем бактериофаг в жидкой лекарственной форме. Создание микрокапсулированной формы бактериофага с кишечнорастворимой оболочкой позволяет использовать его для получения комплексных препаратов или в качестве самостоятельного лекарственного препарата [21].

В настоящее время фаготерапия выступает как одно из альтернативных решений проблем, возникающих в связи с устойчивостью патогенных бактерий к антибиотикам. Хотя фаготерапия успешно применяется как *in vitro*, так и *in vivo*, одной из самых больших проблем в этом отношении является стабильность фагов в среде организма. В рамках данного исследования была использована технология микрокапсулирования для повышения устойчивости фагов к физиологическим условиям, а полученные микрокапсулы были испытаны в средах, имитирующих условия организма. Для этой цели используют *Bacillus subtilis*, *Salmonella enterica subsp*. Фаги *Enterica serovar Typhimurium (Salmonella Typhimurium)* выделяли из различных источников и затем микрокапсулировали в 1,33%-й раствор альгината натрия с помощью распылительной сушки для минимизации повреждения физиологической среды. Исследована стабильность микрокапсул в моделируемой желудочной жидкости и среде желчных солей. Для изучения стабильности в среде желудка готовили раствор, состоящий из 0,2%-го раствора натрия хлорида и пепсина, с pH 2,4, добавляли в него микрокапсулы и инкубировали при температуре 37 °C. Отбор проб осуществляли на 0, 15, 30, 60 и 90-й минуте инкубирования. Титры фагов определяли методом двухслойного агара. Выявленное максимальное снижение титра инкапсулированных фагов после двухчасовой инкубации составило 2,29 логарифмической единицы для фага *B. subtilis*, 1,71 логарифмической единицы для фагов *S. Enteritidis* и 0,60 логарифмической единицы для фагов *S. Typhimurium,* в то время как свободные фаги теряли свою жизнеспособность даже после 15-минутной

инкубации. Для исследования стабильности в среде желчных солей микрокапсулы помещали в 2%-й желчный экстракт и инкубировали при 37 °С. Отбор проб осуществляли в первый и третий час инкубации. Титр определяли аналогично среде желудка. Обнаружено, что микрокапсулирование повышает стабильность фагов в среде желчных солей – после трех часов инкубации разница между титрами микрокапсулированных фагов и свободных фагов может достигать до трех логарифмических единиц [22].

Опубликовано исследование, посвященное получению микрочастиц, содержащих рифампицин, с использованием полимера поли(3-гидроксибутират-со-3-гидроксивалерат) для перорального введения. Выбор данного полимера обусловлен его хорошей биосовместимостью и биодеградабельностью. Микрочастицы поли(3-гидроксибутират-со-3-гидроксивалерат) с рифампицином были получены методом эмульгирования и испарения растворителя, в котором в качестве растворителя и эмульгатора используются соответственно хлороформ и поливиниловый спирт. Микрочастицы получали в диапазоне размеров 20–60 мкм путем изменения исходных концентраций поли(3-гидроксибутират-со-3-гидроксивалерата), поливинилового спирта и рифампицина. Методом УФ-спектрофотометрии было получено значение эффективности инкапсуляции 14 %. При оценке антимикробной активности микрокапсул отмечено такое же ингибирование роста *Staphylococcus aureus,* как и у свободного рифампицина при инкубации 20 и 24 ч, но проявление токсических эффектов значительно ниже. Для оценки кинетики высвобождения микрокапсулы инкубировали при 36,5 ± 0,1 °С в среде фосфатного буфера. Концентрацию определяли спектрофотометрически при длине волны 473 нм. Установлено, что почти 90 % препарата, загруженного в микрочастицы, высвобождалось через 24 часа [23].

С помощью микрокапсулирования разработана новая пролонгированная лекарственная форма фурацилина. Лекарственное вещество заключали в двойную оболочку, состоящую из сополимера Eudragit® L100 (внутренняя оболочка) и ПВП и ПВС (внешняя оболочка). Именно внутренняя оболочка обеспечивает пролонгированное высвобождение АФС. Получение микрокапсул осуществляли методом переосаждения полимера (1%-й ацетоновый раствор Eudragit® L100) на поверхности АФС путем замены растворителя (диметилформамид / вода дистиллированная). Полученную дисперсию оставляли на сутки при температуре 0–5 °С. Далее создавали вторую оболочку путем прибавления 2%-го водного раствора ПВС или ПВП. Для полного осаждения к полученной смеси добавляли насыщенный раствор натрия хлорида. Диспергировали с помощью магнитной мешалки и высушивали в сушильном шкафу. В результате исследования кинетики высвобождения методом УФ-спектроскопии (максимум при 367 нм) установлено, что полное высвобождение фурацилина наступает через 140 часов. По данным количественного анализа АФС полностью находится в микрокапсуле. Методом ИК-спектроскопии подтверждено послойное нанесение полимера на фурацилин. Использование данной методики позволяет влиять на скорость высвобождения АФС из микрокапсул, меняя толщину оболочки [24].

ПОЛУЧЕНИЕ МИКРОКАПСУЛИРОВАННЫХ ФОРМ ПРЕПАРАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Стоит отметить перспективность исследований микрокапсулирования АФС, полученных из лекарственных растений. Объектом исследования является масляный экстракт каротиноидов из туники асцидии пурпурной. Особенность инкапсулирования масляных экстрактов заключается в разработке методов получения стабильных эмульсий, не расслаивающихся на протяжении длительного времени. В качестве полимера использовался альгинат натрия, внешнее покрытие – хитозан. Микрокапсулы получали методом экструзии. Сшивку осуществляли раствором кальция хлорида. Хитозан образует водорастворимый полиэлектролитный комплекс за счет взаимодействия между свободными карбоксильными группами альгината и собственными аминогруппами. Использование пары альгинат натрия / хитозан целесообразно для повышения растворимости микрокапсул за счет хитозана и постепенного высвобождения АФС за счет альгината натрия, что повышает биодоступность АФС. С целью оптимизации эмульгирования и улучшения структуры и стабильности эмульсии использовали обработку ультразвуком. Благодаря этому эмульсия имеет оптимальную структуру и наименьшую вязкость, что позволяет получать микрокапсулы меньшего размера. Таким образом, данная методика микрокапсулирования масляного экстракта каротиноидов может быть использована для получения масляных экстрактов других растений [25].

Масло из необжаренных кофейных зерен широко используется в косметических целях. Получение его микрокапсулированной формы представляет интерес для улучшения антиоксидантной активности под действием света, тепла и кислорода. Полимером служила аравийская камедь, а метод получения – распылительная сушка масляно-водной эмульсии. Полученные микрокапсулы имели сферическую форму с гладкими поверхностями, что подтверждает целесообразность использования аравийской камеди в качестве инкапсулирующего материала. Методом активного кислорода (адаптирован из кондуктометрии) установленная антиоксидантная активность была значительно выше по сравнению с эталонным антиоксидантом α-токоферолом, а в сравнении с чистым маслом наблюдалось 7- и 3-кратное увеличение активности. Полученные результаты свидетельствуют о

перспективном промышленном применении данной методики микрокапсулирования масла кофе [26].

Гуарана хорошо известна своим диетическим и фармацевтическим потенциалом, а полуочищенный экстракт гуараны обладает антидепрессивным и паниколитическим действием. Однако низкая растворимость, биодоступность и стабильность полуочищенного экстракта ограничивают его использование в качестве компонента фармацевтических средств. Доставка полуочищенного экстракта в форме микрочастиц может помочь оптимизировать его стабильность. В данном исследовании микрочастицы, содержащие полуочищенный экстракт гуараны, были получены методом распылительной сушки с использованием комбинации гуммиарабика (ГА) и мальтодекстрина (МД) в соотношении 30:70, 40:60 и 50:50. Раствор экстракта и дисперсии ГА/МД перемешивали отдельно в течение 20 мин. Затем раствор экстракта добавляли к дисперсии ГА/МД, перемешивали в течение примерно 5 мин и высушивали распылением. Технология сушки: температура на входе 190 °С, аспирация 80 %, давление 2 Бар, насос от 6 %, температура на выходе 120–130 °С. Технология распылительной сушки и выбранные условия обработки дали удовлетворительную эффективность инкапсуляции (80–110 %) и выход продукта (55–60 %). Средний диаметр микрочастиц составлял около 4,5 мкм. Способность ДППГ к продувке радикалов показала, что микрочастицы могут защитить полуочищенный экстракт гуараны от воздействия высоких температур в процессе поддержания антиоксидантной способности. Испытания на растворение *in vitro* показывают, что все составы полностью растворяются в течение 60 мин. Микрокапсуляция улучшила технологические характеристики порошков и сохранила антиоксидантные свойства. Исследование продемонстрировало целесообразность получения этих микрочастиц для одностадийного процесса с использованием распылительной сушки. Состав каждого препарата влиял на физико-химические характеристики. Этот метод распылительной сушки может быть использован в качестве эффективного и экономичного подхода к получению полуочищенного экстракта микрочастиц гуараны [27].

Проведено исследование по микрокапсулированию лавандового масла с целью защиты компонентов масла от улетучивания. Для получения микрокапсул в качестве полимера использовалась смесь камеди акации и мальтодекстрина, а методом являлась распылительная сушка. Методика распылительной сушки аналогична экстракту гуараны. Размер полученных частиц составлял 12,42 ± 1,79 мкм, эффективность микрокапсулирования – 77,89 %. Полученные данные свидетельствуют о том, что смесь камеди акации и мальтодекстрина в качестве полимера защищает лавандовое масло от улетучивания компонентов [28].

Одной из проблем применения препаратов растительного происхождения является горький вкус. Для решения этой проблемы используется микрокапсулирование. Исследование инкапсуляции кверцетина в карнаубский воск, шеллак или зеин методом экструзии горячим расплавом показало, что микрокапсулы значительно меньше растворялись в слюне при pH 6,8 по сравнению с чистым кверцетином. Следовательно, данный комплекс хорошо маскирует вкус в порядке зеин > карнаубский воск > шеллак. Анализ горечи *in vitro* с помощью электронного языка подтвердил хорошую маскирующую вкус эффективность микрокапсулированных порошков. Таким образом, термоэкструзионная микрокапсуляция может стать привлекательным методом получения биологически активных порошков с маскировкой вкуса [29].

МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЕ ВИТАМИНОВ

Было проведено исследование с целью изучения стабильности микрокапсулированной аскорбиновой кислоты в моделируемом желудочно-кишечном тракте *in vitro* и влияния микрокапсулированной аскорбиновой кислоты на биодоступность железа. В качестве материалов покрытия использовались полиглицеролмоностеарат (ПГМС) и среднецепочечный триацилглицерин (МСТ), а в качестве основных материалов – L-аскорбиновая кислота и сульфат железа аммония. При микроинкапсуляции аскорбиновой кислоты с помощью МСТ высвобождение аскорбиновой кислоты составляло 6,3 % при pH 5 и 1,32 % при pH 2 в моделируемых желудочных жидкостях в течение 60 мин. Когда аскорбиновая кислота была инкапсулирована ПГМ, то высвобождалось больше аскорбиновой кислоты в диапазоне от 9,5 до 16,0 %. Для сравнения, высвобождение аскорбиновой кислоты, покрытой МСТ и ПГМ, значительно увеличивалось на 94,7 и 83,8 % соответственно в течение 60 мин инкубации в искусственной кишечной жидкости [30].

α-токоферол является хорошо известным жирорастворимым антиоксидантом и широко используется в пищевой промышленности для стабилизации свободных радикалов. Включение его в пищу и стабильность являются еще одной проблемой, поскольку непосредственно добавленный α-токоферол склонен к инактивации пищевыми компонентами. Данное исследование было направлено на оптимизацию условий инкапсуляции α-токоферола с использованием комбинации альгината натрия (0,5, 1,0, 1,5 и 2,0 %) в качестве основного стеночного материала и пектина (2,0 %) в качестве наполнителя. Растворы пектина и альгината натрия смешивали до получения однородной смеси. В качестве эмульгатора добавляли твин-80 и 1%-й раствор токоферола. Полученная смесь подвергалась дальнейшей гомогенизации в течение 30 минут на гомогенизаторе. Стабильную эмульсию капали иглой в 5%-й раствор кальция хлорида. Микрокапсулы промывали водой и выдерживали при комнатной температуре 24 часа (шприцевой метод). Эффективность инкапсуляции α-токоферола, установленная методом ВЭЖХ, в микрокапсулы, полученные в опти-

мальных условиях, составила 52,91 % с использованием альгината натрия 1,5 % и пектина 2,0 %. α-токоферол инкапсулировали с помощью инкапсулятора в стандартных условиях и сравнивали со шприцевым методом. Эффективность инкапсуляции была обнаружена больше (55,97 %) в микрокапсулах, приготовленных с помощью инкапсулятора, и 52,11 % в микрокапсулах, приготовленных с помощью шприца [31].

ДВОЙНЫЕ ЭМУЛЬСИИ – ПОЛУЧЕНИЕ И МЕТОДЫ СТАБИЛИЗАЦИИ

Микрокапсулирование биологически активных веществ методом двойных эмульсий применимо для гидрофильных веществ. Эмульсии стабилизируют полиэлектролитами и противоположно заряженными ПАВ для повышения поверхностной активности. Готовили комплексы хитозана и КсантанГума (ксантановая камедь) смешиванием растворов отдельных соединений с разной концентрацией. Взаимодействие соединений осуществлялось за счет образования ионных связей между положительно заряженными молекулами хитозана (аминогруппы) и отрицательно заряженным КсантанГумом (карбоксильные группы). Растворы использовали через 24 часа после смешивания. Эмульсии готовили ультразвуком. Полученные эмульсии имели межфазное натяжение на границе раздела фаз, которое измеряли с помощью тензиометрии. Межфазное равновесное поверхностное натяжение уменьшается с увеличением концентрации полимеров в растворителе. Использование данных поликомплексов позволяет получить микрокапсулы, обладающие высокой ферментативной устойчивостью. В результате исследований установлено, что использование комплексов Хитозан-КсантанГум целесообразно для получения стабильной двойной эмульсии [32].

Для микрокапсулирования БАВ используются ПАВ различной химической природы, а также подбираются катионные и анионные полиэлектролиты. В связи с этим проведено исследование инкапсулирования масла розмарина методом двойных эмульсий. Для микрокапсулирования масла использовались два вида полиэлектролитов: положительно заряженный (катионный) хитозан и отрицательно заряженные (анионные) камеди (ксантановая, гуаровая, акации). АФС смешивали с ПАВ и вводили в состав поочередно катионный (хитозан) и анионный (камеди) полиэлектролиты. Для установления влияния природы полиэлектролита на агрегативную устойчивость эмульсии проводилось измерение дзетта-потенциала. В результате определено, что эмульсии с ксантановой и гуаровой камедью устойчивы на протяжении 30 дней, дзетта-потенциал составлял –25,86 и –19,66 mV соответственно. Эмульсии с камедью акации неустойчивы, в течение 24 часов наблюдалось выпадение осадка (дзетта-потенциал –0,66 mV). Следовательно, чем выше дзетта-потенциал анионного полиэлектролита, тем более устойчивой будет эмульсия [33].

Разработан способ микрокапсулирования противотуберкулезных препаратов с использованием технологии покрытия полиэлектролитными мультислоями и изучения растворимости микрокапсул при значениях pH, моделирующих различные участки желудочно-кишечного тракта. Для получения микрокапсул использованы полимеры – геллан (1 и 3 %), пектин (1 и 2 %) и альгинат натрия (2 и 3 %). Для получения мультислоев выбраны катионный полиэлектролит – хитозан и анионные полиэлектролиты – декстрансульфат и Eudragit® S. АФС – изониазид, пиразинамид, моксифлоксацина гидрохлорид. Метод получения микрокапсул – ионотропное гелеобразование. Раствор полимера нагревали с АФС до 90 °C и полученную смесь вносили по каплям в 1%-й раствор хлорида кальция. Через 10 минут микрокапсулы промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе. Методом УФ-спектрометрии установлено содержание пиразинамида и моксифлоксацина, броматометрически – изониазида. При pH = 7,4 степень высвобождения АФС из микрокапсул, без нанесенных мультислоев, составила за 4 часа около 30 % активного ингредиента, за 8 часов около 50 %, за 12 часов – более 80 %. Пролонгация составила 12 часов, что обеспечивает присутствие терапевтических доз лекарственных препаратов в течение дня. Данным методом можно получить противотуберкулезные лекарственные препараты с контролируемым высвобождением в среде кишечника [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Микрокапсулирование является перспективным методом создания устойчивых и пролонгированных лекарственных форм. Лекарственные вещества в форме микрокапсул имеют большую биодоступность, стабильность под действием кислой среды желудка, а также максимальную доставку к органу-мишени. Наиболее перспективным и значимым является создание микрокапсул с антибактериальными препаратами, так как проблема резистентности микроорганизмов к существующим препаратам и лекарственным формам стоит очень остро. В то же время процесс микрокапсулирования очень трудоемок и требует предварительной подготовки всех компонентов, а также подбора соответствующих условий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dolçà C., Ferrándiz M., Capablanca L., Franco E., Mira E., López F., García D. Microencapsulation of Rosemary Essential Oil by Co-Extrusion/Gelling Using Alginate as a Wall Material. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*. 2015;5:121–130.
2. Степанова Э. Ф., Ким М. Е., Мурзагулова К. Б., Евсеева С. Б. Микрокапсулы: перспективы использования в современной фармацевтической практике. *Современные проблемы науки и образования*. 2014;5:767.

3. Грехнёва Е. В., Кудрявцева Т. Н. Особенности микрокапсулирования некоторых лекарственных препаратов в альгинат натрия. *AUDITORIUM*. 2014;3(3):12–16.
4. Маркович Ю. Д., Грехнёва Е. В., Кудрявцева Т. Н., Ефанов С. А., Климова Л. Г. Микрокапсулирование 4-карбоксиакридона в водорастворимые полимеры. *Ученые записки. Электронный научный журнал Курского государственного университета*. 2013;3-2(27):1–5.
5. Грехнёва Е. В., Белоконь В. Л., Орлова С. В. Микрокапсулирование биологически активных веществ в водонерастворимые полимеры. *AUDITORIUM*. 2016;2(10):15–19.
6. Aijaz A., Perera D., Olabisi R. M. Polymeric Materials for Cell Microencapsulation. *Cell Microencapsulation*. 2017:79–93. DOI: 10.1007/978-1-4939-6364-5_6.
7. Yang Y., Opara E. C., Liu Y., Atala A., Zhao W. Microencapsulation of porcine thyroid cell organoids within a polymer microcapsule construct. *Experimental Biology and Medicine*. 2017;242(3):286–296. DOI: 10.1177/1535370216673746.
8. Lee J. I., Kim H. W., Kim J. Y., Bae S. J., Joo D. J., Huh K. H., Fang Y. H., Jeong J. H., Kim M. S., Kim Y. S. Microencapsulation of pancreatic islets with canine ear cartilage for immunoisolation. *Transplantation Proceedings*. 2012;44(4):1091–1094. DOI: 10.1016/j.transproceed.2012.02.015.
9. Patel N., Addo R. T., Ubale R., Uddin M. N., D'Souza M., Jobe L. The effect of antisense to NF-κB in an albumin microsphere formulation on the progression of left-ventricular remodeling associated with chronic volume overload in rats. *Journal of Drug Targeting*. 2014;22(9):796–804. DOI: 10.3109/1061186X.2014.921927.
10. Черникевич И. П., Зиматкина Т. И., Сорокопыт Е. М. Иммобилизация тиаминкиназы из печени свиньи путем микрокапсулирования. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2015;4(52):33–38.
11. Кудряшок Л. С., Тихонов С. Л., Тихонова Н. В., Дьячкова А. В. Микрокапсулирование пепсина и оценка его протеолитических свойств. *Вестник ВСГУТУ*. 2019;3(74):35–41.
12. Isleroglu H., Turker I., Koc B., Tokatli M. Optimization of microencapsulation conditions of transglutaminase by freeze drying. *Journal of Food Science and Technology*. 2019;56(11):4925–4937. DOI: 10.1007/s13197-019-03962-9.
13. Полковникова Ю. А., Северинова Н. А., Корянова К. Н., Тульская У. А, Гречкина М. В. Морфологические, технологические и биофармацевтические исследования альгинат-хитозановых микрокапсул с винпоцетином. *Фармация и фармакология*. 2019;7(5):279–290. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-5-279-290.
14. Грехнёва Е. В., Кометиани И. Б., Гусельникова А. О., Петрова Ю. И. Возможности использования методов микрокапсулирования и адсорбции для создания лекарственных препаратов пролонгированного действия. *Образовательный, научный и инновационный процессы в нанотехнологиях. Сборник докладов участников VIII Всероссийской конференции*. 2017. 136–138 с.
15. Mooranian A., Zamani N., Ionescu C. M., Takechi R., Luna G., Mikov M., Goločorbin-Kon S., Kovačević B., Al-Salami H. Oral gavage of nano-encapsulated conjugated acrylic acid-bile acid formulation in type 1 diabetes altered pharmacological profile of bile acids, and improved glycaemia and suppressed inflammation. *Pharmacological Reports*. 2020;72(2):368–378. DOI: 10.1007/s43440-019-00030-z.
16. Kim K. H., Cho S.-A., Lim J. Y., Lim D. G., Moon C., Jeong S. H. Preparation of microcapsules with the evaluation of physicochemical properties and molecular interaction. *Archives of Pharmacal Research*. 2014;37(12):1570–1577. DOI: 10.1007/s12272-013-0306-0.
17. Li F-Q., Ji R.-R., Chen X., You B.-M., Pan Y.-H., Su J.-C. Cetirizine dihydrochloride loaded microparticles design using ionotropic cross-linked chitosan nanoparticles by spray-drying method. *Archives of Pharmacal Research*. 2010;33(12):1967–1973. DOI: 10.1007/s12272-010-1212-3.
18. Уйманова Т. Н., Грехнёва Е. В., Кудрявцева Т. Н., Горобец А. Ю. Возможность микрокапсулирования пробиотиков в кишечнорастворимый полимер Eudragit® L100. *Образовательный, научный и инновационный процессы в нанотехнологиях. Сборник докладов участников VIII Всероссийской конференции*. 2017. 138–142 с.
19. Vaziri A. S., Alemzadeh I., Vossoughi M., Khorasani A. C. Comicroencapsulation of Lactobacillus plantarum and DHA fatty acid in alginate-pectin-gelatin biocomposites. *Carbohydrate Polymers*. 2018;199:266–275. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.07.002.
20. Грехнёва Е. В., Власова В. В. Особенности микрокапсулирования окситетрациклина и цефтриаксона в двойные оболочки. *AUDITORIUM*. 2017;2(14):19–23.
21. Ковязина Н. А., Николаева А. М., Функнер Е. В., Ефимова М. Г. Изучение возможности микрокапсулирования бактериофага. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2014;24(195):205–210.
22. Soykut E. A., Tayyarcan E. K., Evran Ş., Boyacı İ. H., Çakır İ., Khaaladi M., Fattouch S. Microencapsulation of phages to analyze their demeanor in physiological conditions. *Folia Microbiol*. 2019;64(6):751–763. DOI: 10.1007/s12223-019-00688-1.
23. Durán, N., Alvarenga, M. A., Da Silva E. C., Melo P. S., Marcato P. D. Microencapsulation of antibiotic rifampicin in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *Archives of Pharmacal Research*. 2008;31(11):1509–1516. DOI: 10.1007/s12272-001-2137-7.
24. Грехнёва Е. В., Кудрявцева Т. Н. Разработка новой лекарственной формы фурацилина методом микрокапсулирования. *AUDITORIUM*. 2018;2(18):17–23.
25. Пивненко Т. Н., Бунтуш А. Е. Экспериментальное обоснование микрокапсулирования масляного экстракта каротиноидов из туники асцидии пурпурной. *Научные труды Дальрыбвтуза*. 2017;42:82–89.
26. Nosari A. B. F. L., Lima J. F., Serra O. A., Freitas L. A. P. Improved green coffee oil antioxidant activity for cosmetical purpose by spray drying microencapsulation. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2015;25(3):307–311. DOI: 10.1016/j.bjp.2015.04.006.
27. Klein T., Longhini R., Bruschi M. L., de Mello J. C. P. Microparticles containing guaraná extract obtained by spray-drying technique: development and characterization. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2015;25(3):292–300. DOI: 10.1016/j.bjp.2015.03.010.
28. Burhan A. M., Abdel-Hamid S. M., Soliman M. E., Sammour O. A. Optimisation of the microencapsulation of lavender oil by spray drying. *Journal of Microencapsulation*. 2019;36(3):250–266. DOI: 10.1080/02652048.2019.1620355.
29. Khor C. M., Ng W. K., Kanaujia P., Chan K. P., Dong Y. Hot-melt extrusion microencapsulation of quercetin for taste-masking. *Journal of Microencapsulation*. 2017;34(1):29–37. DOI: 10.1080/02652048.2017.1280095.
30. Lee J.-B., Ahn J., Lee J., Kwak H.-S. The microencapsulated ascorbic acid releasein vitro and its effect on iron bioavailability. *Archives of Pharmacal Research*. 2003;26(10):874–879. DOI: 10.1007/BF02980035.
31. Singh J., Kaur K., Kumar P. Optimizing microencapsulation of α-tocopherol with pectin and sodium alginate. *Journal of Food Science and Technology*. 2018;55(9):3625–3631. DOI: 10.1007/s13197-018-3288-6.
32. Кудасова Д. Е., Муталиева Б. Ж., Сапарбекова А. А., Елеманова Ж. Р. Микрокапсулирование биологически-активных веществ методом двойных эмульсий. *Современные научные исследования и разработки*. 2018;9(26):188–191.
33. Антонова А. С., Носкова Ю. В. Влияние анионного полиэлектролита на устойчивость эмульсии при микрокапсулировании БАВ. *Молодые ученые – развитию Национальной технологической инициативы*. 2019;1(1):67–69.
34. Мусабаева Б. Х., Мурзагулова К. Б., Ким М. Е., Изумрудов В. А., Арипжанова З. Ж. Получение микрокапсул противотуберкулезных препаратов на основе биополимеров и полиэлектролитов. *Фармация и фармакология*. 2017;5(2):164–176.

REFERENCES

1. Dolçà C., Ferrándiz M., Capablanca L., Franco E., Mira E., López F., García D. Microencapsulation of Rosemary Essential Oil by Co-Extrusion/Gelling Using Alginate as a Wall Material. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*. 2015;5:121–130.
2. Stepanova E. F., Kim M. E., Murzagulova K. B., Evseyeva S. B. Microcapsules: use prospects inmodern pharmaceuticalpractice. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014;5:767. (In Russ.)
3. Grekhneva E. V., Kudryavtseva T. N. *Osobennosti mikrokapsulirovaniya nekotorykh lekarstvennykh preparatov v al'ginat natriya*

[Features of microencapsulation of some drugs in sodium alginate]. *AUDITORIUM*. 2014;3(3):12–16. (In Russ.)
4. Markovich Yu. D., Grekhneva E. V., Kudryavtseva T. N., Efanov S. A., Klimova L. G. *Mikrokapsulirovanie 4-karboksiakridona v vodorastvorimye polimery. Uchenye zapiski. Elektronnyy nauchnyy zhurnal kurskogo gosudarstvennogo universiteta* [Microencapsulation of 4-carboxyacridone into water-soluble polymers]. *Uchjonye zapiski. Jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kurskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2013;3-2(27):1–5. (In Russ.)
5. Grekhneva E. V., Belokon' V. L., Orlova S. V. *Mikrokapsulirovanie biologicheski aktivnykh veshchestv v vodonerastvorimye polimery* [Microencapsulation of biologically active substances in water-insoluble polymers]. *AUDITORIUM*. 2016;2(10):15–19. (In Russ.)
6. Aijaz A., Perera D., Olabisi R. M. Polymeric Materials for Cell Microencapsulation. *Cell Microencapsulation*. 2017:79–93. DOI: 10.1007/978-1-4939-6364-5_6.
7. Yang Y., Opara E. C., Liu Y., Atala A., Zhao W. Microencapsulation of porcine thyroid cell organoids within a polymer microcapsule construct. *Experimental Biology and Medicine*. 2017;242(3):286–296. DOI: 10.1177/1535370216673746.
8. Lee J. I., Kim H. W., Kim J. Y., Bae S. J., Joo D. J., Huh K. H., Fang Y. H., Jeong J. H., Kim M. S., Kim Y. S. Microencapsulation of pancreatic islets with canine ear cartilage for immunoisolation. *Transplantation Proceedings*. 2012;44(4):1091–1094. DOI: 10.1016/j.transproceed.2012.02.015.
9. Patel N., Addo R. T., Ubale R., Uddin M. N., D'Souza M., Jobe L. The effect of antisense to NF-κB in an albumin microsphere formulation on the progression of left-ventricular remodeling associated with chronic volume overload in rats. *Journal of Drug Targeting*. 2014;22(9):796–804. DOI: 10.3109/1061186X.2014.921927.
10. Chernikevich I. P., Zimatkina T. I., Sorokopyt E. M. Immobilization of thiamine kinase from pig liver by the microencapsulation method. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University*. 2015;4(52):33–38. (In Russ.)
11. Kudryashov L. S., Tikhonov S. L., Tikhonova N. V., Dyachkova A. V. Microcapsulation of pepsin and estimation of its proteolytic properties. *ESSUTM Bulletin*. 2019;3(74):35–41. (In Russ.)
12. Isleroglu H., Turker I., Koc B., Tokatli M. Optimization of microencapsulation conditions of transglutaminase by freeze drying. *Journal of Food Science and Technology*. 2019;56(11):4925–4937. DOI: 10.1007/s13197-019-03962-9.
13. Polkovnikova Yu. A., Severinova N. A., Koryanova K. N., Tulskaya U. A, Grechkina M.V. Morphological, technological and biopharmaceutical studies of alginate-chitosan microcapsules with vinpocetine. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(5):279–290. (In Russ.) DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-5-279-290.
14. Grekhneva E. V., Kometiani I. B., Gusel'nikova A. O., Petrova Yu. I. *Vozmozhnosti ispol'zovaniya metodov mikrokapsulirovaniya i adsorbtsii dlya sozdaniya lekarstvennykh preparatov prolongirovannogo deystviya. Obrazovatel'nyy, nauchnyy i innovatsionnyy protsessy v nanotekhnologiyakh* [Possibilities of using microencapsulation and adsorption methods to create drugs with prolonged action]. Obrazovatel'nyj, nauchnyj i innovacionnyj processy v nanotehnologijah. Sbornik dokladov uchastnikov VIII Vserossijskoj konferencii. 2017. 136–138 p. (In Russ.)
15. Mooranian A., Zamani N., Ionescu C. M., Takechi R., Luna G., Mikov M., Goločorbin-Kon S., Kovačević B., Al-Salami H. Oral gavage of nano-encapsulated conjugated acrylic acid-bile acid formulation in type 1 diabetes altered pharmacological profile of bile acids, and improved glycaemia and suppressed inflammation. *Pharmacological Reports*. 2020;72(2):368–378. DOI: 10.1007/s43440-019-00030-z.
16. Kim K. H., Cho S.-A., Lim J. Y., Lim D. G., Moon C., Jeong S. H. Preparation of microcapsules with the evaluation of physicochemical properties and molecular interaction. *Archives of Pharmacal Research*. 2014;37(12):1570–1577. DOI: 10.1007/s12272-013-0306-0.
17. Li F-Q., Ji R.-R., Chen X., You B.-M., Pan Y.-H., Su J.-C. Cetirizine dihydrochloride loaded microparticles design using ionotropic cross-linked chitosan nanoparticles by spray-drying method. *Archives of Pharmacal Research*. 2010;33(12):1967–1973. DOI: 10.1007/s12272-010-1212-3.
18. Uymanova T. N., Grekhneva E. V., Kudryavtseva T. N., Gorobets A. Yu. Vozmozhnost' mikrokapsulirovaniya probiotikov v kishechnorastvorimyy polimer Eudragit® L100. *Obrazovatel'nyy, nauchnyy i innovatsionnyy protsessy v nanotekhnologiyakh. Sbornik dokladov uchastnikov VIII Vserossiyskoy konferentsii* [Possibility of microencapsulation of probiotics in the enteric polymer Eudragit®L100. *Educational, scientific and innovative processes in nanotechnology. Collection of reports of the participants of the VIII All-Russian conference*]. 2017. 138–142 p. (In Russ.)
19. Vaziri A. S., Alemzadeh I., Vossoughi M., Khorasani A. C. Co-microencapsulation of Lactobacillus plantarum and DHA fatty acid in alginate-pectin-gelatin biocomposites. *Carbohydrate Polymers*. 2018;199:266–275. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.07.002.
20. Grekhneva E. V., Vlasova V. V. *Osobennosti mikrokapsulirovaniya oksitetratsiklina i tseftriaksona v dvoynye obolochki* [Features of microencapsulation of oxytetracycline and ceftriaxone in double membranes]. *AUDITORIUM*. 2017;2(14):19–23. (In Russ.)
21. Kovyazina N. A., Nikolaeva A. M., Funkner E. V., Yefimovap M. G. Studying of possibility of microencapsulation of the bacteriophage. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Medicina. Farmacija = Scientific bulletins of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacia*. 2014;24(195):205–210. (In Russ.)
22. Soykut E. A., Tayyarcan E. K., Evran Ş., Boyacı İ. H., Çakır İ., Khaaladi M., Fattouch S. Microencapsulation of phages to analyze their demeanor in physiological conditions. *Folia Microbiol*. 2019;64(6):751–763. DOI: 10.1007/s12223-019-00688-1.
23. Durán, N., Alvarenga, M. A., Da Silva E. C., Melo P. S., Marcato P. D. Microencapsulation of antibiotic rifampicin in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *Archives of Pharmacal Research*. 2008;31(11):1509–1516. DOI: 10.1007/s12272-001-2137-7.
24. Grekhneva E. V., Kudryavtseva T. N. *Razrabotka novoy lekarstvennoy formy furatsilina metodom mikrokapsulirovaniya* [Development of a new dosage form of furacillin by microencapsulation]. *AUDITORIUM*. 2018;2(18):17–23. (In Russ.)
25. Pivnenko T. N., Buntush A. E. Experimental foundetion of microcapsulation of oil extract of carothinoids from tunics of purple ascidian. *Nauchnye trudy Dal'rybvtuz*a. 2017;42:82–89. (In Russ.)
26. Nosari A. B. F. L., Lima J. F., Serra O. A., Freitas L. A. P. Improved green coffee oil antioxidant activity for cosmetical purpose by spray drying microencapsulation. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2015;25(3):307–311. DOI: 10.1016/j.bjp.2015.04.006.
27. Klein T., Longhini R., Bruschi M. L., de Mello J. C. P. Microparticles containing guaraná extract obtained by spray-drying technique: development and characterization. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2015;25(3):292–300. DOI: 10.1016/j.bjp.2015.03.010.
28. Burhan A. M., Abdel-Hamid S. M., Soliman M. E., Sammour O. A. Optimisation of the microencapsulation of lavender oil by spray drying. *Journal of Microencapsulation*. 2019;36(3):250–266. DOI: 10.1080/02652048.2019.1620355.
29. Khor C. M., Ng W. K., Kanaujia P., Chan K. P., Dong Y. Hot-melt extrusion microencapsulation of quercetin for taste-masking. *Journal of Microencapsulation*. 2017;34(1):29–37. DOI: 10.1080/02652048.2017.1280095.
30. Lee J.-B., Ahn J., Lee J., Kwak H.-S. The microencapsulated ascorbic acid releasein vitro and its effect on iron bioavailability. *Archives of Pharmacal Research*. 2003;26(10):874–879. DOI: 10.1007/BF02980035.
31. Singh J., Kaur K., Kumar P. Optimizing microencapsulation of α-tocopherol with pectin and sodium alginate. *Journal of Food Science and Technology*. 2018;55(9):3625–3631. DOI: 10.1007/s13197-018-3288-6.
32. Kudasova D. E., Mutaliyeva B. Zh., Saparbekova A. A., Elemanova Zh. R. Microencapsulation of biologically active substances by the method of double emulsions. *Sovremennye nauchnye issledovanija i razrabotki*. 2018;9(26):188–191. (In Russ.)
33. Antonova A. S., Noskova Yu. V. *Vliyanie anionnogo polielektrolita na ustoychivost' emul'sii pri mikrokapsulirovanii BAV* [Effect of anionic polyelectrolyte on the stability of the emulsion during microencapsulation of biologically active substances]. *Molodye uchjonye – razvitiju Nacional'noj tehnologicheskoj iniciativy*. 2019;1(1):67–69. (In Russ.)
34. Mussabayeva B. H., Murzagulova K. B., Kim M. E., Izumrudov V. A., Aripzhanova Z. Zh. Encapsulation of antitubercular drugs by biopolymers and polyelectrolyte multilayers. *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy & Pharmacology*. 2017;5(2):164–176. (In Russ.)