

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНОГО КОМПЛЕКСА ХИТОЗАНА С КАРРАГИНАНОМ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ВАНКОМИЦИНА

С. В. Шилова*, Г. М. Миргалеев, Д. О. Сагдеев, Ю. Г. Галяметдинов

Казанский национальный исследовательский технологический университет,

ул. Карла Маркса, 68, Казань, 420015 Россия

**e-mail: s_shilova74@mail.ru*

Аннотация. Получены и охарактеризованы наночастицы полиэлектролитного комплекса хитозана с κ -каррагинаном, содержащие квантовые точки «ядро–оболочка» CdS/ZnS, как модели биосовместимых люминесцентных систем доставки антибиотика ванкомицина с эффективностью инкапсулирования 95–97%. Квантовые точки получены коллоидным методом синтеза и гидрофилизированы меркаптопропионовой кислотой. Изучено влияние ванкомицина, инкапсулированного в частицы полиэлектролитного комплекса, на люминесцентные свойства квантовых точек CdS/ZnS. Продемонстрированы возможности синтезированных квантовых точек в качестве модельных наносенсоров для определения включения и высвобождения ванкомицина из разработанных носителей на основе тушения люминесценции квантовых точек. Исследовано связывание ванкомицина с альбумином как моделью белка крови, определен состав комплекса ($[\text{ванкомицин}] : [\text{альбумин}] = 1.0 : 2.0$) и константа его устойчивости ($\beta_K = 6.0 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$). Анализ кинетических данных высвобождения ванкомицина из полимерных носителей в условиях *in vitro* в растворы альбумина и трис-буфера в рамках математической модели Корсмейера–Пеппаса, показал, что высвобождение антибиотика контролируется как диффузией, так и релаксацией полимерной матрицы.

Ключевые слова: хитозан, каррагинан, полиэлектролитный комплекс, ванкомицин, квантовые точки, тушение люминесценции, системы доставки лекарственных веществ, высвобождение

Финансирование работы. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (грант № FZSG-2023-0008).

Соблюдение этических стандартов. В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Поступила в редакцию 24.04.2025

После доработки 21.05.2025

Принята к публикации 05.06.2025

LUMINESCENT NANOPARTICLES OF POLYELECTROLYTE COMPLEX OF CHITOSAN WITH CARRAGEENAN AS PERSPECTIVE MULTIFUNCTIONAL VANCOMYCIN DELIVERY SYSTEMS

S. V. Shilova*, G. M. Mirgaleev, D. O. Sagdeev, Y. G. Galyametdinov

Kazan National Research Technological University, Kazan, 420015 Russia

*e-mail: s_shilova74@mail.ru

Abstract. Nanoparticles of a polyelectrolyte complex of chitosan and κ -carrageenan containing core–shell quantum dots of CdS/ZnS were obtained and characterized as potential biocompatible luminescent delivery systems for the antibiotic vancomycin with an encapsulation efficiency of 95–97%. Quantum dots were obtained by a colloidal synthesis method and hydrophilized with mercaptopropionic acid. The effect of vancomycin encapsulated in particles of the polyelectrolyte complex on the luminescent properties of CdS/ZnS quantum dots was studied. The capabilities of the synthesized quantum dots as analytical nanosensors for determine the incorporation and release of vancomycin from the developed carriers based on their luminescence quenching were demonstrated. The binding of vancomycin to albumin as a model of blood protein was studied, the composition of the complex ($[\text{vancomycin}]: [\text{albumin}] = 1.0 : 2.0$) and its stability constant ($\beta_k = 6.0 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$) were determined. Analysis of kinetic data on the release of vancomycin from polymer carriers under in vitro conditions into albumin and tris-buffer solutions within the framework of the Korsmeyer–Peppas mathematical model showed that the release of the antibiotic is controlled by both diffusion and relaxation of the polymer matrix.

Keywords: chitosan, carrageenan, polyelectrolyte complex, vancomycin, quantum dots, luminescence quenching, drug delivery systems, release

Funding. This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project no. FZSG-2023-0008).

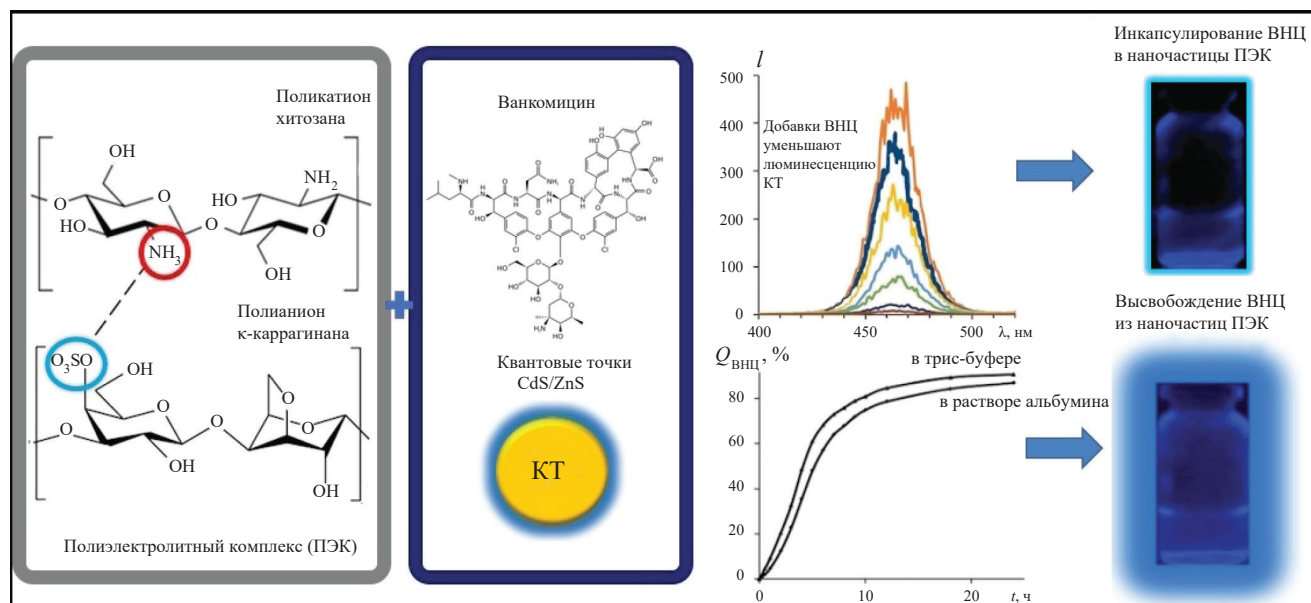
Ethics declarations. This work does not contain any studies involving human and animal subjects.

Conflict of interests. The authors of this work declare that they have no conflicts of interest.

Received April 24, 2025

Revised May 21, 2025

Accepted June 05, 2025



ВВЕДЕНИЕ

Концепция персонализированной медицины является многообещающим способом удовлетворения индивидуальных медицинских потребностей человека в современном обществе. Учитывая межиндивидуальную вариабельность терапевтического ответа на одно и то же лекарственное средство, индивидуализированный подход в лечении пациента может привести к улучшенным результатам терапии, одновременно уменьшая дискомфорт пациента и нежелательные побочные эффекты [1]. Тераностика – это сравнительно новое направление в наномедицине, которое заключается в интеграции терапевтических и диагностических (визуализирующих) средств в одном и том же носителе [2]. Для тераностических целей используются разнообразные наноматериалы, такие как полимеры, дендримеры, жидкие кристаллы, металлические и неметаллические наночастицы и др. [3, 4]. Помимо возможности контроля скорости высвобождения лекарственного вещества, малый размер наночастиц обеспечивает высокую пропускную способность биологически активных и оптических агентов. Нанометровый размер также позволяет частицам легко проникать из кровеносных сосудов в злокачественные или поврежденные ткани, благодаря более проницаемой сосудистой сети и нарушенному лимфатическому клиренсу таких тканей, по сравнению с нормальной тканью [5].

Особая роль в тераностике отводится функционализированному хитозану (ХТЗ), который может применяться как для биовизуализации в виде конъюгата с флуоресцентными визуализирующими агентами, так и в качестве наноразмерного носителя для доставки лекарственных веществ [6–8]. Преимущества данного аминополисахарида заключаются в его превосходной биоразлагаемости и биосовместимости, а также низкой

токсичности в сочетании с многочисленными биологическими активностями, такими как антимикробная активность, гемостатическая активность, ранозаживляющая способность, низкая иммуногенность [9].

Известно, что ХТЗ является единственным положительно заряженным полусинтетическим полимером, получаемым частичным дезацетилированием хитина, за счет протонирования его аминогрупп в слабых средах. Это обуславливает высокую комплексообразующую способность ХТЗ по отношению к веществам анионной природы, например, металлам, красителям, анионным полиэлектролитам [10, 11]. Комплексообразование ХТЗ с противоположно заряженными полиэлектролитами является перспективной стратегией его функционализации. Образующиеся при этом полимерные структуры – полиэлектролитные комплексы (ПЭК) обладают набором уникальных свойств, поэтому они более широко, по сравнению с индивидуальными полимерами, используются при разработке «умных» наноматериалов для биомедицины [12, 13]. Среди анионных полисахаридов своими ценными для данного направления использования свойствами выделяется каррагинан (КРГ), содержащий в своем составе сульфатные группы. Каррагинаны проявляют высокую антиоксидантную активность и могут формировать термостабильные прочные гели, устойчивые при нейтральных значениях pH, что позволяет их применять при создании систем адресной и пролонгированной доставки биологически активных веществ [14–16].

Основной целью медицинской визуализации является неинвазивный анализ биопроцессов во время медицинских исследований, таких как компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, рентгенография и ультразвуковое исследование. В качестве визуализирующих агентов или наносенсоров широко используются полупроводниковые

квантовые точки (КТ), углеродные квантовые точки, органические красители [17–20]. КТ особенно привлекательны для биовизуализации благодаря тому, что их оптические свойства можно варьировать путем изменения размера частиц и их конфигурации. К безусловным достоинствам КТ можно отнести также высокий квантовый выход, низкое фотообесцвечивание и устойчивость к химической деградации. Однако, присутствие тяжелых металлов (например, в КТ на основе кадмия) и связанная с этим токсичность ограничивают применение полупроводниковых КТ *in vivo* [21].

Сочетание эффективной люминесценции КТ и биологических свойств ПЭК хитозана делает системы, полученные на их основе, перспективными материалами для создания multifunctional диагностических и терапевтических носителей. Биосовместимая полимерная основа выполняет при этом двойную роль: позволяет снизить долгосрочные профили токсичности полупроводниковых нанокристаллов и обеспечивает пролонгированное высвобождение иммобилизованного лекарственного вещества.

Особенно такой комплексный тераностический подход перспективен для разработки систем доставки токсичных препаратов для химиотерапии, антибиотиков и других сильнодействующих лекарственных средств. Ванкомицин (ВНЦ) представляет собой трициклический гликопептидный антибиотик с длительным бактерицидным эффектом, который широко применяется в моно- и комплексной антибиотикотерапии тяжелых инфекционных заболеваний. ВНЦ активно включается в состав временных эндопротезов, которые используются в случае возникновения воспалительных процессов при протезировании коленных и тазобедренных суставов [22, 23]. Особенностью данного антибиотика является узкое терапевтическое окно (эффективная концентрация близка к токсической) [24]. Поэтому получение новых multifunctional систем доставки ВНЦ, позволяющих пролонгировано высвобождать его в определенных тканях и органах организма человека для поддержания постоянной концентрации в терапевтическом диапазоне и одновременно обеспечивать визуализацию данного процесса, является актуальной задачей персонализированной медицины.

В предыдущих исследованиях нами были продемонстрированы возможности КТ «ядро–оболочка» CdS/ZnS как аналитических наносенсоров для оперативного обнаружения ВНЦ в водных средах [25]. Было показано, что тушение люминесценции наночастиц CdS/ZnS ванкомицином имеет линейную зависимость в диапазоне концентраций 35–690 мкМ с коэффициентом детерминации $R^2 = 0.988$, а предел обнаружения антибиотика составляет 56.2 мкМ. Использование КТ в качестве зонда обеспечило необходимую точность, чувствительность и экспрессность определения концентрации ВНЦ. Такие возможности не представляют в полной мере другие существующие на сегодняшний день методы обнаружения этого антибиотика, которые позволяют определять его сверхмалые концентрации

в узком диапазоне и предназначены в основном для исследований в плазме крови [26–28].

Следует также отметить, что исследований, посвященных разработке носителей ВНЦ, применяемых для парентерального введения, с возможностью визуализировать процесс его высвобождения, нами не обнаружены. Поэтому целью данной работы стало получение multifunctional высокоэффективных систем доставки ВНЦ на основе наночастиц полиэлектролитных комплексов хитозана, обеспечивающих возможность пролонгированного высвобождения и одновременной визуализации его накопления и распределения в режиме реального времени.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для получения ПЭК применялись образцы катионного полиэлектролита ХТЗ (ММ 38700, степень деацетилирования 80% (по данным кондуктометрического титрования) (ЗАО «Биопрогресс»)) и анионного полиэлектролита κ -КРГ (ММ 400000, степень сульфатирования 22% («Molecularmeal»)). Молекулярные массы образцов полимеров рассчитывали по уравнению Марка–Хаувинка–Куна с использованием в качестве растворителя водного раствора NaCl (0.05 М) для подавления эффекта полиэлектролитного набухания [29]. Лекарственный препарат ВНЦ использовали в виде порошка для приготовления раствора для инъекций (торговое название – «Ванкомицин эльфа», «Эльфа Лаб-ораториз») без дополнительной очистки. Структурные формулы объектов исследования приведены на Рис. 1.

Для получения частиц ПЭК ХТЗ–КРГ смешивали водный раствор КРГ с концентрацией 10^{-2} основ. моль/л с раствором ХТЗ концентрацией 10^{-2} основ. моль/л в 6.0 мМ растворе уксусной кислоты в различных объемных соотношениях $V_{\text{КРГ}}/V_{\text{ХТЗ}}$. pH раствора ХТЗ составлял 5.6. Смеси перемешивали на магнитной мешалке в течение 30 мин со скоростью 800 об/мин. Отделение частиц ПЭК от непрореагировавших полиэлектролитов проводили центрифугированием (7000 об/мин) в течение 10 мин. Состав смесей полиэлектролитов определяли как отношение концентраций κ -каррагинана и хитозана $Z = [\text{КРГ}]:[\text{ХТЗ}]$. Концентрацию растворов полиэлектролитов, как отмечено выше, выражали в основ. моль/л как отношение количества молей мономерных звеньев (с учетом степеней деацетилирования и сульфатирования ХТЗ и КРГ соответственно) к объему раствора.

Для синтеза КТ CdS/ZnS использовали следующие реагенты: ацетат кадмия (II) дигидрат (99%, «ТатХим-Продукт»), ацетат марганца (II) тетрагидрат (ч.д.а., «ТатХимПродукт»), ацетат цинка (II) дигидрат (ч.д.а., «ТатХимПродукт»), сера элементарная (осч., «ТатХим-Продукт»), селен металлический (99%, «Panreac»), олеил-1-амин (90%, «Acros»), октадецен (90%, «Acros»), олеиновая кислота (75%, «Купавнареактив»), гидроксид натрия (99%, «ТатХимПродукт»), хлороформ (ч.д.а., «ТатХимПродукт»), меркаптопропионовая кислота (МПК) (99%, «Panreac»), этанол (ректификат).

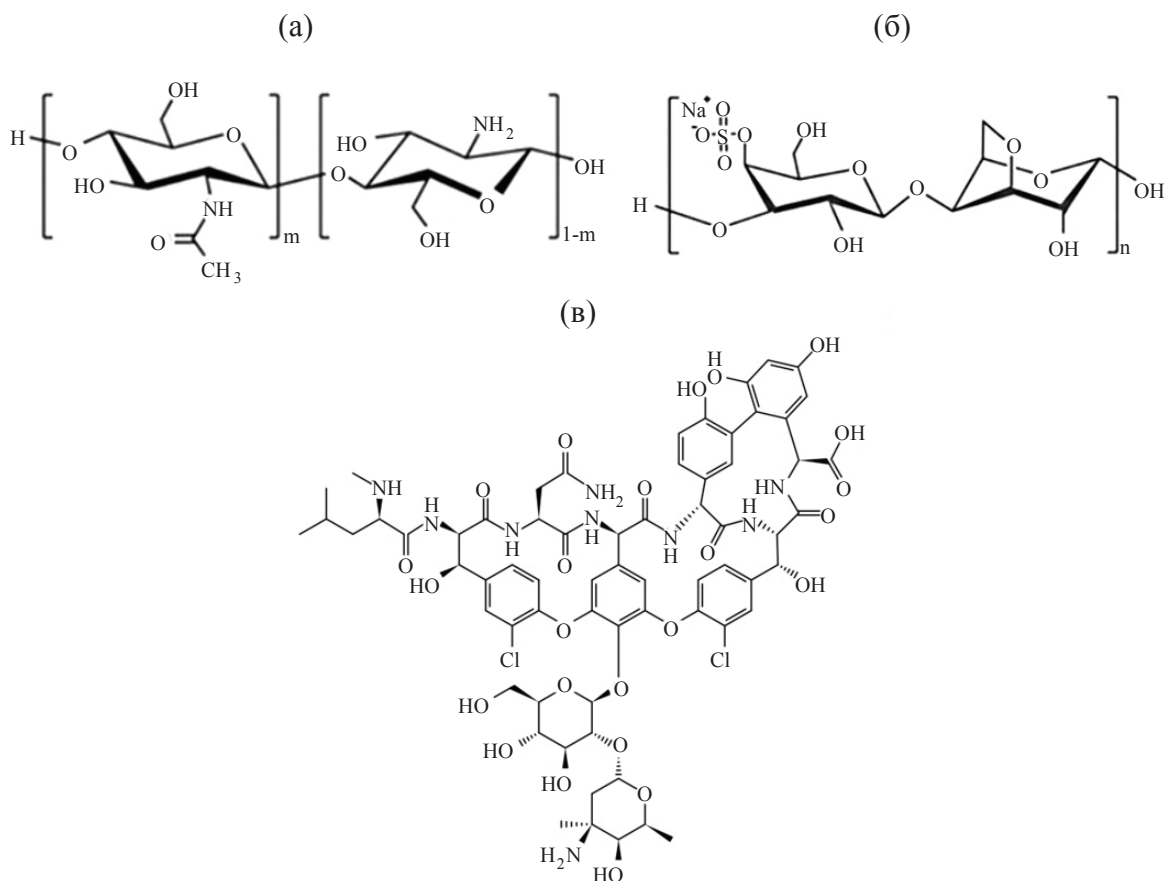


Рис. 1. Структурные формулы повторяющихся звеньев хитозана (а), κ -каррагинана (б) и молекулы ванкомицина (в).
Fig. 1. Structural formulas of monomer units of chitosan (a), κ -carrageenan (b) and vancomycin molecule (c).

Квантовые точки CdS/ZnS синтезировали по ранее разработанной нами методике [30]. В качестве неполярного растворителя и реакционной среды использовались октадецен-1 и олеиновая кислота. Синтез включал в себя три основные стадии: приготовление органорастворимых прекурсоров, коллоидный синтез наночастиц, выделение и очистка. На первой стадии ацетат кадмия и ацетат цинка растворяли в смеси олеиновой кислоты и октадецена-1 в отдельных колбах с последующим образованием олеатов. Реакцию проводили при 130°C под вакуумом для удаления уксусной кислоты и растворенных газов, образующихся в ходе реакции. Элементарную серу растворяли в октадецене при 130°C под вакуумом. На второй стадии полученные растворы заливали в колбы объемом 100 мл, нагревали до 300–310°C и смешивали, после чего начиналась нуклеация наночастиц. Реакцию проводили в атмосфере аргона. По окончании реакции смесь охлаждали до комнатной температуры, что приводило к осаждению наночастиц из реакционной смеси. Полученные КТ дважды очищали центрифугированием при добавлении этанола и вновь диспергировали в толуоле. Образцы хранили в виде коллоидных растворов.

Для проведения последующих экспериментов КТ гидрофилизировали. Гидрофилизацию проводили

по разработанной нами методике [31]. Для этого квантовые точки CdS/ZnS диспергировали в хлороформе и добавляли к полученной дисперсии 1 мл олеиновой кислоты. Отдельно готовили водный раствор МПК, рН которого доводили до 10 при помощи 2 М раствора NaOH. Далее раствор МПК приливали к дисперсии КТ. Полученную двухфазную систему при интенсивном перемешивании нагревали до 90°C для испарения хлороформа. После испарения хлороформа КТ переводили в водную фазу. Остатки олеиновой кислоты, олеиламина и прочих веществ удаляли путем центрифугирования при добавлении этанола, после чего гидрофилизированные КТ диспергировали в воде.

Частицы комплексов ХТЗ–КРГ с КТ и ВНЦ получали следующим образом. К раствору КРГ предварительно добавляли растворы ВНЦ и КТ CdS/ZnS (1.5 мг/мл), затем вводили в раствор ХТЗ. Приготовленную смесь центрифугировали в течение 10 мин со скоростью 7000 об/мин для отделения непрореагировавших компонентов.

Средний размер частиц в исследуемых системах и ζ -потенциал их поверхности определяли методом динамического рассеяния света на анализаторе размера частиц серии Zetasizer Nano-ZS («Malvern Instruments Ltd.»), оснащенный гелий-неоновым лазером (633 нм,

4 мВт). Угол светорассеяния составлял 173°. Графическую интерпретацию результатов измерения получали с помощью программного обеспечения «DTS Application Software» компании Malvern Instruments для работы под управлением операционной системы Windows®. При анализе автокорреляционной функции использовали приближение для твердых сферических частиц. Определение ζ -потенциала в водных системах проводили методом электрофоретического рассеяния света с применением технологии M3-PALS (использование быстро и медленно переменного электрического поля наряду с фазовым и частотным анализом рассеянного света). Перед выполнением измерений образцы фильтровали через фильтры Milipore с мембраной Durapore PVDF и диаметром пор 0.45 мкм. Для каждого образца проводили 3 серии измерений по 10 измерений в каждой. Ошибки измерений размера и ζ -потенциала частиц составили $\pm 2\%$ и ± 0.12 мВ соответственно.

Морфологический и элементный анализы полученных в работе коллоидных частиц проводили с помощью анализа изображений сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDX) с использованием сканирующего электронного микроскопа Evo ls 10 («Carl Zeiss»). Образцы исследовались после напыления проводящего золотого слоя на установке Vac Coat DSCT.

Рентгенодифракционные исследования образцов КТ проводили на порошковом рентгеновском дифрактометре XRD-7000 («Shimadzu») с использованием монохроматизированного $\text{CuK}\alpha$ излучения ($\lambda = 1.54063 \text{ \AA}$).

Спектрофотометрические измерения в УФ области проводились на сканирующем двухлучевом спектрофотометре «Lambda 35» («Perkin Elmer Instrumental») в кварцевых кюветах объемом 3 см³. Кювету сравнения заполняли дистиллированной водой. Спектры растворов ВНЦ снимали с использованием в качестве растворителя раствора альбумина (АБ) (из куриных яиц, $\text{C}_{2936}\text{H}_{4624}\text{N}_{786}\text{O}_{839}\text{S}_{41}$, «Купавнареактив», ММ 45000) с концентрацией 70 мкг/мл. В предварительных исследованиях было установлено, что зависимость оптической плотности от концентрации ВНЦ в растворе подчиняется закону Бугера–Ламберта–Бера при длине волны 280 нм в диапазоне концентраций 25–1000 мкг/мл [25].

Комплексообразование ВНЦ с АБ изучали методом изомолярных серий Остромысленского–Жоба [32] и методом молярных отношений [33]. Для исследований методом изомолярных серий готовили растворы ВНЦ и АБ с исходными концентрациями 10^{-4} М. Растворы обоих компонентов смешивали в соотношениях от 1 : 9 до 9 : 1, сохраняя при этом общий объем раствора 10 мл и общую концентрацию 10^{-4} М.

Для метода молярных отношений также готовили растворы ВНЦ и АБ с исходными концентрациями 10^{-4} М. В 10 мерных колб наливали по 2 мл раствора АБ и от 0.5 до 8 мл ВНЦ, затем доводили объем смеси водой до 10 мл. В соответствии с методом молярных отношений при постоянной концентрации АБ и переменной

концентрации ВНЦ спектральные изменения для раствора лекарственного вещества описываются уравнением [33]:

$$\frac{[AB]}{A - A_0} = \frac{1}{\epsilon - \epsilon_0} + \frac{1}{((\epsilon - \epsilon_0) \beta_K [ВНЦ])}, \quad (1)$$

где A и A_0 — оптические плотности растворов ВНЦ в присутствии и отсутствии АБ; $[AB]$ — начальная концентрация раствора альбумина, М; $[ВНЦ]$ — концентрация ванкомицина, М; ϵ и ϵ_0 — молярные коэффициенты экстинкции комплекса ВНЦ–АБ и индивидуального ВНЦ соответственно; β_K — константа устойчивости комплекса (M^{-1}).

Константу устойчивости комплекса ВНЦ–АБ β_K определяли способом Клотца [33] из графика зависимости $[AB]/(A - A_0)$ от $1/[ВНЦ]$ по тангенсу угла наклона.

Спектры люминесценции растворов получали на сканирующем спектрофлуориметре Cary Eclipse («Varian»). Длина волны возбуждения подбиралась в соответствии с люминесцентными характеристиками исследуемых веществ. Для растворов ВНЦ она составляла 280 нм [34], для растворов КТ, КТ с добавками ВНЦ и ПЭК с добавками КТ и ВНЦ — 370 нм [35]. Регистрацию спектров люминесценции производили в интервале длин волн 400–900 нм.

Константы связывания КТ CdS/ZnS с ВНЦ, иммобилизованного в ПЭК, определяли на основе данных тушения люминесценции КТ. Динамическое тушение люминесценции описывали уравнением Штерна–Фольмера [36]:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K[ВНЦ], \quad (2)$$

где F_0 и F — интенсивности люминесценции в отсутствие и присутствии тушителя; $[ВНЦ]$ — концентрация ванкомицина (М); K — эффективная константа связывания КТ с ВНЦ (M^{-1}).

Эффективность иммобилизации ВНЦ на частицах ПЭК, содержащих КТ CdS/ZnS , оценивали по разности исходного количества антибиотика, взятого для включения в ПЭК, и равновесного количества лекарственного вещества.

Кинетику высвобождения ВНЦ из частиц комплекса ХТЗ–КРГ изучали в условиях *in vitro* при температуре 37°. В качестве приемных сред использовали трис-буфер (рН 7.4) и водный раствор АБ (70 мкг/мл). Образцы комплексов ХТЗ–КРГ с КТ и ВНЦ, полученные по описанной выше методике, массой 10 мг помещали в ячейку с приемной средой объемом 10 мл. Через определенные промежутки времени отделяли частицы ПЭК от приемной среды центрифугированием в течение 3 мин со скоростью 7000 об/мин. Затем отбирали пробу объемом 1 см³ и переносили в кювету для записи спектров люминесценции при длине волны возбуждения 370 нм. После проведения измерения пробу сразу возвращали обратно в исследуемую систему. Количество

ВНЦ, высвободившегося из частиц комплексов ХТЗ–КРГ в приемные среды, рассчитывали на основании данных тушения люминесценции КТ CdS/ZnS ванкомицином. В качестве калибровочной зависимости для расчета количества высвободившегося ВНЦ использовали график, построенный в координатах Штерна–Фольмера $(F_0/F - 1) = f(c_{\text{ВНЦ}})$.

Выход ВНЦ из частиц ПЭК определяли по отношению количества лекарственного вещества m_t , высвободившегося из частиц ПЭК к моменту времени t , и равновесного количества ВНЦ m_∞ :

$$Q = \frac{m_t}{m_\infty} \times 100. \quad (3)$$

Коэффициенты диффузии ВНЦ в частицах ПЭК находили в рамках II закона Фика при $t = t_{1/2}$, т.е. в момент, когда m_t достигало половины равновесной величины m_∞ [37]:

$$D = \frac{0.25\pi r^2}{16t_{1/2}}. \quad (4)$$

Анализ механизма высвобождения ВНЦ из полимерного носителя проводили с применением математической модели Корсмейера–Пеппаса [38] с использованием следующего уравнения:

$$m_t/m_\infty = kt^n, \quad (5)$$

где k – константа, связанная с параметрами взаимодействия полимер–диффундирующее вещество; n – показатель, характеризующий механизм переноса вещества.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Самоорганизацию полиэлектролитов в водных растворах можно описать как спонтанную межмолекулярную ассоциацию через нековалентные связи (электростатические, водородные, донорно-акцепторные, гидрофобные взаимодействия), в результате чего в системе происходит образование устойчивых

супрамолекулярных структур размером от 10 нм до 10 мкм [10]. Механизм образования ПЭК восприимчив к изменениям внешних факторов (температуры, pH среды, химической природы и полярности растворителя и др.), что определяет привлекательность их применения в качестве стимул-чувствительных носителей для специфической доставки и контролируемого высвобождения лекарственных веществ.

При взаимодействии слабого основания ХТЗ с КРГ, представляющим собой сильную кислоту, в их смешанных слабокислых растворах происходит образование солевых связей между протонированными аминогруппами ХТЗ и сульфатными группами КРГ [39–41]. В проведенных ранее исследованиях было изучено комплексообразование данных полиэлектролитов и показано, что образование ПЭК ХТЗ–КРГ сопровождается снижением удельной электропроводимости смешанных растворов, электрокинетического потенциала образующихся частиц и изменением их размера [11].

Как видно из Таблицы 1, частицы ХТЗ имеют размер 130 нм и характеризуются положительным ζ -потенциалом. Структуры такого размера представляют собой, по-видимому, ассоциаты макроцепей ХТЗ. Образование ПЭК приводит к незначительному увеличению размера частиц и закономерному уменьшению их ζ -потенциала. Следует отметить, что при эквимольном соотношении концентрации полиэлектролитов в системе ([КРГ]: [ХТЗ] = 1 : 1) отмечается сохранение положительного значения электрокинетического потенциала частиц.

Исследования морфологии поверхности и размера частиц комплексов ХТЗ–КРГ с помощью сканирующей электронной микроскопии показало наличие различных структур, состоящих из частиц с размером от 30 до 45 нм (Рис. 2а). На отдельных изображениях видны скопления частиц, размеры которых варьируются от 600 до 900 нм, что говорит о сильной агрегации частиц ПЭК (Рис. 2б). На EDX-спектрах комплексов наблюдаются сигналы в области серы и азота (Рис. 2в), что согласуется с химическим составом полученных ПЭК ХТЗ–КРГ.

Квантовые точки «ядро–оболочка» CdS/ZnS получали коллоидным методом синтеза [30]. Средний

Таблица 1. Размер и ζ -потенциал частиц ПЭК КРГ–ХТЗ, содержащих ВНЦ и КТ CdS/ZnS.

Table 1. Sizes and ζ -potentials of CRG–ChTS PEC particles containing VNC and CdS/ZnS QDs.

Состав системы	Содержание ВНЦ, мкг/мл	Средний размер частиц d , нм	ζ -потенциал, мВ
КТ CdS/ZnS	–	10 ± 1	–22.0
ХТЗ	–	130 ± 3	30.1
ПЭК*	–	135 ± 3	8.2
ПЭК + CdS/ZnS (1.5 мг/мл) + ВНЦ	25	141 ± 3	–36.1
	100	147 ± 3	–38.8
	300	181 ± 4	–40.2
	500	190 ± 4	–40.9

* Состав ПЭК – [КРГ] : [ХТЗ] = 1 : 1

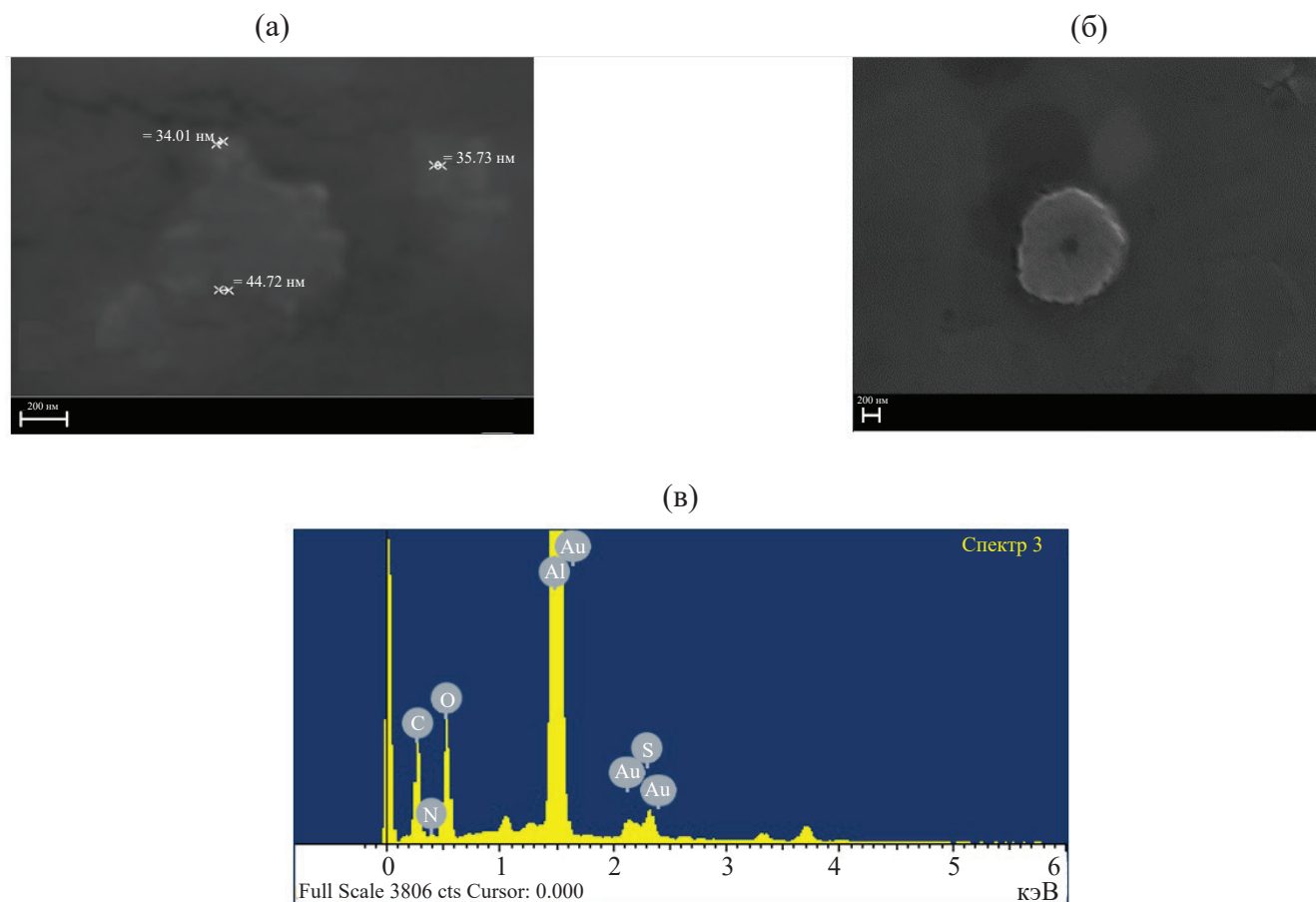


Рис. 2. СЭМ-изображения (а), (б) и EDX-спектр (в) частиц ПЭК ХТЗ–КРГ.
Fig. 2. SEM images (a, b) and EDX spectrum (c) of ChTS–CRG PEC particles.

гидродинамический размер синтезированных КТ с учетом размеров молекул стабилизатора – олеиновой кислоты и сольватной оболочки, определенный методом динамического рассеяния света, составил 10–11 нм, ζ -потенциал –22 мВ (Таблица 1). Анализ СЭМ-изображений КТ CdS/ZnS выявил присутствие наночастиц с размерами от 15 до 22 нм (Рис. 3а), которые включают в свой состав кадмий, цинк и серу (Рис. 3б). Данные рентгенодифракционного анализа (Рис. 3в) подтверждают образование частиц, имеющих «ядра» CdS. КТ имеют кубическую структуру кристаллической решетки типа цинковой обманки (сфалерита). Размер кристаллической ячейки, определенный по уравнению Дебая–Шеррера [42], составил 2 нм, что значительно меньше значений размеров КТ, полученных методом динамического рассеяния света и СЭМ. Обнаруженное отличие в размерах наночастиц может быть обусловлено отсутствием четкой границы между ядром и оболочкой КТ, а также формированием аморфного сплава CdZnS.

Синтезированные наночастицы сульфида кадмия с оболочкой сульфида цинка имеют узкую полосу интенсивной люминесценции в синей области спектра электромагнитного излучения при 464 нм (Рис. 4а). Ширина полос на полувысоте составила порядка 25 нм,

что характерно для наночастиц CdS. Относительный квантовый выход образцов КТ CdS/ZnS составил 0.34.

Люминесцентные частицы комплексов ХТЗ–КРГ с иммобилизованным антибиотиком ВНЦ получали путем смешения раствора ХТЗ с раствором КРГ, в который предварительно были добавлены растворы ВНЦ и суспензии КТ CdS/ZnS. На СЭМ-изображении поверхности полученных структур обнаруживаются наночастицы с размерами от 17 до 56 нм (Рис. 5а). В состав частиц входят кадмий, цинк и сера, что подтверждает включение КТ CdS/ZnS в состав комплексов ХТЗ–КРГ (Рис. 5б). Эффективность иммобилизации ВНЦ на наночастицах ПЭК составила 95–97%.

ВНЦ имеет сложную структуру, характерную для гликопептидных антибиотиков, содержащих углеводные фрагменты, ковалентно связанные с боковыми цепями аминокислотных остатков. В проведенных нами ранее исследованиях методами динамического рассеяния света, ИК-спектроскопии и квантово-химическими расчетами было показано, что взаимодействие ВНЦ с наночастицами CdS/ZnS осуществляется за счет образования водородных связей между карбоксильными группами меркаптопропионовой кислоты, координированными на поверхности КТ, и аминокислотными группами ВНЦ [25].

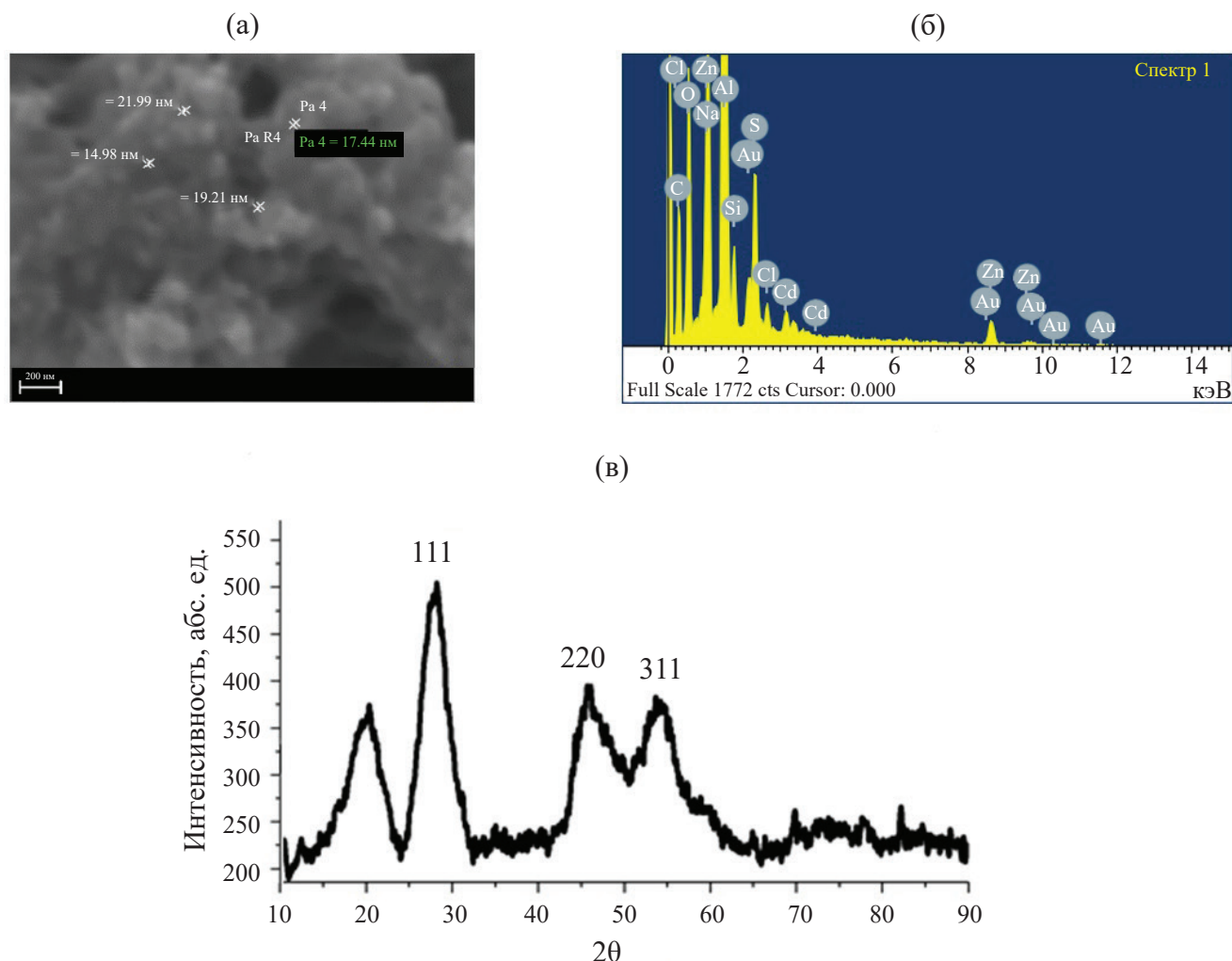


Рис. 3. СЭМ-изображение (а), EDX-спектр (б) и рентгенодифрактограмма порошков (в) КТ CdS/ZnS.
Fig. 3. SEM image (a), EDX spectrum (b), and X-ray diffractogram of CdS/ZnS QD powders (c).

При получении полимерного носителя ВНЦ в слабых условиях к макроцепи ПЭК, несущей слабый положительный заряд (ζ -потенциал комплекса равен 8 мВ), электростатически притягиваются отрицательно заряженные в водном растворе КТ CdS/ZnS и ионизованные карбоксильные группы ВНЦ. В полученной системе ПЭК–КТ–МПК–ВНЦ реализуется сложный комплекс межмолекулярных конкурирующих электростатических взаимодействий, дополненный образованием водородных связей между отдельными функциональными группами компонентов. В Таблице 1 приведены данные о размере и ζ -потенциале частиц ПЭК КРГ–ХТЗ, содержащих ВНЦ и КТ CdS/ZnS. ПЭК в присутствии КТ и ВНЦ имеет размер 141 нм и отрицательный ζ -потенциал. При увеличении содержания ВНЦ в полимерном носителе отмечается рост среднего размера частиц до 190 нм. ζ -потенциал комплекса ХТЗ–КРГ, содержащий КТ, в присутствии ВНЦ меняется незначительно, что указывает на коллоидную стабильность полимерных частиц в присутствии антибиотика

и наночастиц CdS/ZnS. В работе [43] сообщалось, что положительно заряженные частицы могут вызывать неспецифическое прилипание клеток и взаимодействие с белками плазмы, в то время как отрицательно заряженные частицы легко поглощаются эндотелиальными клетками в печени. Поэтому отрицательно заряженные частицы ПЭК в качестве системы доставки лекарственного вещества могут быть полезными для предотвращения нежелательного взаимодействия с белками при длительном ее нахождении в кровотоке.

Для исследования кинетических закономерностей высвобождения ВНЦ из инкапсулированной формы по тушению люминесценции наночастиц CdS/ZnS, необходимо оценить влияние ВНЦ, инкапсулированного в частицы комплексов ХТЗ–КРГ, на люминесценцию КТ. С этой целью были получены ПЭК, содержащие постоянное количество КТ, и ВНЦ в широком интервале концентраций (от 25 до 1000 мкг/мл). Выбор содержания антибиотика в полимерном носителе был обусловлен

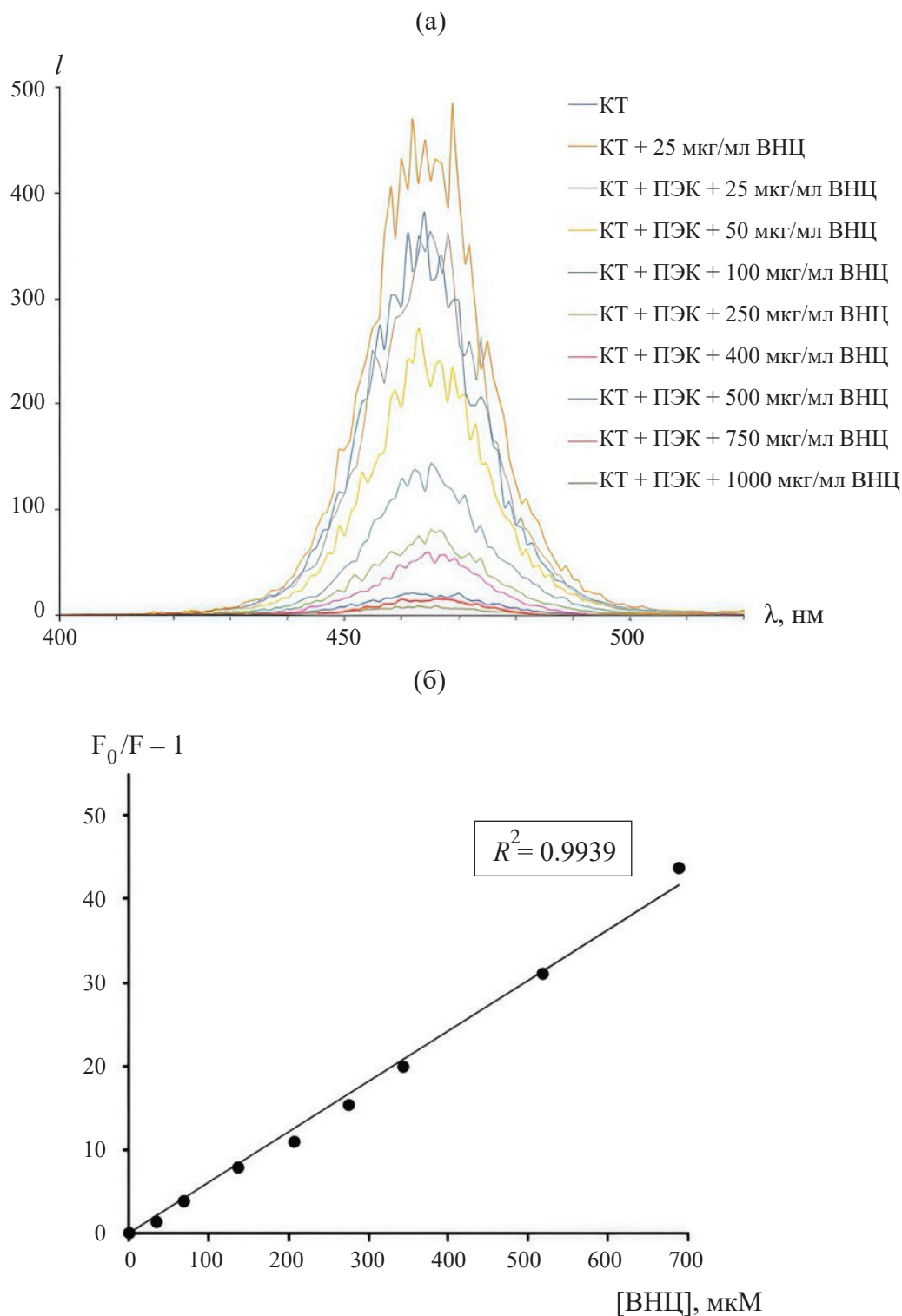


Рис. 4. Спектры люминесценции растворов КТ CdS/ZnS, КТ в присутствии ВНЦ ($c_{\text{ВНЦ}} = 25$ мкг/мл) и КТ в присутствии ВНЦ различной концентрации, иммобилизованного в ПЭК (а); график в координатах Штерна–Фольмера для исследуемой системы (б) ($\lambda_{\text{ex}} = 370$ нм, содержание КТ 1.5 мг/мл, состав ПЭК – [КРГ] : [ХТЗ] = 1 : 1).

Fig. 4. Luminescence spectra for solutions of CdS/ZnS QDs, QDs in the presence of VNC ($c_{\text{VNC}} = 25$ $\mu\text{g/mL}$), and QDs in the presence of different concentrations of VNC immobilized in PEC (a) and graph plotted for the studied system in the Stern–Volmer coordinates (b) ($\lambda_{\text{ex}} = 370$ nm, QD content 1.5 mg/mL; and PEC composition [CGN] : [CHI] = 1 : 1).

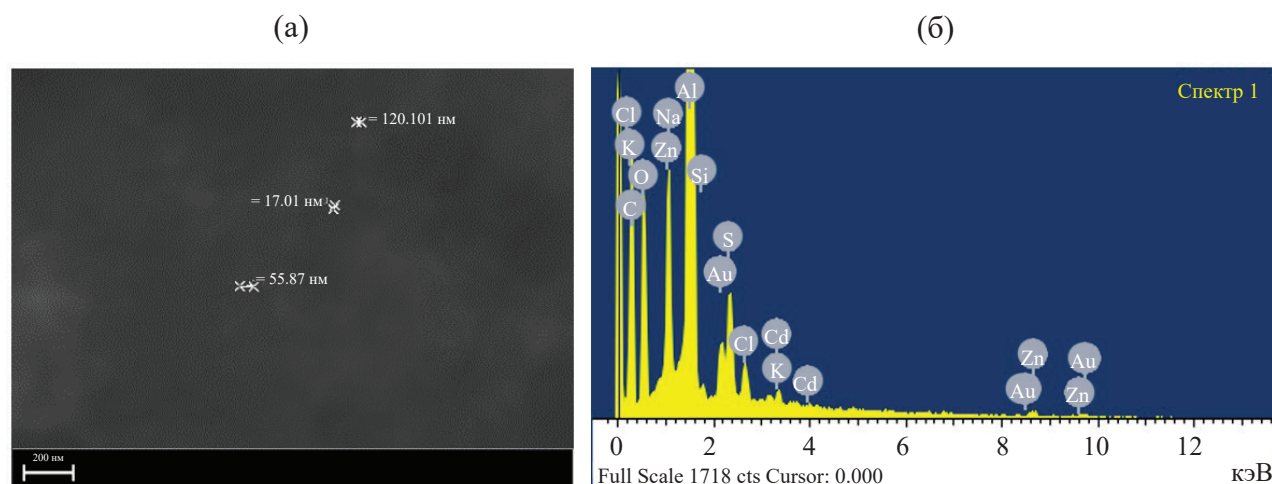


Рис. 5. СЭМ-изображение (а) и EDX-спектр (б) частиц ПЭК–КТ–ВНЦ.
Fig. 5. SEM image (a) and EDX spectrum (b) of PEC–QD–VNC particles.

тем, что при проведении антибактериальной терапии используются достаточно высокие его концентрации (500 мг — при приготовлении растворов для инфузий, 0.5–2 г — при приеме внутрь) [22].

Зависимости интенсивности люминесценции КТ CdS/ZnS в присутствии иммобилизованного ВНЦ приведены на Рис. 4а. Как отмечалось выше, наночастицы CdS/ZnS имеют узкую полосу интенсивной люминесценции при 464 нм. При введении добавок свободного ВНЦ и его иммобилизованной формы положение пика люминесценции КТ не изменяется. Вместе с тем, обращает на себя внимание, что интенсивность люминесценции КТ зависит от концентрации ВНЦ и того, в какой форме он находится. В присутствии антибиотика с самой низкой из изученных нами концентраций ВНЦ (25 мкг/мл) отмечается увеличение интенсивности эмиссии КТ. Сам ВНЦ демонстрирует полосу люминесценции при 340 нм [25]. Проявление собственной люминесценции антибиотика влияет на общую люминесценцию системы КТ–ВНЦ. Иммобилизованный в ПЭК ВНЦ той же концентрации практически не оказывает влияние на люминесцентные свойства наночастиц CdS/ZnS. При дальнейшем увеличении концентрации иммобилизованного антибиотика от 50 до 1000 мкг/мл отмечается тушение люминесценции КТ.

Для определения механизма и константы связывания ВНЦ, находящегося в инкапсулированной форме, с КТ CdS/ZnS строили графики в координатах Штерна–Фольмера (Рис. 4б). Как видно из рисунка, зависимость $F_0/F - 1$ от концентрации ВНЦ представляет собой прямую линию с наклоном К в области концентраций тушителя 35–518 мкМ (50–750 мкг/мл) и аппроксимируется уравнением с коэффициентом детерминации $R^2 = 0.994$. Константа связывания КТ с ВНЦ, определенная по графику, составила $6.8 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$. Таким образом, присутствие ВНЦ, иммобилизованного

на наночастицах ПЭК ХТЗ–КРГ, оказывает схожее влияние на люминесцентные характеристики КТ, как и в случае свободного антибиотика [25]. Полимерный носитель не влияет на люминесцентные свойства наночастиц CdS/ZnS и, следовательно, данные КТ можно использовать в качестве модельного оптического зонда при изучении высвобождения антибиотика из систем замедленного релизинга.

Особенностью многих антибиотиков является их высокая способность к связыванию с белками крови, поверхностью клеток и другими поверхностями, что существенно осложняет определение их концентрации при высвобождении из носителей в крови и других биожидкостях. Для учета влияния этого фактора и определения преимущественной мишени для связывания ВНЦ было изучено влияние модельной матрицы биологической жидкости на состояние антибиотика. Альбумины — это простые белки в организме человека, которые являются основным компонентом крови, составляя до 65% от общего количества белка. Их основной функцией является транспорт неорганических ионов, гормонов, лекарственных веществ в крови [44] и поэтому в качестве модели белка крови нами был выбран альбумин.

Связывание ВНЦ с АБ изучали на основе данных метода УФ-спектрофотометрии. Состав комплексов ВНЦ–АБ определяли методом изомолярных серий Остроумовского–Жоба (Рис. 6). Изомолярная кривая имеет несимметричный вид, более крутой наклон отмечается в области больших концентраций белка. Соотношение компонентов изомолярной серии, отвечающее максимуму поглощения, позволяет определить стехиометрическое соотношение реагирующих веществ [32]. Состав комплекса ВНЦ–АБ, определенный из изомолярной кривой, соответствует молярному отношению ВНЦ: АБ = 1.0: 2.0. Определенный состав комплекса

свидетельствует о наличии не вовлеченных в процесс связывания функциональных групп АБ.

Наличие размытого максимума на изомолярной кривой указывает на образование в системе неустойчивого комплекса или несколько близких по оптическим свойствам устойчивых комплексов [32]. Найденная по тангенсу угла наклона зависимости $[АБ]/(A-A_0)$ от $1/[ВНЦ]$ константа устойчивости комплекса $ВНЦ-АБ$ составила $\beta_k = 6.0 \cdot 10^4 \text{ М}^{-1}$. Действительно, константа устойчивости комплекса $\beta_k < 10^6$, что характеризует его как комплекс низкой устойчивости и согласуется с формой изомолярной диаграммы. Сравнение констант связывания $ВНЦ$ с наночастицами CdS/ZnS и белком АБ позволяет сделать предположение, что преимущественной мишенью для связывания антибиотика является оптический зонд.

Применение систем пролонгированного высвобождения инкапсулированных лекарственных веществ значительно увеличивает терапевтический эффект и минимизирует негативное токсическое воздействие лекарственных препаратов на здоровые клетки и ткани организма человека за счет создания и поддержания концентрации активных компонентов в терапевтическом диапазоне в течение длительного времени. Поэтому на заключительном этапе работы исследовали кинетические закономерности высвобождения $ВНЦ$ из наночастиц ПЭК ХТЗ–КРГ, содержащих КТ CdS/ZnS , в условиях *in vitro* (Рис. 7а). В качестве приемных сред, имитирующих биологическую жидкость, использовали растворы трис-буфера и альбумина. Как видно из рисунка, высвобождение $ВНЦ$ из частиц ПЭК носит замедленный характер, 75–80% антибиотика

высвобождается за 10 ч. Обращает на себя внимание, что при проведении экспериментов по высвобождению с применением в качестве приемной среды раствора АБ отмечается снижение скорости выхода антибиотика из наночастиц ХТЗ–КРГ по сравнению с трис-буфером.

Для прогнозирования фармакологических профилей высвобождения $ВНЦ$ из наночастиц ПЭК проводили анализ его механизма. Интерпретация кинетических данных высвобождения лекарственных веществ из полимерных носителей осложняется тем, что диффузия низкомолекулярных веществ протекает одновременно с изменениями самой полимерной матрицы в приемной среде (растворением, набуханием, деструкцией) [45]. Поэтому анализ механизма высвобождения $ВНЦ$ проводили в рамках математической модели Корсмейера–Пеппаса (Рис. 7б), которая наиболее часто применяется в тех случаях, когда механизм высвобождения сложен или неизвестен. Анализ результатов проводили исходя из того, что наночастицы ПЭК имеют сферическую форму. Для таких частиц значение показателя, характеризующего механизм переноса вещества $n \leq 0.43$, указывает на высвобождение только за счет диффузии, которое подчиняется II закону Фика. Если значение n лежит в интервале $0.43 \div 0.85$, в системе реализуется аномальное высвобождение, контролируемое и диффузией лекарственного вещества, и релаксацией полимерного носителя. В случае, когда $n \geq 0.85$ наблюдается контролируемое релаксацией полимерной матрицы высвобождение (Case-II transport) [37]. Показатель n определяли как угол наклона линейной части зависимости $\lg m_t/m_\infty = f(\lg t)$ на Рис. 7б (Таблица 2). В таблице также приведены коэффициенты диффузии D $ВНЦ$ в приемных средах. Данные таблицы указывают на то, что процесс высвобождения $ВНЦ$ из частиц ПЭК происходит не только за счет его диффузии из полимерной матрицы, а сопровождается релаксацией самой матрицы. Коэффициент диффузии $ВНЦ$ в растворе белка имеет меньшее значение по сравнению с трис-буфером, что согласуется с ходом кинетических кривых высвобождения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены люминесцентные наночастицы полиэлектролитного комплекса на основе природных полисахаридов хитозана и κ -каррагинана, содержащие квантовые точки CdS/ZnS , в качестве многофункциональных систем доставки гликопептидного антибиотика ванкомицина с высокой эффективностью его инкапсулирования. Изучена способность инкапсулированного ванкомицина тушить люминесценцию синтезированных квантовых точек и показано, что уменьшение интенсивности люминесценции наночастиц CdS/ZnS носит линейный характер в диапазоне концентраций антибиотика 35–518 мкМ с коэффициентом детерминации $R^2 = 0.994$. Анализ кинетических закономерностей высвобождения ванкомицина из наночастиц полиэлектролитного комплекса в условиях *in vitro* в среды, имитирующие биологическую жидкость в организме человека, показал отклонение

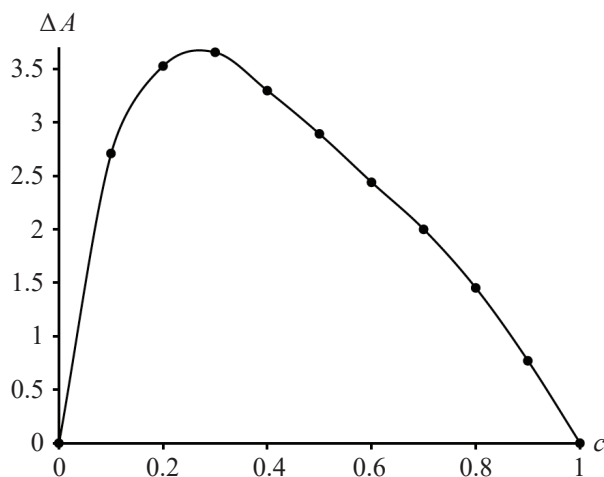


Рис. 6. Изомолярная кривая для системы $ВНЦ-АБ$ в водном растворе ($[ВНЦ] + [АБ] = 1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$,

$$c = \frac{[ВНЦ]}{[ВНЦ] + [АБ]}; \lambda = 280 \text{ нм}).$$

Fig. 6. Isomolar curve for VNC-albumin (AB) system in aqueous solution ($[VNC] + [AB] = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$,

$$c = \frac{[VNC]}{[VNC] + [AB]}; \lambda = 280 \text{ nm}).$$

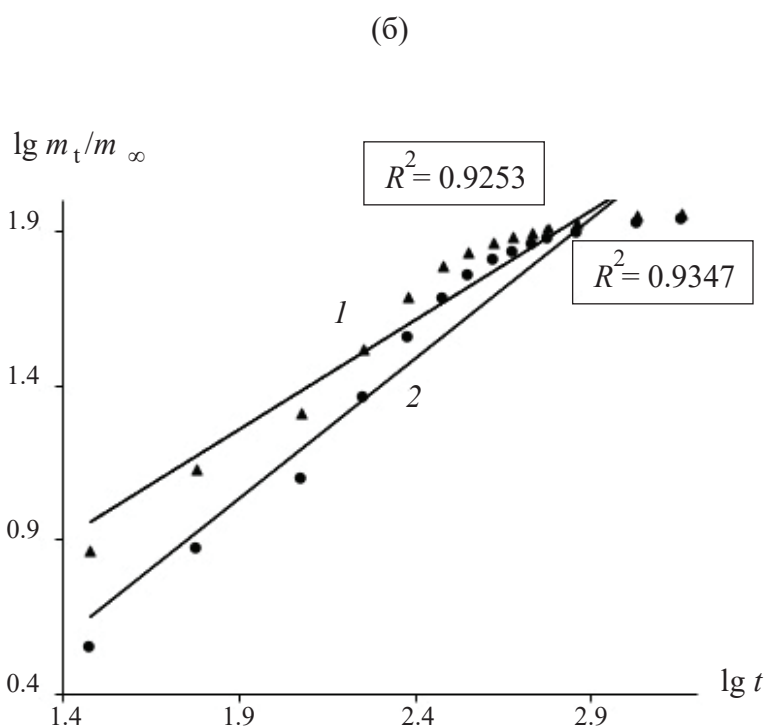
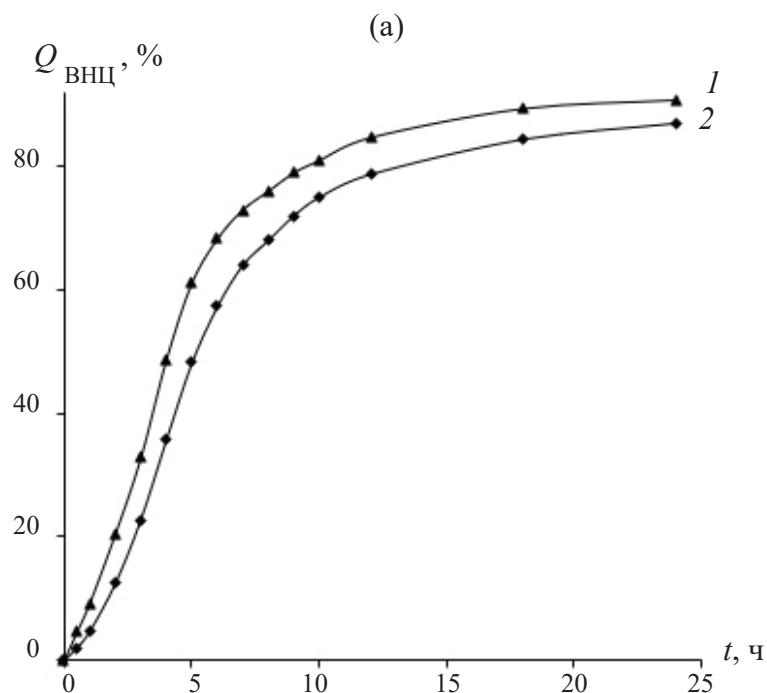


Рис. 7. Кинетические кривые высвобождения ВНЦ из наночастиц ПЭК ХТЗ–КРГ, содержащих КТ CdS/ZnS (а) и аппроксимирующие кривые, рассчитанные по математической модели Корсмейера–Пеппаса (б); приемные среды: 1 – трис-буфер; 2 – раствор АБ (70 мкг/мл).

Fig. 7. Kinetic curves for VNC release from ChTS–CRG PEC nanoparticles containing CdS/ZnS QDs (a) and approximating curves calculated in terms of the Korsmeyer–Peppas (b); receiving media: 1 – tris-buffer; 2 – ALB solution (70 $\mu\text{g/mL}$).

Таблица 2. Параметры высвобождения ванкомицина из наночастиц ПЭК ХТЗ–КРГ, содержащих КТ, в приемные среды.**Table 2.** Parameters of vancomycin release from QD-containing ChTS–CRG PEC nanoparticles into receiving media.

Приемные среды	Параметры высвобождения	
	n	$D \times 10^7, \text{см}^2/\text{с}$
Трис-буфер	0.71	0.59
Раствор АБ (70 мкг/мл)	0.84	1.55

механизма высвобождения от диффузионного и то, что часть ванкомицина находится в связанном с альбумином виде. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения полиэлектролитных комплексов хитозана с κ -каррагинаном, содержащих квантовые точки типа CdS/ZnS, в качестве модельных

биосовместимых люминесцентных наноносителей для антибиотика ванкомицина. Разработанные системы доставки ванкомицина обеспечивают высокую эффективность его инкапсулирования, пролонгированное высвобождение и возможность визуализации данного процесса в режиме реального времени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kalia M.* Personalized oncology: recent advances and future challenges // *Metabolism*. 2013. V. 62. S11–S14. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2012.08.016>
2. *Jain T., Kumar S., Dutta P.K.* Teranostics: A way of modern diagnostics and the role of chitosan // *J. Mol. Genet. Med.* 2015. V. 9. № 1. P. e1000159. <https://doi.org/10.4172/1747-0862.1000159>
3. *Muthu M.S., Leong D.T., Mei L., Feng S.S.* Nanotheranostics - application and further development of nanomedicine strategies for advanced theranostics // *Theranostics*. 2014. V. 4. № 6. P. 660–677. <https://doi.org/10.7150/thno.8698>
4. *Galeeva A.I., Selivanova N.M., Galyametdinov Yu.G.* Wetting and adhesive properties of biopolymer-based organized condensed phases as drug delivery systems // *Liq. Cryst. and their Appl.* 2023. V. 23. № 4. P. 38–48. (in Russian). <https://doi.org/10.18083/LCAppl.2023.4.38>
5. *Wu X., Yang H., Yang W., Chen X., Gao J., Gong X., Wang H., Duan Y., Wei D., Chang J.* Nanoparticle-based diagnostic and therapeutic systems for brain tumors // *J. Mater. Chem. B*. 2019. V. 7. № 31. P. 4734–4750. <https://doi.org/10.1039/C9TB00860H>
6. *Zhao D., Yu S., Sun B., Gao S., Guo S., Zhao K.* Biomedical applications of chitosan and its derivative nanoparticles // *Polymers*. 2018. V. 10. № 4. P. 462–479. <https://doi.org/10.3390/polym10040462>
7. *Victor R.S., Santos A.M.C., Sousa B.V., Neves G.A., Santana L.N.L., Menezes R.R.* A review on Chitosan's uses as biomaterial: Tissue engineering, drug delivery systems and cancer treatment // *Materials*. 2020. V. 13. № 21. P. 4995. <https://doi.org/10.3390/ma13214995>
8. *Yao Wu, Run Zhang, Huong D. N. Tran, Nyoman D. Kurniawan, Shehzahdi S. Moonshi, Andrew K. Whittake, Hang T. Ta.* Chitosan nanococktails containing both ceria and superparamagnetic iron oxide nanoparticles for reactive oxygen species-related theranostics // *ACS Appl. Nano Mater.* 2021. V. 4. № 4. P. 3604–3618. <https://doi.org/10.1021/acsanm.1c00141>
9. *Kou S.G., Peters L., Mucalo M.* Chitosan: A review of molecular structure, bioactivities and interactions with the human body and micro-organisms // *Carbohydr. Polym.* 2022. № 282. P. 119132. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119132>
10. *Краюхина М.А., Самойлова Н.А., Ямсков И.А.* Полиэлектролитные комплексы хитозана: формирование, свойства и применение // *Успехи химии*. 2008. Т. 77. № 9. С. 854–869.
11. *Миргалеев Г.М., Шилова С.В.* Связывание флуоресцеина хитозаном и полиэлектролитным комплексом на его основе в водных растворах // *Коллоидный журнал*. 2024. Т. 86. №3. С. 379–389. <https://doi.org/10.31857/S0023291224030074>
12. *Quadrado R.F.N., Fajardo A.R.* Microparticles based on carboxymethyl starch/chitosan polyelectrolyte complex as vehicles for drug delivery systems // *Arab. J. Chem.* 2020. V. 13. № 1. P. 2183–2194. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.04.004>
13. *Shilova S.V., Mirgaleev G.M., Romanova K.A., Galyametdinov Y.G.* Alginate/chitosan hydrogels as perspective transport systems for cefotaxime // *Biopolymers*. 2023. V. 114. № 10. P. e23555. <https://doi.org/10.1002/bip.23555>

14. *Mahdavinia G.R., Mosallanezhad A., Soleymani M., Sabzi M.* Magnetic- and pH-responsive κ -carrageenan/chitosan complexes for controlled release of methotrexate anticancer drug // *Int. J. Biol. Macromol.* 2017. V. 1. P. 209–217. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.012>
15. *Kumar R., Najda A., Duhan J.S., Kumar B., Chawla P., Klepacka J., Malawski S., Kumar Sadh P., Poonia A.K.* Assessment of antifungal efficacy and release behavior of fungicide-loaded chitosan-carrageenan nanoparticles against phytopathogenic fungi // *Polymers.* 2022. V. 14. P. 41. <https://doi.org/10.3390/polym14010041>
16. *Щипунов Ю.А.* Структура полиэлектролитных комплексов на примере гидрогелей хитозана с лямбда-карагинаном // *Высокомолек. соед. Сер. А.* 2020. Т. 62. № 1. С. 57–64. <https://doi.org/10.31857/S2308112020010101>
17. *Olanrewaju A. Aladesuyi, Thabang C. Lebepe, Rodney Maluleke, Oluwatobi S. Oluwafemi.* Biological applications of ternary quantum dots: A review // *Nanotech. Rev.* 2022. V. 11. № 1. P. 2304–2319. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2022-0136>
18. *Bezrukov A.N., Galeeva A.I., Krupin A.S., Galyametdinov Y.G.* Molecular orientation behavior of lyotropic liquid crystal–carbon dot hybrids in microfluidic confinement // *Int. J. Mol. Sci.* 2024. V. 25. №10. P. 5520. <https://doi.org/10.3390/ijms25105520>
19. *Elugoke S.E., Uwaya G.E., Quadri T.W., Ebenso E.E.* Carbon quantum dots: basics, properties, and fundamentals // *Carbon Dots: Recent Developments and Future Perspectives.* 2024. Chapter 1. P. 3–42. <https://doi.org/10.1021/bk-2024-1465.ch001>
20. *Zhao J., Wu J.* Preparation and characterization of the fluorescent chitosan nanoparticle probe // *Chin. J. Anal. Chem.* 2006. V. 34. № 11. P. 1555–1559. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(07\)60015-2](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(07)60015-2)
21. *Derfus A.M., Chan W.C., Bhatia S.N.* Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots // *Nano Letters.* 2004. V. 4. № 1. P. 11–18. <https://doi.org/10.1021/nl0347334>
22. *Cunha B.A.* Vancomycin // *Med. Clin. N. Am.* 1995. V. 79. № 4. P. 817–831. [https://doi.org/10.1016/S0025-7125\(16\)30041-4](https://doi.org/10.1016/S0025-7125(16)30041-4)
23. *Elyasi S., Khalili H., Dashti-Khavidak S., Mohammadpour A.* Vancomycin-induced nephrotoxicity: Mechanism, incidence, risk factors and special populations. A literature review // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2012. V. 68. P. 1243–1255. <https://doi.org/10.1007/s00228-012-1259-9>
24. *Bruniera F.R., Ferreira F.M., Saviolli L.R.M., Bacci M.R., Feder D., Pedreira M., Peterlini M.A.S., Azzalis L., Junqueira V.B.C., Fonseca F.L.* The use of vancomycin with its therapeutic and adverse effects: A review // *Eur. Rev. Med. Pharm. Sci.* 2015. V. 19. P. 694–700.
25. *Shilova S.V., Sagdeev D.O., Mirgaleev G.M., Romanova K.A., Galyametdinov Yu.G.* Novel nanosensors represented by CdS/ZnS quantum dots doped with manganese (II) ions for detection of vancomycin // *Physica Scripta.* 2025. V. 100. № 3. P. 035906. <https://doi.org/10.1088/1402-4896/adadaa>
26. *Pfaller M., Krogstad D., Granich G., Murray P.* Laboratory evaluation of five assay methods for vancomycin: Bioassay, high-pressure liquid chromatography, fluorescence polarization immunoassay, radioimmunoassay, and fluorescence immunoassay // *J. Clin. Microbiol.* 1984. V. 20. № 3. P. 311–316. <https://doi.org/10.1128/jcm.20.3.311-316.1984>
27. *Nascimento P.A.D., Kogawa A.C., Salgado H.R.N.* Current status of vancomycin analytical methods // *J. AOAC Int.* 2020. V. 103. № 3. P. 755–769. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qs024>
28. *Cheng X., Ma J., Su J.* An Overview of analytical methodologies for determination of vancomycin in human plasma // *Molecules.* 2022. V. 27. № 21. P. 7319. <https://doi.org/10.3390/molecules27217319>
29. *Крупин С.В., Мягченков В.А., Третьякова А.Я., Вяслева Г.Я., Торсуев Д.М., Булидорова Г.В., Курмаева А.И., Коноплева А.А.* Практикум по физикохимии растворов и дисперсий полимеров. Казань: Казан. гос. технол. ун-т. 2003. 154 с.
30. *Sagdeev D.O., Shamilov R.R., Galyametdinov Y.G.* Quantum dots luminescent compounds with multimodal luminescence for fuel labeling // *Physica Scripta.* 2023. V. 98. № 10. P. 105101. <https://doi.org/10.1088/1402-4896/acf3b3>

31. *Галаметдинов Ю.Г., Крупин А.С., Сагдеев Д.О., Карякин М.Е., Шамилов Р.Р., Князев А.А.* Люминесцентные композиты на основе жидкокристаллического комплекса европия (III) и квантовых точек CdSe/CdS/ZnS // *Жидк. крист. и их практич. использ.* 2022. Т. 22. № 1. С. 27–38.
<https://doi.org/10.18083/LCAppl.2022.1.27>
32. *Zhou N., He C.X.* An improved method of isomolar series by dual-wavelength spectrophotometry // *Microchimica Acta.* 1993. V. 111. № 4. P. 183–191.
<https://doi.org/10.1007/BF01245305>
33. *Knowles C., Knowles A.* Practical Absorption Spectrometry: Ultraviolet Spectrometry Group. Springer Science & Business Media, 2013.
34. *Tiwari A.K., Yadav H.P., Gupta M.K., Narayan R.J., Pandey P.C.* Synthesis of vancomycin functionalized fluorescent gold nanoparticles and selective sensing of mercury (II) // *Front. Chem.* 2023. V. 11. P. 1238631.
<https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1238631>
35. *Liang W., Liu S., Liu Z., Li D., Wang L., Hao C., He Y.* Electron transfer and fluorescence “turn-off” based CdTe quantum dots for vancomycin detection at nanogram level in aqueous serum media // *New J. Chem.* 2015. V. 39. № 6. P. 4774–4782.
<https://doi.org/10.1039/c4nj01764a>
36. *Motz R.N., Sun A.C., Lehnher D., Ruccolo S.* High-throughput determination of Stern-Volmer quenching constants for common photocatalysts and quenchers // *ACS Org. Inorg.* 2023. V. 3. № 5. P. 266–273.
<https://doi.org/10.1021/acsorginorgau.3c00019>
37. *Crank J.* The Mathematics of Diffusion. Oxford: Clarendon Press, 1975.
38. *Ritger P.L., Peppas N.A.* A simple equation for description of solute release. I. Fickian and non-Fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs // *J. Control. Release.* 1987. V. 5. № 1. P. 23–36.
[https://doi.org/10.1016/0168-3659\(87\)90034-4](https://doi.org/10.1016/0168-3659(87)90034-4)
39. *Petrova V.A., Orekhov A.S., Chernyakov D.D., Baklagina Yu.G., Romanov D.P., Kononova S.V., Volod'ko A.V., Ermak I.M., Klechkovskaya V.V., Skorik Yu.A.* Preparation and analysis of multilayer composites based on polyelectrolyte complexes // *Crystallogr. Rep.* 2016. V. 61. P. 945–953.
<https://doi.org/10.1134/S1063774516060110>
40. *Kononova S.V., Volod'ko A.V., Petrova V.A., Kruchinina E.V., Baklagina Y.G., Chusovitin E.A., Skorik Yu.A.* Per-vaporation multilayer membranes based on a polyelectrolyte complex of λ -carrageenan and chitosan // *Carbohydr. Polym.* 2018. V. 181. P. 86–92.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.050>
41. *Dubashynskaya N.V., Petrova V.A., Sgibnev A.V., Elokhovskiy V.Y., Cherkasova Y.I., Skorik Yu.A.* Carrageenan/chitin nanowhiskers cryogels for vaginal delivery of metronidazole // *Polymers.* 2023. V. 15. № 10. P. 2362.
<https://doi.org/10.3390/polym15102362>
42. *Patterson A.* The scherrer formula for X-Ray particle size determination // *Phys. Rev.* 1939. V. 56. № 10. P. 978–982.
<https://doi.org/10.1103/PhysRev.56.978>
43. *Li L., Chen D., Zhang Y., Deng Z., Ren X., Meng X., Tang F., Ren J., Zhang L.* Magnetic and fluorescent multifunctional chitosan nanoparticles as a smart drug delivery system // *Nanotechnology.* 2007. V. 18. № 40. P. 405102.
<https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/40/405102>
44. *Bern M., Sand K.M.K., Nilsen J., Sandlie I., Ander J.T.* The role of albumin receptors in regulation of albumin homeostasis: Implications for drug delivery // *J. Controlled Release.* 2015. V. 211. P. 144–162.
<http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.06.006>
45. *Иорданский А.Л., Заиков Г.Е., Берлин А.А.* Диффузионная кинетика и гидролиз биоразлагаемых полимеров. Потеря массы и контроль высвобождения низкомолекулярных веществ // *Вестн. Казанского технолог. ун-та.* 2015. Т. 18. № 2. С. 81–87.