DOI:
УДК 577.114.7: 547.633.6:543.42

Наночастицы бычьего сывороточного альбумина в качестве систем доставки дексаметазона натрия фосфата

С.В. Шилова*, Г.М. Миргалеев, Д.П. Бызов, П.Я. Эндерс

Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Российская Федерация
**E-mail: s_shilova74@mail.ru*

Аннотация. Получены и охарактеризованы наночастицы комплексов бычьего сывороточного альбумина с дексаметазоном натрия фосфатом как модели систем доставки глюкокортикостероида с эффективностью инкапсулирования 57±1% и пролонгированным высвобождением. Размер наночастиц составил 70–100 нм, ζ-потенциал –15.5 ± 0.12 мВ соответственно. Комплексом методов изучено межмолекулярное взаимодействие дексаметазона с альбумином в растворах и в составе наночастиц. Определены константы тушения флуоресценции белка, константы связывания, число сайтов связывания для системы альбумин–дексаметазон при разных температурах в интервале 288–308 K и составы образующихся комплексов в средах с различным pH. Показано, что тушение флуоресценции альбумина в присутствии дексаметазона обусловлено статическим механизмом тушения. Значения термодинамических параметров комплексообразования дексаметазона с альбумином (ΔH = –46.33 кДж/моль, ΔS = –70.38 Дж/моль·K, ΔG = –25.36 кДж/моль (298 K)) указывают на то, что основную роль в связывании дексаметазона натрия фосфата бычьим сывороточным альбумином в физиологических условиях играют Ван-дер-Ваальсовое взаимодействие и водородные связи. Кинетические данные высвобождения дексаметазона из наночастиц альбумина в условиях *in vitro* лучше всего описываются математической моделью Корсмейера–Пеппаса.

Ключевые слова: дексаметазон натрия фосфат, бычий сывороточный альбумин, наночастицы, комплексообразование, тушение флуоресценции, константы связывания, системы доставки лекарственных веществ, высвобождение

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания (№ 075-00021-26-00) от 12.01.2026.

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

Вклад авторов в публикацию. Концепция исследования, написание рукописи – ШСВ; анализ данных литературы и экспериментальных данных, работа со списком литературы и рисунками – МГМ, БДП; проведение исследований методом сканирующей электронной микроскопии – ЭПЯ.

Ссылка для цитирования: Шилова С.В., Миргалеев Г.М., Бызов Д.П., Эндерс П.Я. Наночастицы бычьего сывороточного альбумина в качестве систем доставки дексаметазона натрия фосфата. *Коллоидный журнал / Colloid Journal*. 2026. Т. 88. № 6. С. 936–954.
https://doi.org/

© Шилова С.В., Миргалеев Г.М., Бызов Д.П., Эндерс П.Я., 2026

КОЛЛОИДНЫЙ ЖУРНАЛ / COLLOID JOURNAL, 2026, vol. 88, no. 6, pp. 936–954

DOI:

Bovine serum albumin nanoparticles as transport systems for dexamethasone sodium phosphate

S.V. Shilova*, G.M. Mirgaleev, D.P. Byzov, P.Ya. Enders

Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation
**E-mail: s_shilova74@mail.ru*

Abstract. Nanoparticles of bovine serum albumin complexes with dexamethasone sodium phosphate, cross-linked with glutaraldehyde, were obtained and characterized as models of a glucocorticosteroid delivery system with an encapsulation efficiency of 57±1% and prolonged release. The size of nanoparticles was 70–100 nm, zeta potential was −15.5±0.12 mV, respectively. A set of methods was used to study the intermolecular interaction of dexamethasone with albumin in solutions and as part of nanoparticles. The protein fluorescence quenching constants, binding constants, the number of binding sites for the albumin–dexamethasone system at different temperatures in the range of 288–308 K, and the compositions of the formed complexes in media with different pH were determined. It was shown that albumin fluorescence quenching in the presence of dexamethasone is due to the static quenching mechanism and binding occurs at a single binding site. The values of the thermodynamic parameters of dexamethasone complexation with albumin (ΔH = −46.33 kJ/mol, ΔS = −70.38 J/mol·K, ΔG = −25.36 kJ/mol (298 K)) indicate that van der Waals interactions and hydrogen bonds play the main role in dexamethasone binding to albumin under physiological conditions. The kinetic data of dexamethasone release from albumin nanoparticles under *in vitro* conditions are best described by the Korsmeyer–Peppas mathematical model.

Keywords: dexamethasone sodium phosphate, bovine serum albumin, nanoparticles, complexation, fluorescence quenching, binding constant, drug delivery systems, release

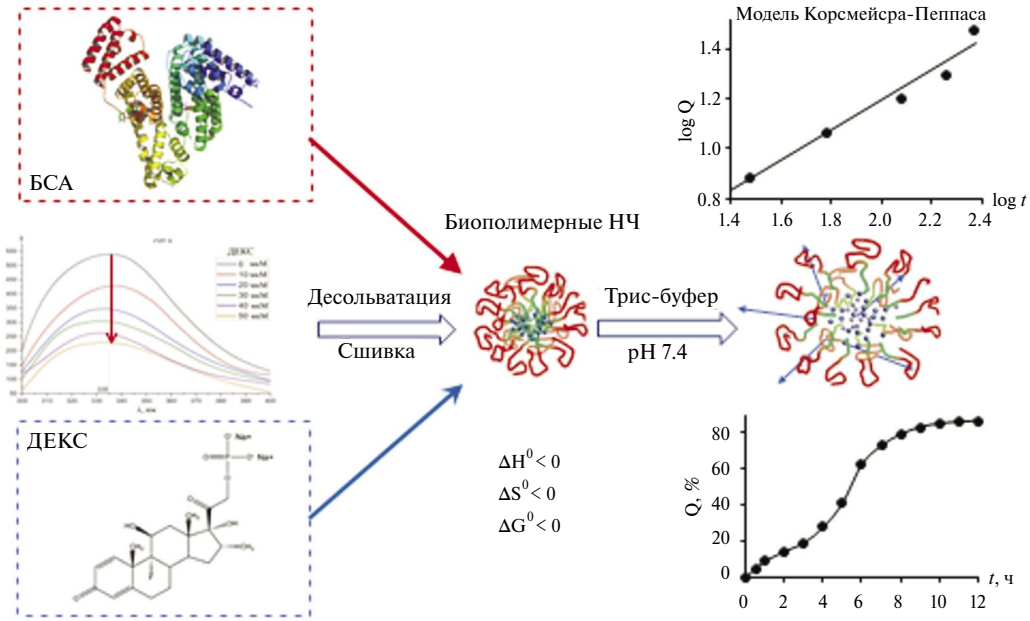
Funding. This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under the state assignment (No. 075-00021-26-00) dated January 12, 2026.

Conflict of interest. The authors of this article declare that they have no conflict of interest.

Authors' contributions. The concept of the study, writing the manuscript – ShSV; analysis of literature and experimental data, work with the list of references and figures – MGM, BDP; conducting research using scanning electron microscopy – EPYa.

For Citation: Shilova S.V., Mirgaleev G.M., Byzov D.P., Enders P.Ya. Bovine Serum Albumin Nanoparticles as Transport Systems for Dexamethasone Sodium Phosphate. *Kolloidnyj zhurnal / Colloid Journal*. 2026;88(6):936–954. (In Russ.) https://doi.org/

© Shilova S.V., Mirgaleev G.M., Byzov D.P., Enders P.Ya., 2026



ВВЕДЕНИЕ

Разработка эффективных систем адресной доставки лекарственных веществ остается одной из наиболее актуальных задач современной фармацевтической науки и биомедицины. Реализация принципов таргетной доставки позволяет оптимизировать дозировку лекарственных препаратов при сохранении локальной терапевтической эффективности, что особенно актуально для токсичных препаратов, применяемых в химиотерапии, антибиотиков, мощных иммуносупрессоров и других сильнодействующих лекарственных средств [1–5].

Важными критериями успешной разработки таких систем доставки являются обеспечение надежной защиты молекул биологически активных соединений от преждевременной деградации в физиологических средах, а также контролируемое (пролонгированное) высвобождение. В качестве носителей лекарственных веществ широко используются разнообразные наноматериалы, такие как полимеры, дендримеры, жидкие кристаллы, металлические и неметаллические наночастицы и др. [6–8]. Нанометровый размер частиц, помимо возможности контроля скорости высвобождения лекарственного вещества, позволяет легко проникать им из кровеносных сосудов в злокачественные или поврежденные ткани, благодаря более проницаемой сосудистой сети и нарушенному лимфатическому клиренсу таких тканей, по сравнению с нормальной тканью [9–11].

Среди многочисленных наноразмерных носителей особое внимание исследователей привлекают наночастицы на основе белков, в частности человеческого и бычьего сывороточных альбуминов (БСА), благодаря их биосовместимости, биодеградируемости, отсутствию токсичности и доступности [12, 13]. Сывороточный альбумин является основным транспортным белком плазмы крови, обеспечивающим перенос эндогенных и экзогенных биологически активных соединений, в том числе жирных кислот, гормонов и лекарственных препаратов, что делает его естественным прототипом для создания систем адресной доставки лекарственных веществ [14, 15]. Особо следует отметить, что альбумины являются природными флуорофорами, флуоресценция которых обусловлена наличием в полипептидной цепи ароматических аминокислотных остатков: триптофана (Trp), тирозина (Tyr) и фенилаланина (Phe). При этом интенсивность и положение полосы испускания белков очень чувствительны к изменениям конформации и полярности микроокружения их молекул [16–18].

Дексаметазон – это синтетический фторированный глюкокортикостероид с высокой противовоспалительной и иммуносупрессивной активностью, который на протяжении десятилетий остается основой терапии широкого спектра острых и хронических воспалительных патологий. Препарат используется при лечении ревматоидного артрита, бронхиальной астмы, аутоиммунных заболеваний, а также проявил уникальную эффективность в терапии тяжелых форм COVID-19 [19, 20]. Дексаметазон проявляет в 30 раз более сильный противовоспалительный эффект по сравнению с гидрокортизоном – эндогенным глюкокортикостероидом, вырабатываемым надпочечниками человека. Механизм действия дексаметазона заключается в том, что он ингибирует транскрипцию противовоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-1β, IL-6), подавляет синтез циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) и индуцируемой NO-синтазы, снижает миграцию нейтрофилов в очаг воспаления и тормозит активацию Т-лимфоцитов [21, 22].

Однако системное и длительное воздействие свободного дексаметазона сопряжено с рядом серьезных побочных эффектов, включая остеопороз, гипергликемию, подавление функции надпочечников и метаболические нарушения, что обусловлено его неизбирательным распределением в организме и воздействием на здоровые ткани [21]. В связи с этим инкапсулирование дексаметазона в наноразмерные носители, обеспечивающие контролируемое высвобождение, представляется перспективной стратегией повышения терапевтической эффективности при одновременном снижении его общесистемного негативного воздействия на организм человека.

Использование БСА в качестве матрицы для получения наночастиц с дексаметазоном имеет несколько преимуществ – естественное сродство альбумина к глюкокортикоидам обеспечивает высокую загрузку препарата, а белковая оболочка способствует пролонгированной циркуляции в кровотоке и снижению иммуногенности [23, 24]. Следует отметить, что альбумин при этом выполняет двойную функцию – защищает лабильные лекарственные вещества от снижения биодоступности в биологических жидкостях за счет создания полимерной оболочки, а также выступает в качестве комплексообразователя.

В настоящее время исследования в области получения систем доставки дексаметазона представлены отдельными публикациями, которые направлены на получение и характеризацию полимерно-лекарственных конъюгатов на основе сополимеров *N*-2-(гидроксипропил)метакриламида и липосом, нагруженных дексаметазоном [25, 26], и не рассматривают вопросы комплексообразования полимер–лекарственное вещество. Исследования взаимодействия дексаметазона с БСА и человеческим сывороточным альбумином ограничены работами, посвященными их комплексообразованию в сильно разбавленных растворах при pH 7.4, и не затрагивают данные аспекты взаимодействий в составе наноносителей и в средах различной кислотности [27–29]. Кроме того, в проведенных исследованиях в качестве модельного глюкокортикостероида чаще всего выступала базовая молекула дексаметазона. Вместе с тем, дексаметазон натрия фосфат (ДЕКС, рис. 1) в физиологических условиях существует в виде дианиона, что существенно повышает растворимость препарата в воде, обеспечивает возможность его комплексообразования с БСА, парентеральный способ введения и, поэтому, делает его более подходящим модельным лекарственным веществом по сравнению с исходной молекулой дексаметазона.

Связывание ДЕКС с белками плазмы крови имеет большое значение, поскольку влияет на его фармакокинетические свойства, а также может вызывать интерференцию со связыванием других эндогенных и/или экзогенных лигандов в результате перекрытия сайтов связывания и конформационных изменений молекул белка. Поэтому детальное изучение взаимодействия физиологически важного белка БСА с ДЕКС в различных средах имеет большое значение для разработки его полимерных носителей с регулируемыми коллоидно-химическими характеристиками, высокой эффективностью инкапсулирования и полного понимания фармакокинетического поведения данного лекарственного препарата в физиологических средах. Большим преимуществом использования белка БСА в качестве модельной полимерной матрицы является зависимость ионного состояния макромолекул от величины pH, что позволяет регулировать интенсивность его комплексообразования с ДЕКС и другими низкомолекулярными лекарственными веществами путем варьирования природы среды. Поэтому целью настоящей работы являлось комплексное исследование межмолекулярных взаимодействий ДЕКС с БСА как в растворах с различным pH, так и в составе наночастиц БСА, а также установление взаимосвязи между закономерностями формирования комплексов БСА–ДЕКС как начальной стадии получения наноносителей глюкокортикостероида с их коллоидно-химическими характеристиками, эффективностью инкапсулирования и характером высвобождения в условиях, приближенных к физиологическим. В соответствии с целью работы для достижения задач исследования был подобран комплекс физико-химических и оптических методов исследования, позволяющий характеризовать наночастицы и изучать межмолекулярные взаимодействия ДЕКС с БСА как в растворах, так и в составе полимерных наноносителей.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали образец БСА с молекулярной массой 66 кДа (лиофилизированный порошок, очищен методом теплового шока, чистота ⩾98%, каталожный номер A7030, Sigma Aldrich). Модельным

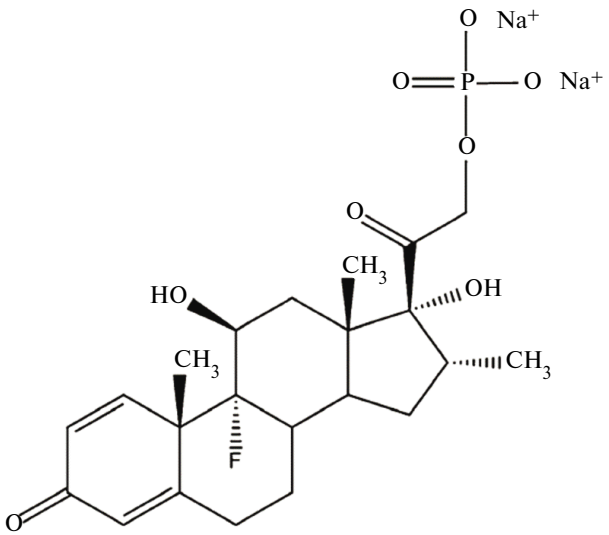


Рис. 1. Химическая структура дексаметазона натрия фосфата

Fig. 1. Chemical structure of dexamethasone sodium phosphate

глюкокортикостероидом выступал лекарственный препарат «Дексаметазон» в виде раствора для инъекций с концентрацией 4 мг/мл (Shreya Life Sciences, India), содержащий в 1 мл в качестве активного вещества дексаметазон натрия фосфат (ДЕКС, 4 мг) и в качестве вспомогательных веществ – метилпарабен (1.5 мг), пропилпарабен (0.2 мг), натрия метабисульфит (2.0 мг), динатрия эдетат (1.0 мг), натрия гидроксид до pH 7.0–8.5, вода для инъекций до 1 мл.

Наночастицы комплексов БСА с ДЕКС (БСА@ДЕКС) получали методом десольватации [30] с последующей сшивкой. Предварительно изучали влияние концентраций реагентов, порядка их ввода, скорости добавления десольватирующего агента (этанола), концентрации сшивающего агента (глутарового альдегида) на размер, дисперсность и заряд наночастиц комплексов БСА с ДЕКС. Готовили водные растворы БСА с концентрацией 10 мг/мл и ДЕКС с концентрацией 0.5 мг/мл (путем разбавления исходного раствора с концентрацией 4 мг/мл). Исходная концентрация ДЕКС подбиралась с учетом возможностей последующего определения содержания лекарственного вещества спектрофотометрическим методом для расчета эффективности инкапсулирования и проведения кинетических исследований высвобождения ДЕКС из частиц БСА@ДЕКС, а также других спектральных исследований. 2.5 мл раствора БСА смешивали с 2.5 мл раствора ДЕКС и перемешивали на магнитной мешалке (500 об/мин) в течение 10 мин. К смеси БСА с ДЕКС добавляли капельно с помощью шприцевого насоса «Shenchen ISPLab01» (Shenzhen Everbest Machinery Industry Co., Ltd.) со скоростью подачи 0.5 мл/мин (с целью избежания образования агрегатов молекул белка) 10 мл этанола при постоянном перемешивании на магнитной мешалке (1000 об/мин). Процесс сопровождался появлением опалесценции, свидетельствующей об образовании наночастиц. В качестве сшивающего агента использовали 2% раствор глутарового альдегида. К 15 мл десольватированного БСА с ДЕКС добавляли 0.25 мл раствора глутарового альдегида. Смесь перемешивали на магнитной мешалке (1000 об/мин) в течение 8 ч при комнатной температуре. Полученную коллоидную дисперсию центрифугировали при 30000 об/мин в течение 20 мин. Осадок промывали 3 раза для удаления остатков реагентов. Выход наночастиц составил порядка 80%, емкость загрузки наночастиц лекарственным препаратом – 3.44%. Надосадочную жидкость удаляли, осажденные частицы БСА@ДЕКС диспергировали в 2 мл трис-солевого буфера (pH 7.4).

Удельную электропроводность смешанных водных растворов БСА с ДЕКС измеряли на кондуктометре «SevenCompact S230» (Mettler Toledo) с диапазоном измерений от 10^{-3} мкСм/см до 10^{3} мСм/см при комнатной температуре. С целью учета разницы в молекулярной массе белка и ДЕКС и, соответственно, количества функциональных групп в повторяющихся звеньях БСА, участвующих в комплексообразовании с ДЕКС, концентрацию раствора полимера выражали в осново-моль/л как отношение количества молей структурного элемента цепи (аминокислотных остатков) к объему раствора. Смеси получали путем смешения исходных растворов БСА (10^{-3} осново-моль/л) и ДЕКС (10^{-3} моль/л). Соотношение объемов БСА и ДЕКС в смеси варьировали от 9:1 до 1:9. Полученные смеси компонентов тщательно перемешивали на магнитной мешалке (500 об/мин), а затем оставляли на сутки при комнатной температуре до установления равновесия. Состав смесей определяли как отношение концентраций БСА и ДЕКС – [БСА]:[ДЕКС]. В качестве растворителей использовали водный раствор 10^{-2} моль/л HCl (pH 2.0), водный раствор 3.2×10^{-6} моль/л HCl (pH 5.5), трис-солевой буфер (pH 7.4). Данные растворители были выбраны как модельные среды для изучения влияния ионного состояния БСА на комплексообразование с ДЕКС. Для учета влияния состава и ионной силы растворителей фиксировали их удельную электропроводность χ_0 и вычитали ее из значений электропроводности смесей БСА с ДЕКС. С целью определения влияния вспомогательных компонентов в коммерческом образце ДЕКС (натрия метабисульфита, динатрия эдетата) определяли проводимость их растворов с учетом содержания в растворе для инъекций «Дексаметазон», а также соотношения БСА и ДЕКС в исследуемых смесях и далее учитывали при определении электропроводности растворов белка с ДЕКС. Относительная погрешность кондуктометрических измерений составляла ±0.5%. pH растворов контролировали с помощью pH-метра «pH-410» (Аквилон).

Спектрофотометрические измерения проводили на двухлучевом спектрофотометре «Lambda 35» (Perkin Elmer Instrumental) в кварцевых кюветах объемом 1 $см^3$. Кювету сравнения заполняли дистиллированной водой. Спектры поглощения растворов ДЕКС в отсутствии и присутствии БСА регистрировали в интервале длин волн 200–350 нм при температуре 298 K. Обработку спектров проводили при помощи программного обеспечения UV WinLab.

Состав комплексов альбумина с дексаметазоном (БСА–ДЕКС) определяли методом изомолярных серий Остромысленского–Жоба, который применяется с этой целью при образовании в растворе одного комплекса определенного состава без его выделения в кристаллическом виде [31]. Метод основан на измерении оптической плотности A изомолярной серии растворов и построении кривой изомолярной серии в координатах «оптическая плотность ΔA–состав». ΔA представляет собой разницу суммарной оптической плотности A всех компонентов раствора и оптической плотности раствора одного из компонентов при концентрациях, равных концентрациям в изомолярной серии. Далее определяется отношение изомолярных концентраций реагирующих веществ, отвечающее максимальному выходу образующегося комплекса (max ΔA). Для получения изомолярных смесей готовили растворы ДЕКС и БСА с исходными концентрациями 10^{-4} моль/л. Растворы лекарственного вещества и полимера смешивали в антибатных соотношениях от 1:9 до 9:1, сохраняя общий объем раствора 10 мл и концентрацию

изомолярной серии $c_{ДЕКС}+c_{БСА} = const = 10^{-4}$ моль/л. Концентрацию альбумина, как и при проведении кондуктометрических измерений, выражали в осново-моль/л. Измерение оптической плотности растворов проводили при значениях pH 2.0 и 5.5.

Спектры флуоресценции растворов БСА получали на сканирующем спектрофлуориметре «CaryEclipse» (Varian) для щелей возбуждения и эмиссии 10 нм. При проведении измерений концентрацию БСА поддерживали в растворах постоянной (5 мкМ), а концентрацию ДЕКС варьировали в интервале 10–50 мкМ. Регистрацию спектров флуоресценции проводили при температурах 288, 298 и 308 K в интервале длин волн 300–500 нм при длине волны возбуждения 280 нм. При исследовании тушения флуоресценции БСА в присутствии ДЕКС проводили процедуру коррекции интенсивности флуоресценции на первичный и вторичный эффекты внутреннего фильтра.

Для коррекции эффекта внутреннего фильтра применяли модель Лаковича [32], согласно которой интенсивность флуоресценции после коррекции рассчитывали по формуле:

$$F_{corr} = F_{obs}10^{\frac{(A_{ex}+A_{em})}{2}}, \quad (1)$$

где F_{obs} – экспериментально измеренная интенсивность флуоресценции до коррекции на эффект внутреннего фильтра; A_{ex} и A_{em} – поглощение исследуемого образца при длине волне возбуждения ($\lambda_{ex} = 280$ нм) и излучения ($\lambda_{em} = 335$ нм) соответственно.

Средний размер частиц БСА@ДЕКС и ζ-потенциал их поверхности определяли методом динамического рассеяния света (ДРС) на анализаторе размера частиц серии «Zetasizer Nano-ZS» (Malvern Instruments Ltd.), оснащенном 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 Millipore с мембраной Durapore PVDF и диаметром пор 0.45 мкм. Для каждого образца проводили 3 серии экспериментов по 10 измерений в каждой серии. При выполнении измерений фиксировали индекс полидисперсности (PDI) для образцов. Ошибки измерений размера и ζ-потенциала частиц составляли ±2% и ±0.12 мВ соответственно.

Морфологический и элементный анализы полученных 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). Напыление проводящего золотого слоя на поверхность образцов осуществлялось на установке Vac Coat DSCT.

ИК-спектры исходных образцов БСА, ДЕКС и частиц БСА@ДЕКС записывали на Фурье-спектрометре «ALPHA-T S/N 102706» (Bruker) в спектральном диапазоне 4000–400 $см^{-1}$ с разрешением 4 $см^{-1}$. ДЕКС выделяли из раствора для инъекций упариванием растворителя и высушивали. Отделенные от супернатанта частицы БСА@ДЕКС высушивали. Все образцы измельчали до тонких порошков, смешивали с KBr и спрессовывали в тонкие пластины.

Эффективность инкапсулирования ДЕКС в наночастицы (%) оценивали по разнице между количеством лекарственного вещества, взятого для инкапсулирования, и содержанием ДЕКС в супернатанте, полученном при отделении полученных наночастиц. Концентрацию ДЕКС определяли спектроскопически на основе зависимости оптической плотности от концентрации ДЕКС в растворе при длине волны 250 нм, соответствующей максимуму его поглощения. Спектры растворов ДЕКС снимали в присутствии БСА (25 мкг/мл). В предварительных исследованиях было установлено, что наличие остаточных реагентов в супернантанте не оказывает влияние на оптическую плотность раствора ДЕКС при λ = 250 нм. Зависимость оптической плотности раствора от концентрации ДЕКС подчиняется закону Бугера–Ламберта–Бера в интервале концентраций 1.5–40 мкг/мл (рис. П1). По величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту графика линейной зависимости (калибровочной кривой, $R^2 = 0.994$) рассчитывали предел обнаружения (ПО) ДЕКС по уравнению:

$$ПО = 3.3 \cdot \frac{S}{b},$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала; b – коэффициент чувствительности, представляющий собой тангенс угла наклона калибровочной кривой.

Значение ПО ДЕКС в присутствии БСА, рассчитанное с использованием данного подхода, составило 0.15 мкг/мл.

Кинетику высвобождения ДЕКС из частиц изучали в условиях *in vitro* при температуре 37°C. Образцы частиц БСА@ДЕКС весом 100 мг, содержащие 3.44% (по массе) ДЕКС, помещали в термостатируемую ячейку объемом 10 мл с приемной средой, имитирующей физиологическую жидкость, и проводили постоянное перемешивание суспензии частиц на магнитной мешалке. В качестве приемной среды применяли трис-солевой буфер (трис – 10 ммоль/л; NaCl – 150 ммоль/л (для поддержания физиологической ионной силы); $HCl_{конц}$ – добавлялась по каплям для достижения значения pH 7.4; вода дистиллированная – до 1 л). Через определенные промежутки времени (0.5; 1; 2; 3; 4; 5; 6 и так далее через час до 12 ч) отделяли частицы

БСА@ДЕКС от приемной среды центрифугированием в течение 3 мин со скоростью 12000 об/мин. Затем отбирали пробу объемом 1 см^3 и переносили в кювету для записи спектров поглощения в интервале длин волн 200–350 нм. После проведения измерения пробу сразу возвращали обратно в ячейку с исследуемой системой. Для каждого промежутка времени проводили 3 серии независимых экспериментов. Выход ДЕКС из полимерных частиц определяли по отношению количества препарата m_t, высвободившегося из частиц БСА к моменту времени t, и равновесного количества ДЕКС m_∞:

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

Количество ДЕКС m_t, высвободившегося из частиц БСА@ДЕКС к моменту времени t, также как и при определении эффективности инкапсулирования лекарственного вещества, рассчитывали по величине оптической плотности при $\lambda = 250$ нм с использованием калибровочной зависимости (рис. П1). За равновесное количество ДЕКС m_∞ принимали максимальное значение концентрации ДЕКС в приемной среде, характеризующееся выходом кинетической кривой на плато (10 ч, выход ДЕКС 85%).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Получение и характеризация частиц БСА@ДЕКС

Основными методами синтеза наночастиц белков являются методы эмульгирования и десольватации, которые позволяют получить сферические коллоидные структуры размером от 85 до 300 нм [30, 33–35]. Метод эмульгирования требует использования органических растворителей для удаления масляной фазы, что не позволяет затем избежать остатков поверхностно-активного вещества на поверхности наночастиц [33]. Десольватация БСА органическими растворителями с последующим сшиванием глутаровым альдегидом является широко используемым методом получения белковых наночастиц [30]. К преимуществам данного метода можно отнести высокий выход наночастиц, простоту, широкие возможности для направленного регулирования процесса синтеза за счет вариации условий. На размер белковых наночастиц, образующихся в процессе десольватации, оказывают влияние тип и концентрация десольвирующего и сшивающего агентов, pH, температура, количество доступных аминогрупп белка и т. д. [30, 35].

В данной работе при получении наноносителей ДЕКС использовали следующий подход. Первоначально проводили самосборку БСА с ДЕКС в растворе, что приводило к формированию комплексов БСА–ДЕКС за счет сил межмолекулярного взаимодействия. Затем проводили десольватацию водного раствора комплексов этанолом и завершали синтез наночастиц БСА@ДЕКС путем сшивки агрегированных белковых молекул глутаровым альдегидом. Преимуществом такого подхода являлось предварительное связывание глюкокортикостероида с БСА, которое обеспечивало высокую эффективность инкапсулирования ДЕКС и возможность последующего пролонгированного высвобождения из наноносителей. В результате были получены частицы комплексов БСА@ДЕКС с эффективностью инкапсулирования лекарственного вещества 57±1%. Средний гидродинамический размер исходных частиц БСА без ДЕКС, определенный методом ДРС, составлял 72.0±1.5 нм. ζ-потенциал наночастиц альбумина в растворе трис-солевого буфера был равен −17.0±0.12 мВ (табл. 1), т. е. суммарный поверхностный заряд наночастиц являлся отрицательным, что соответствует ионному состоянию молекул белка при pH 7.4 (изоэлектрическая точка pI 4.9). Размер наночастиц БСА@ДЕКС был равен 74.1±1.5, ζ-потенциал −15.5±0.12 мВ соответственно, что свидетельствует о незначительном изменении размера наночастиц БСА в присутствии ДЕКС и сохранении их отрицательного заряда. По значению PDI частиц БСА@ДЕКС (PDI<0.1, табл. 1) и виду гистограммы их распределения по размерам (рис. 2а) можно сделать вывод об узком распределении полученных наночастиц комплексов БСА@ДЕКС по размерам. Исследование морфологии поверхности и размера наночастиц с помощью СЭМ показало, что на поверхности алюминиевой фольги осадились частицы с размером от 70 до 100 нм (рис. 2б). Согласно исследованиям [30, 33, 35] при медленном постепенном добавлении плохого растворителя (этанола) к водному раствору альбумина наблюдается снижение склонности белковых молекул к агрегации и образование наночастиц сферической формы. СЭМ-изображение наночастиц БСА@ДЕКС (рис. 2в) подтверждает их сферическую форму. На EDX-спектрах частиц БСА наблюдаются сигналы в области серы и азота (рис. 2г). В состав частиц БСА@ДЕКС входят натрий, фосфор, сера (рис. 2д). Наличие сигналов натрия и фосфора в EDX-спектрах полученных коллоидных структур согласуется с присутствием ДЕКС в составе наночастиц и подтверждает его инкапсулирование.

Таблица 1. Средний размер и ζ-потенциал частиц БСА и частиц БСА@ДЕКС
Table 1. Average size and zeta potential of BSA and BSA@DEX particles

Состав частиц	Средний размер частиц d, нм	ζ-потенциал, мВ	PDI
БСА	72.0 ± 1.4	−17.0 ± 0.12	0.09
БСА@ДЕКС	74.1 ± 1.5	−15.5 ± 0.12	0.08

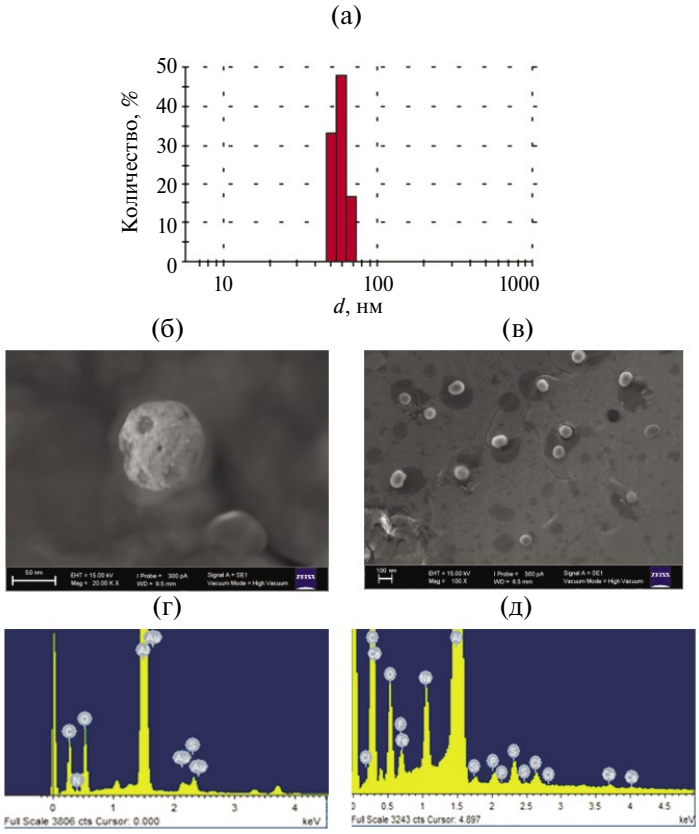


Рис. 2. Гистограмма распределения частиц БСА@ДЕКС по размерам, полученная методом ДРС (а); репрезентативные СЭМ-изображения частиц БСА@ДЕКС (б, в); EDX-спектры частиц БСА (г) и БСА@ДЕКС (д)

Fig. 2. Histogram of BSA@DEX particle size distribution obtained by DLS method (a); representative SEM images of BSA@DEX particles (б, в); EDX spectra of BSA (г) and BSA@DEX (д) particles

Исследование взаимодействия ДЕКС с БСА в растворах и в составе наночастиц

Как отмечалось выше, закономерности взаимодействия между компонентами системы доставки оказывают влияние на эффективность инкапсулирования лекарственного вещества и профили высвобождения в различных средах. Поэтому далее было изучено комплексообразование БСА с ДЕКС в растворах с различной кислотностью и в составе полученных наночастиц БСА@ДЕКС, а также исследована кинетика высвобождения ДЕКС из наночастиц в среду, имитирующую физиологическую жидкость при парентеральном введении.

Взаимодействие ДЕКС с БСА в растворах по данным УФ-спектроскопии и кондуктометрии

Связывание лекарственных веществ биомолекулами может осуществляться за счет водородных связей, сил Ван-дер-Ваальса, электростатических и гидрофобных взаимодействий [36, 37]. Для изучения межмолекулярных взаимодействий в исследуемой системе были получены спектры поглощения водных растворов ДЕКС, БСА и суспензии наночастиц БСА@ДЕКС (рис. 3а). ДЕКС демонстрирует характерный максимум поглощения при 250 нм. Вид спектра поглощения раствора ДЕКС и положение максимума поглощения согласуются с результатами исследования [38], направленного на анализ возможности применения и валидацию спектрофотометрического метода количественного определения ДЕКС в различных субстанциях и фармацевтических препаратах. В работе сделан вывод о возможности использования данного метода анализа ДЕКС как в чистом виде, так и в фармацевтических инъекционных формах. Исходя из вида спектра поглощения раствора ДЕКС (рис. 3а) и результатов работы [38], можно сделать вывод о незначительном влиянии вспомогательных компонентов раствора для инъекций на спектральные характеристики исследуемого глюкокортикостероида. Поглощение наночастиц БСА@ДЕКС увеличивается по сравнению с раствором индивидуального БСА. Положение максимума поглощения частиц БСА@ДЕКС достаточно сильно смещается в сторону меньших длин волн по сравнению со свободным ДЕКС. Наблюдаемые изменения в спектрах поглощения указывают на комплексообразование между ДЕКС и БСА.

Для более детального исследования комплексообразования ДЕКС с БСА и определения состава комплексов использовали метод изомолярных серий. На рис. 3б

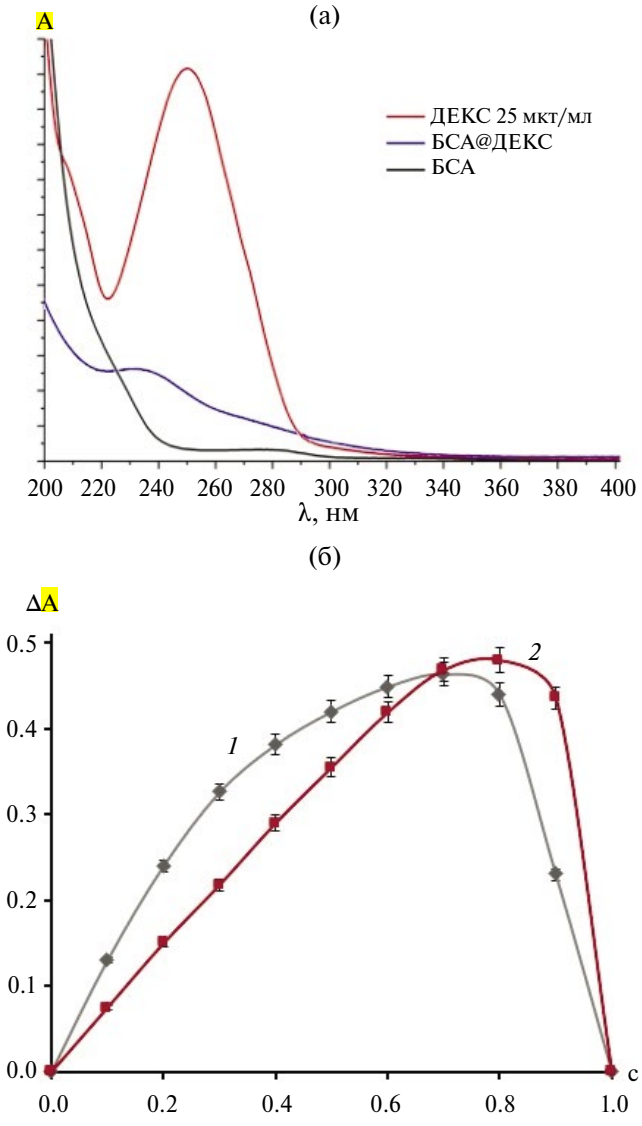


Рис. 3. Спектры поглощения ДЕКС, БСА и частиц БСА@ДЕКС в трис-буфере (pH 7.4; [ДЕКС] = 25 мкг/мл; [БСА] = 25 мкг/мл; [БСА@ДЕКС] = 1 мг/мл) (а); изомолярные кривые системы БСА–ДЕКС ($\Delta A = A - A_0$ (A и A_0 – оптические плотности растворов ДЕКС в присутствии и отсутствии БСА) при pH 2.0 (*1*) и pH 5.5 (*2*) (б); $c = \frac{[\text{ДЕКС}]}{[\text{ДЕКС}] + [\text{БСА}]}$; λ = 250 нм)

Fig. 3. Absorption spectra of DEX, BSA and BSA@DEX particles in Tris buffer (pH 7.4; [DEX] = 25 μg/mL; [BSA] = 25 μg/mL; [BSA@DEX] = 1 mg/mL) (a); isomolar curves of the BSA–DEX system ($\Delta A = A - A_0$ (A and A_0 are the optical densities of solutions of DEX with added BSA and without it) at pH 2.0 (*1*) and pH 5.5 (*2*) (б); $c = \frac{[\text{ДЕКС}]}{[\text{ДЕКС}] + [\text{БСА}]}$; λ = 250 nm)

приведены изомолярные кривые, представляющие собой зависимости отклонения оптической плотности ΔA от состава изомолярной смеси. Рисунок демонстрирует изомолярные кривые системы БСА–ДЕКС для серий растворов с кислотностью среды pH 2.0 и 5.5, для которых проведенные эксперименты показали наибольшие отклонения суммарной оптической плотности ΔA компонентов раствора и оптической плотностью раствора ДЕКС. По форме кривой изомолярной серии можно сделать вывод об устойчивости образующегося комплекса и его спектрофотометрических характеристиках. Изомолярные кривые для системы БСА–ДЕКС в растворах с pH 2.0 и 5.5 имеют достаточно выраженный максимум, что указывает на образование одного комплекса. В растворе с pH 2.0 изомолярная кривая демонстрирует более «размытый» максимум, что может свидетельствовать о формировании в системе менее устойчивого комплекса по сравнению с раствором с pH 5.5. Зависимость имеет более крутой наклон в области бóльших концентраций ДЕКС для обеих сред. Стехиометрическое соотношение компонентов в комплексе БСА–ДЕКС (состав комплекса) определяли как проекцию точки максимума поглощения ΔA на ось абсцисс. Состав комплексов при pH 2.0 соответствует молярному отношению [ДЕКС]:[БСА] = 2.0:1.0, при pH 5.5 – 4.0:1.0. Полученный состав комплексов можно интерпретировать как возможное многосайтовое связывание БСА с ДЕКС при данных pH, при котором несколько молекул низкомолекулярного лекарственного вещества взаимодействует с аминокислотными остатками в полипептидной цепи.

С целью определения вклада электростатических взаимодействий в комплексообразование БСА с ДЕКС были получены концентрационные зависимости удельной электропроводности смесей БСА с ДЕКС в средах с различным pH (рис. 4). ДЕКС является солевой формой дексаметазона и в растворах существует в виде дианиона. Белки являются полиамфолитами, ионное состояние которых, и, соответственно, способность взаимодействовать с другими молекулами, напрямую зависит от кислотности среды. Изоэлектрическая точка p*I* БСА, как отмечалось выше, составляет 4.9, поэтому при pH 2.0 белок заряжен положительно, при pH 5.5 макромолекула альбумина несет очень слабый отрицательный заряд, а в физиологических условиях (pH 7.4) заряжен отрицательно. Ход изотерм электропроводимости отражает характер взаимодействия функциональных групп БСА и ДЕКС. В кислой среде (кривая *1*) наблюдается самое значительное уменьшение электропроводности растворов при смешении компонентов, что свидетельствует о вкладе ионных взаимодействий в связывание. При pH 5.5 (кривая *2*) отмечается небольшой рост электропроводности, что обусловлено, по-видимому, вкладом анионов ДЕКС в общую проводимость системы. В среде, близкой к физиологической (кривая *3*), функциональные группы и БСА, и ДЕКС заряжены отрицательно, что делает невозможным их связывание за счет электростатических сил, и выражается в постоянстве значений электропроводности смешанных растворов БСА–ДЕКС при всех изученных составах.

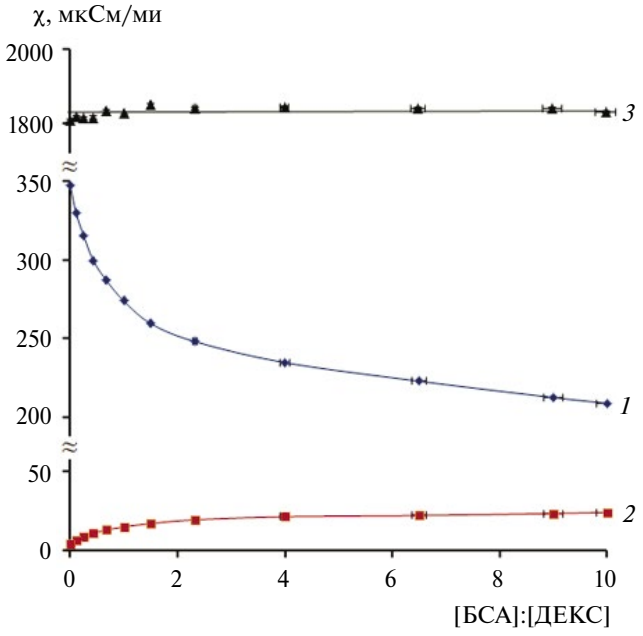


Рис. 4. Зависимость удельной электропроводности смесей БСА и ДЕКС от соотношения [БСА]:[ДЕКС] при pH 2.0 (*1*), 5.5 (*2*) и 7.4 (*3*)

Fig. 4. Dependence of the specific conductivity of the BSA–DEX mixtures on the [BSA]:[DEX] ratio at pH 2.0 (*1*), 5.5 (*2*), and 7.4 (*3*)

Анализ тушения флуоресценции БСА дексаметазоном натрия фосфатом

Тушение флуоресценции вызывается различными взаимодействиями с молекулами тушителя, к которым относятся молекулярные перегруппировки, перенос энергии, образование комплексов в основном состоянии, динамическое тушение. БСА имеет два остатка триптофана, Trp-212 и Trp-134, которые локализируются в субдоменах IIA и IA соответственно, и обусловливают его флуоресценцию [39]. На рис. 5 а показаны спектры флуоресценции БСА в отсутствии и в присутствии ДЕКС. По изменению интенсивности флуоресценции БСА в присутствии лекарственного вещества можно судить об их межмолекулярных взаимодействиях и получить информацию о микроокружении молекул флуорофора. Флуоресценция ДЕКС не наблюдается. Спектры флуоресценции БСА демонстрируют широкую полосу с максимумом при $\lambda = 335$ нм. При введении в раствор БСА фиксированной концентрации растворов DEX различной концентрации отмечается заметное тушение флуоресценции БСА. Кроме того, из рисунка видно, что после добавления ДЕКС с концентрацией 20 мкМ положение максимума на спектрах флуоресценции БСА сместилось с 335 нм в синюю область до 331 нм, из чего можно сделать вывод о том, что флуорофор оказался в более гидрофобной среде после добавления ДЕКС. Согласно литературным данным, это может быть связано с потерей компактной структуры гидрофобного субдомена IIA, в котором находится триптофан [16]. Это согласуется также с изменениями в спектрах поглощения частиц БСА@ДЕКС по сравнению со спектром индивидуального альбумина (рис. 3а). Таким образом, данные по тушению флуоресценции БСА и анализ УФ-спектров частиц позволяют сделать вывод о том, что комплексообразование белка с ДЕКС сопровождается увеличением гидрофобности его молекул и, в итоге, приводит к конформационным изменениям БСА.

Известно, что механизмы тушения флуоресценции можно различить по зависимости тушения от температуры. Повышение температуры приводит к более быстрой диффузии и большему динамическому тушению. Более высокая температура приводит к диссоциации слабосвязанных комплексов и, соответственно, меньшему статическому тушению. Поэтому, с ростом температуры константа тушения увеличивается для динамического тушения и уменьшается в случае статического тушения. Для выявления механизма тушения флуоресценции БСА тушителем ДЕКС были получены зависимости Штерна–Фольмера при различных температурах (288, 298 и 308 K) [40]:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_q t_0 [Q] = 1 + k_{SV} [Q], \qquad (4)$$

где F_0 и F – интенсивность флуоресценции БСА в отсутствии и в присутствии тушителя соответственно; k_q – константа скорости тушения; t_0 – время жизни флуоресценции биополимера без тушителя ($t_0 = 10^{-8}$ с [41]); k_{SV} и $[Q]$ – константа тушения Штерна–Фольмера и концентрация тушителя.

Графики в координатах Штерна–Фольмера для системы БСА–ДЕКС приведены на рис. 5б. Как видно из рисунка, полученные зависимости являются линейными с коэффициентом корреляции (R^2) для всех трех температур более 0.99. Значения k_{SV}, рассчитанные по графикам при разных температурах, представлены в табл. 2. С повышением температуры значения k_{SV} уменьшаются, что указывает на статический механизм тушения за счет образования комплекса ДЕКС с БСА. Для подтверждения механизма тушения флуоресценции БСА при взаимодействии с ДЕКС были рассчитаны значения константы скорости тушения k_q, которую можно выразить из ур. (4):

$$k_q = \frac{k_{SV}}{t_0}. \qquad (5)$$

Константы скорости k_q при температурах 288, 298 и 308 K, приведенные в табл. 2, имеют порядок 10^{12}, что превышают максимальные константы тушения рассеянных столкновений различных тушителей с биополимером (2.0×10^{10} л/(моль·с) [42]). Это доказывает, что тушение флуоресценции белка глюкокортикостероидом инициируется не динамическим, а статическим тушением, возникающим в результате образования комплекса БСА–ДЕКС.

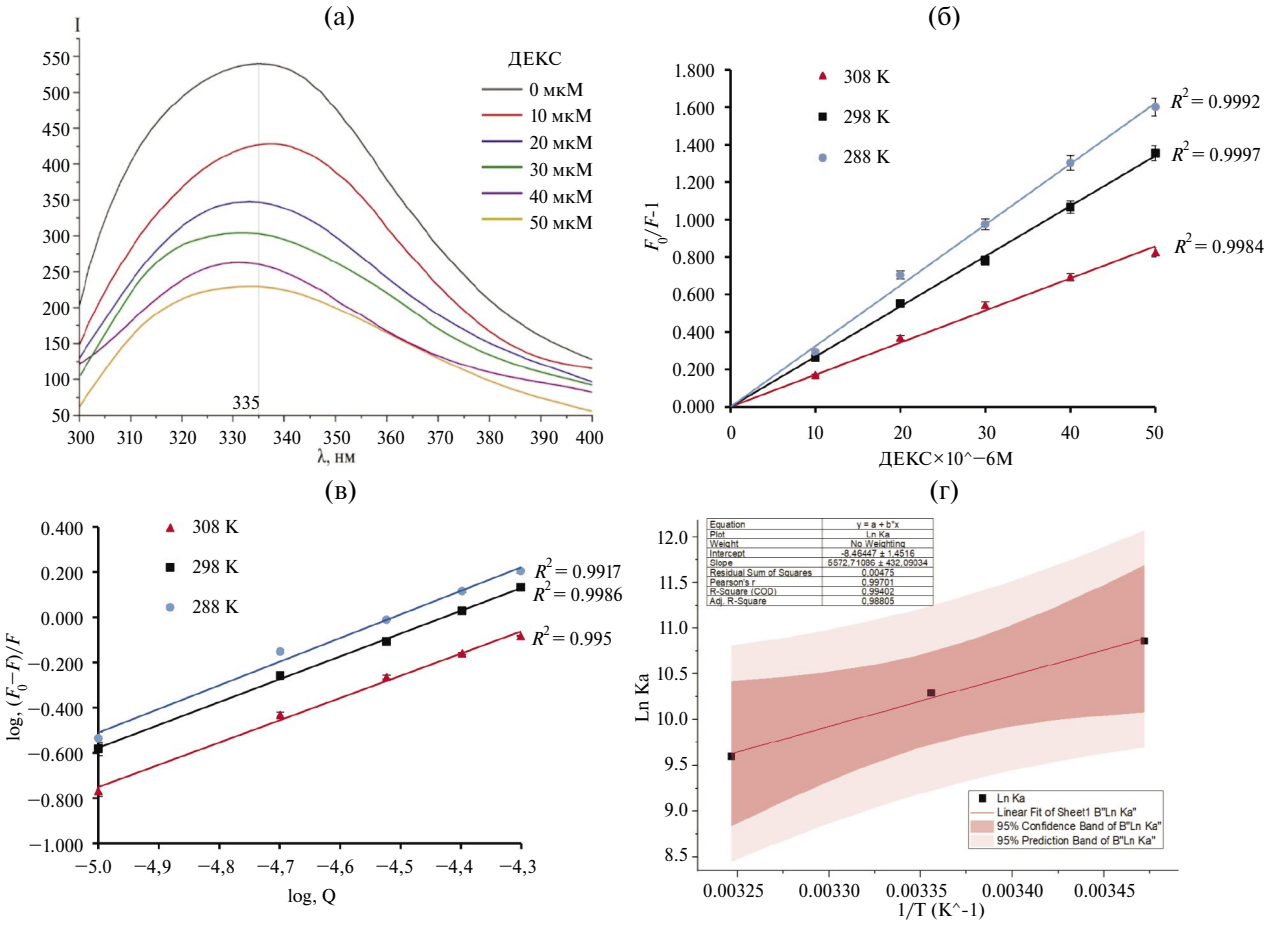


Рис. 5. Спектры флуоресценции БСА в отсутствие и в присутствии ДЕКС в трис-солевом буфере при температуре 298 K после коррекции на эффект внутреннего фильтра (а); график Штерна–Фольмера в зависимости от концентрации ДЕКС ([*Q*]) при 288, 298 и 308 K (б); график зависимости log[$(F_0-F)/F$] от log[*Q*] для тушения БСА дексаметазоном натрия фосфатом при 288, 298 и 308 K (в); график Вант-Гоффа для взаимодействия ДЕКС с БСА при 288, 298 и 308 K (г); λ_{ex} = 280 нм; λ_{em} = 335 нм; [БСА] = 5.0 мкМ

Fig. 5. Fluorescence spectra of BSA in the absence or presence of DEX in Tris buffer at 298 K after correction for the effect of the internal filter (a); the Stern–Volmer plot vs. the concentration of DEX ([*Q*]) at 288, 298 and 308 K (б); the plot of log[$(F_0-F)/F$] vs. log[*Q*] for quenching of DEX to BSA at 288, 298 and 308 K (в); Van't Hoff plot for the interaction of DEX with BSA at 288, 298, and 308 K (г); λ_{ex} = 280 nm; λ_{em} = 335 nm; [BSA] = 5.0 μM

Таблица 2. Параметры тушения и термодинамические параметры для системы БСА–ДЕКС
Table 2. Quenching and thermodynamic parameters of BSA–DEX system

T, K	$k_{SV}\times10^{-4}$, л/моль	$k_q\times10^{-12}$, л/(моль·с)	$K_a\times10^{-4}$, л/моль	*n*	Δ*H*, кДж/моль	Δ*S*, Дж/(моль·K)	Δ*G*, кДж/моль
288	3.24 ± 0.04	3.24 ± 0.04	5.20 ± 0.02	1.04 ± 0.05	−46.33 ± 3.6	−70.38 ± 12	−26.06 ± 7.07
298	2.68 ± 0.02	2.68 ± 0.02	2.95 ± 0.01	1.01 ± 0.02			−25.36 ± 7.19
308	1.17 ± 0.03	1.17 ± 0.03	1.48 ± 0.01	0.98 ± 0.04			−24.65 ± 7.31

Константы связывания и центры связывания ДЕКС на БСА

На молекулах БСА имеется по меньшей мере три специфических сайта связывания лекарственных средств. Эти сайты, обычно называемые сайтами связывания варфарина, ибупрофена и дигоксина, также обозначаются как сайт I, сайт II и сайт III [43]. В работе [21] показано, что DEX связывается с сайтом 7 (DS7) с альбумином сыворотки лошадей, который расположен между субдоменами IIA и IIB согласно

современной нумерации сайтов связывания лекарственных средств [24]. Данный сайт также является сайтом связывания широко используемых нестероидных противовоспалительных препаратов и тестостерона [21], что создает потенциальную проблему конкуренции при связывании ДЕКС с белками. В том случае, когда небольшие молекулы связываются независимо друг от друга с набором эквивалентных сайтов на макромолекуле белка, равновесие между свободными и связанными молекулами можно описать уравнением [37]:

$$\log\left[\frac{(F_0 - F)}{F}\right] = \log K_a + n\log[Q], \qquad (6)$$

где K_a и n – константа связывания и количество сайтов связывания.

Зависимости $\log[(F_0-F)/F]=f(\log[Q])$ являются линейными при разных температурах (рис. 5в). Значение константы связывания K_a имеет важное значение для понимания распределения лекарственного препарата в плазме крови, поскольку слабое связывание может привести к короткому периоду полураспада, а сильное связывание может способствовать снижению концентрации свободного лекарственного средства в плазме. Константу связывания и количество сайтов связывания определяли по точке пересечения линий с осью y и наклону зависимостей (табл. 2). Как видно из таблицы, с повышением температуры в диапазоне 288–308 K значения констант связывания уменьшаются с 5.20×10^4 до 1.48×10^4 л/моль, что связано со снижением стабильности комплексов БСА–ДЕКС. Полученные значения констант связывания и характер зависимости их изменения от температуры согласуются с результатами исследования связывания дексаметазона с БСА [28].

Значение n необходимо для определения количества сайтов связывания и их локализации на БСА для ДЕКС. По данным табл. 2 значения n равны единице, что свидетельствует о наличие одного независимого сайта связывания на БСА для лекарственного средства. По-видимому, ДЕКС связывается с сайтом I в гидрофобной полости, расположенной между субдоменами IIA и IIB рядом с Trp-212, что согласуется с результатами работ по изучению связывания дексаметазона с лошадиным сывороточным альбумином и БСА [21, 28]. Различия в количестве ДЕКС, связываемого БСА, определенное по методам тушения флуоресценции и изомолярных серий, может быть обусловлено отличиями в механизмах межмолекулярных взаимодействий компонентов в кислых средах (pH 2.0 и 5.5) и при pH 7.4 вследствие изменения ионного состояния альбумина.

Термодинамические параметры взаимодействия БСА–ДЕКС

Как отмечалось выше, комплексообразование белков с низкомолекулярными веществами осуществляется посредством различных межмолекулярных взаимодействий. Определение термодинамических параметров комплексообразования (ΔH, ΔS, ΔG) БСА с ДЕКС позволяет выявить характер связывания и природу межмолекулярных сил взаимодействия. С этой целью была получена температурная зависимость константы связывания на основе изучения взаимодействия ДЕКС с БСА при температурах 288, 298 и 308 K. Термодинамические параметры оценивались с помощью уравнения Вант-Гоффа:

$$\ln K_a = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}, \qquad (7)$$

где K_a – константа связывания при соответствующей температуре T; R – универсальная газовая постоянная.

Изменение энтальпии (ΔH) и изменение энтропии (ΔS) получали соответственно из угла наклона и отрезка, отсекаемого на оси ординат при $1/T = 0$, графика в координатах Вант-Гоффа (рис. 5г). Изменение свободной энергии Гиббса (ΔG) рассчитывали по формуле Гиббса–Гельмгольца:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S. \qquad (8)$$

Определенные по графику значения термодинамических параметров взаимодействия в системе БСА–ДЕКС приведены в табл. 2. Отрицательные значения свободной энергии (ΔG) подтверждают то, что процесс связывания ДЕКС с БСА является спонтанным. ΔH и ΔS для реакции связывания составили –46.33 кДж/моль и –70.38 Дж/(моль·K). В литературе охарактеризованы знак и величина термодинамических параметров, связанных с различными видами взаимодействий, которые могут происходить в процессах ассоциации белков и низкомолекулярных субстратов [44]. С точки зрения структуры воды, положительное значение ΔS трактуется как типичное доказательство гидрофобных взаимодействий. Специфические электростатические взаимодействия между ионными молекулами в водных растворах характеризуются положительным значением ΔS и отрицательным значением ΔH, в то время как отрицательные изменения энтропии и энтальпии возникают за счет сил Ван-дер-Ваальса и водородных связей [21, 28, 45]. В рамках данных понятий, отрицательные значения изменений энтальпии и энтропии при комплексообразовании ДЕКС и БСА указывают на то, что связывание обусловлено энтальпийным фактором, а энтропийный фактор неблагоприятен для процесса. На основании данного вывода можно предположить, что основную роль в процессе связывания ДЕКС с БСА в физиологических условиях играют Ван-дер-Ваальсовые взаимодействия и водородные связи.

Изменение конформации БСА, вызванное взаимодействием с ДЕКС

Дополнительные доказательства комплексообразования БСА с ДЕКС в составе наночастиц были получены с помощью ИК-спектроскопии (рис. 6). ИК-спектр ДЕКС раскрывает его структуру, характерную для

глюкокортикостероидов, содержащих стероидное ядро, две кетогруппы и гидроксильные заместители. В спектре отмечаются характерные колебания, присущие глюкокортикостероидам: полосы валентных колебаний ν_{O-H} (3500-3000 см$^{-1}$ с максимумом при 3412 см$^{-1}$), полосы валентных колебаний ν_{C-H} (3000–2800 см$^{-1}$ с максимумом при 2947 см$^{-1}$), валентные колебания двух карбонильных групп на разных позициях $\nu_{C=O}$ (1711 см$^{-1}$, 1664 см$^{-1}$), колебания C=C-связей в кольцевой системе стероида $\nu_{C=C}$ (1605 см$^{-1}$), валентные колебания P=O терминального кислорода фосфатной группы $\nu_{P=O}$ (диапазон 1300–960 см$^{-1}$ с максимумом при 1110 см$^{-1}$).

ИК-спектр БСА демонстрирует ряд амидных полос. Среди всех амидных полос пептидной группы наиболее широко используемой в исследованиях вторичных структур белков является амид I. Пики амидов I и II отмечаются в области 1600–1700 и 1500–1600 см$^{-1}$. Полоса амида I более чувствительна к изменениям вторичной структуры белка по сравнению с амидом II, поэтому анализ ИК-спектров в области полосы амида I более полезен для установления изменений

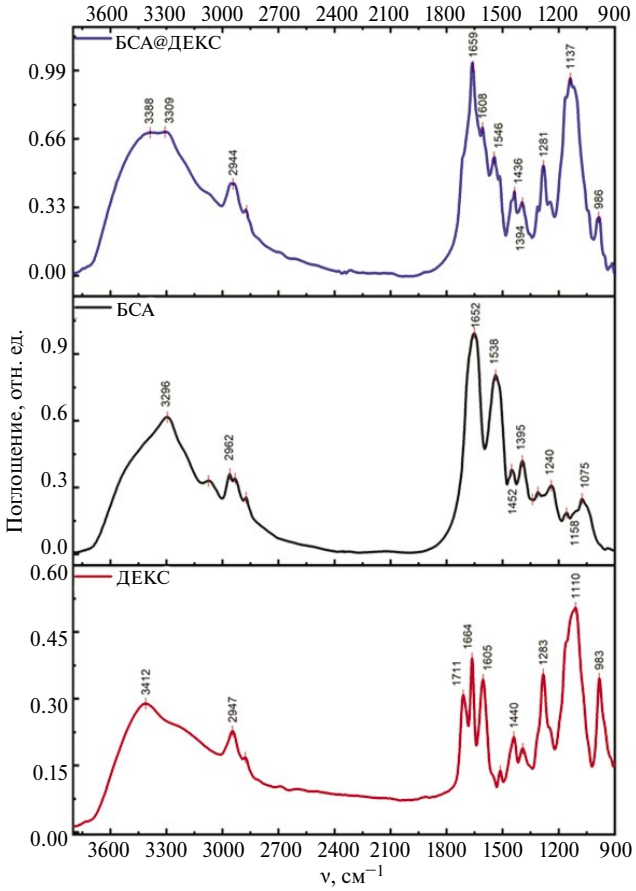


Рис. 6. ИК-спектры ДЕКС, БСА и частиц БСА@ДЕКС

Fig. 6. IR spectra of DEX, BSA and the BSA@DEX particles

вторичной структуры белков в процессе связывания лекарственных веществ [46, 47]. В ИК-спектре наночастиц БСА@ДЕКС отмечается смещение положения пиков амидов I и II. Полоса амида I смещается с 1652 до 1659 см$^{-1}$, а пик амида II – с 1538 до 1546 см$^{-1}$. Это свидетельствует о том, что ДЕКС взаимодействует с группами C=O и C–N в полипептидных цепях белка. Образование комплекса БСА–ДЕКС вызывает перестройку водородных связей белка и, следовательно, его спиральной структуры. В исходном образце БСА пик при 1652 см$^{-1}$ симметричный, узкий и высокой интенсивности, что указывает на большую долю структур α-спирали в конформации белка. В результате комплексообразования БСА с ДЕКС пик 1659 см$^{-1}$ становится несимметричным, отмечается появление плеча вблизи 1696 см$^{-1}$, проявляются два пика справа и слева от центра, 1630–1640 и 1680–1690 см$^{-1}$ соответственно, что свидетельствует об увеличении вклада конформации β-структуры белка [46].

Кинетика высвобождения ДЕКС из наночастиц БСА в условиях in vitro

Системы пролонгированного высвобождения инкапсулированных лекарственных веществ обеспечивают постепенное и равномерное выделение активного вещества в организме человека в течение 8–24 ч. На заключительном этапе работы исследовали кинетические закономерности высвобождения ДЕКС из наночастиц БСА@ДЕКС в условиях *in vitro* с применением в качестве приемной среды, имитирующей физиологическую жидкость при парентеральном введении, раствора трис-солевого буфера (рис. 7). Как видно из рисунка, высвобождение ДЕКС из наночастиц носит пролонгированный характер – 60 % глюкокортикостероида высвобождается за 6 ч. Обращает на себя внимание, что в интервале времени 4÷6 ч наблюдается достаточно резкое высвобождение ДЕКС из наночастиц. Затем высвобождение ДЕКС замедляется и к 10 ч кинетическая кривая выходит на плато. При этом из наночастиц БСА@ДЕКС высвобождается более 80% препарата, что удовлетворяет требованиям Государственной фармакопеи РФ для лекарственных форм с пролонгированным высвобождением [48].

При pH 7.4, как отмечалось выше, электростатические взаимодействия ДЕКС с БСА в силу одинакового заряда их функциональных групп отсутствуют, и основными механизмами комплексообразования в системе является связывание за счет водородных связей и сил Ван-дер-Ваальса. Как правило, высвобождение лекарственных веществ из носителей состоит из двух ключевых фаз: фазы быстрого высвобождения и фазы устойчивого высвобождения. На первом этапе быстро высвобождается часть лекарственного вещества, которое было адсорбировано на поверхности наноносителя. Во второй фазе, или фазе устойчивого высвобождения, происходит высвобождение лекарственного вещества из основной структуры наноносителя [49]. Отсутствие быстрой начальной фазы на профиле высвобождения ДЕКС из наночастиц БСА@ДЕКС

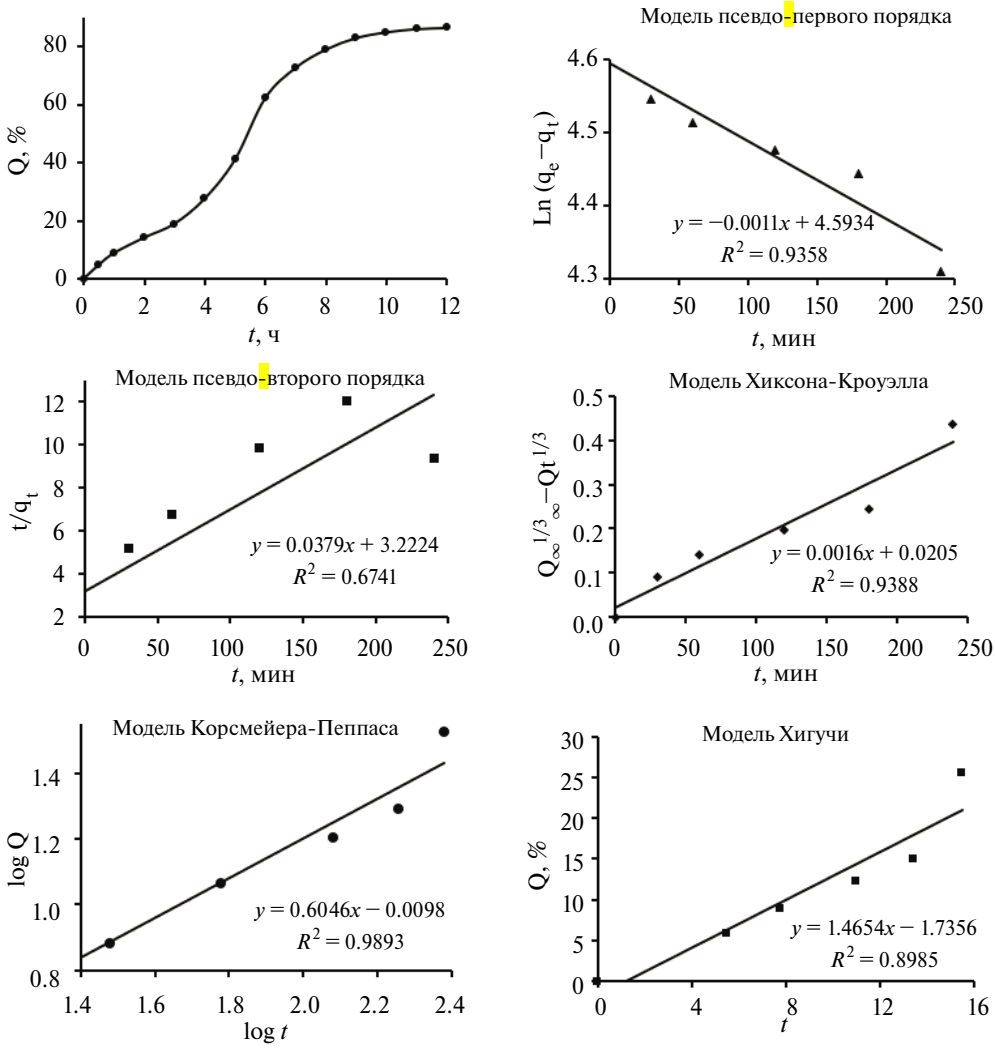


Рис. 7. Кинетические кривые высвобождения ДЕКС из частиц БСА@ДЕКС в приемную среду с pH 7.4 и сравнение различных математических моделей высвобождения лекарственного препарата из наноносителя; $Q = m_t/m_\infty \times 100\%$

Fig. 7. Kinetic curve of DEX release from BSA@DEX particles to the receiving medium with pH 7.4 and drug release from a nanocarrier compared to various mathematical models; $Q = m_t/m_\infty \times 100\%$

подтверждает его хорошую инкапсуляцию в полимерной матрице.

Для прогнозирования фармакокинетических профилей высвобождения ДЕКС из наночастиц БСА@ДЕКС проводили анализ его механизма. Интерпретация кинетических данных высвобождения лекарственных веществ из полимерных носителей осложняется тем, что диффузия низкомолекулярных веществ протекает одновременно с изменениями, происходящими с самой полимерной матрицей в приемной среде. Это может быть растворение, набухание и, в отдельных случаях, деструкция полимерной системы доставки. Для анализа механизма высвобождения ДЕКС из наночастиц использовали пять математических моделей [50]: псевдо-первого, псевдо-второго порядков, модели Хиксона–Кроуэлла, Корсмейера–Пеппаса и Хигучи (рис. 7). С использованием данных моделей проводился анализ начальной части кривой высвобождения, ограниченной 240 мин. В соответствии с проведенным анализом статистических критериев наиболее адекватно экспериментальные кинетические данные по высвобождению ДЕКС описывает модель Корсмейера–Пеппаса (табл. 3). Данная модель удобна для анализа высвобождения низкомолекулярных лекарственных веществ из полимерных наноносителей, в том случае, когда механизм высвобождения неизвестен или в системе одновременно протекает более одного механизма высвобождения. В рамках модели Корсмейера–Пеппаса для частиц сферической формы значение $n \leqslant 0.43$ указывает на контролируемое диффузией высвобождение. Промежуточные значения $0.43 < n < 0.85$ отвечают аномальному высвобождению, контролируемому диффузией и релаксацией полимера.

В случае, когда $n \geqslant 0.85$ наблюдается контролируемое релаксацией полимерной матрицы высвобождение (Case-II transport) [51]. По графику, построенному для модели Корсмейера–Пеппаса в логарифмических координатах $\log Q = f(\log t)$, определены показатель n как угол наклона ($n = 0.6$) и константа $k = 0.98$ мин$^{-1}$ (табл. 3), характеризующая взаимодействие полимера с диффундирующим веществом. Полученные значения n и k служат доказательством отклонения процесса диффузии ДЕКС из наночастиц от механизма Фика, что можно объяснить процессами, происходящими с полимерной матрицей (например, ее деструкцией), а также комплексообразованием ДЕКС с БСА и конформационными изменениями полипептидной цепи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены наночастицы комплексов БСА с ДЕКС с размером 70–100 нм в качестве модельных систем доставки высокоэффективного глюкокортикостероидного препарата с эффективностью инкапсулирования 57±1% и пролонгированным высвобождением в средах, близких к физиологическим. Продемонстрировано преимущество предварительного связывания ДЕКС с БСА до проведения десольватации белка этанолом и сшивания глутаровым альдегидом для достижения эффективного включения глюкокортикостероида и его замедленного релизинга из полученных наноносителей. Комплексом взаимодополняющих методов исследованы закономерности комплексообразования ДЕКС с БСА в разбавленных растворах с различным pH и в составе полученных наночастиц. Показано, что на природу сил межмолекулярных взаимодействий и состав комплексов БСА–ДЕКС оказывает влияние pH, что обусловлено зависимостью ионного состояния белковых молекул от кислотности среды. В физиологических условиях (pH 7.4) основную роль в связывании ДЕКС сывороточным альбумином играют водородные связи, гидрофобные эффекты и ван-дер-ваальсовые взаимодействия. В кислых средах (pH 2.0) в образование комплексов БСА–ДЕКС могут вносить вклад также специфические электростатические взаимодействия. Состав комплексов при pH 2.0 соответствует молярному отношению [ДЕКС]:[БСА] = 2.0:1.0, при pH 5.5 – 4.0:1.0. Полученный состав комплексов можно интерпретировать как возможное многосайтовое связывание БСА с ДЕКС при данных pH в отличии от связывания с одним сайтом белка при pH 7.4. Уменьшение значений константы тушения Штерна–Фольмера с повышением температуры указывают на статический механизм тушения флуоресценции альбумина лекарственным веществом. Анализ данных по тушению флуоресценции альбумина дексаметазоном и УФ-спектров наночастиц БСА@ДЕКС указывает на то, что присутствие лекарственного вещества изменяет конформацию и микроокружение молекул белка. Кинетические данные по высвобождению дексаметазона из наноносителя в условиях *in vitro* показали отсутствие взрывного релизинга на начальной стадии, что обеспечивает пролонгированное высвобождение препарата до 10–12 ч. На основе анализа кривых высвобождения сделан вывод о том, что лучше всего экспериментальные кинетические данные описываются моделью Корсмейера–Пеппаса, что позволит прогнозировать фармакокинетические профили высвобождения ДЕКС в различные приемные среды. Полученные в работе результаты свидетельствуют о том, что солевая форма дексаметазона

Таблица 3. Параметры кинетических моделей высвобождения ДЕКС из наночастиц БСА@ДЕКС и статистические критерии сравнения моделей

Table 3. Parameters of kinetic models of DEX release from BSA@DEX nanoparticles and statistical criteria for comparison of models

Кинетическая модель	Параметры моделей		Статистические критерии			
	Уравнение	Значения констант	R^2	Скорректированный R^2	RMSE	AIC
Модель псевдо-первого порядка	$Q_t = Q_e\left(1 - e^{-k_1 t}\right)$	$k_1 = 1.1\times10^{-3}$ мин$^{-1}$	0.936	0.893	2.232	15.634
Модель псевдо-второго порядка	$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{k_2 Q_e^2} + \frac{t}{Q_e}$	$k_2 = 4.5\times10^{-4}$	0.674	0.457	2.226	15.602
Модель Хиксона–Кроуэлла	$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = k_{HC} \cdot t$	$k_{HC} = 1.6\times10^{-3}$ мин$^{-1/3}$	0.939	0.923	32.453	45.757
Модель Корсмеера–Пеппаса	$Q_t = k t^n$	$k = 0.98$ мин$^{-1}$ $n = 0.60$	0.989	0.973	2.142	15.146
Модель Хигучи	$Q_t = k_H\sqrt{t}$	$k_H = 1.46$ мин$^{-1/2}$	0.899	0.873	2.546	15.212

является более предпочтительной лекарственной субстанцией для инкапсулирования по сравнению с базовым препаратом, поскольку обеспечивает pH-зависимое комплексообразование с сывороточным альбумином и получение системы доставки лекарственного препарата с хорошей эффективностью инкапсулирования и пролонгированным характером высвобождения. При разработке и направленном регулировании свойств полимерных наноносителей ДЕКС необходимо учитывать комплекс межмолекулярных взаимодействий в системе «белок–лекарственное вещество–растворитель».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mitchell M.J., Billingsley M.M., Haley R.M. et al. Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nat. Rev. Drug. Discov*. 2021. Vol. 20. no. 2. Pp. 101–124. https://doi.org/10.1038/s41573-020-0090-8
2. Gautam S., Bhatnagar D., Bansal D. et al. Recent advancements in nanomaterials for biomedical implants. *Biomed. Eng. Adv*. 2022. Vol. 3. P. 100029. https://doi.org/10.1016/j.bea.2022.100029
3. Yusuf A., Almotairy A.R.Z., Henidi H. et al. Nanoparticles as drug delivery systems: a review of the implication of nanoparticles' physicochemical properties on responses in biological systems. *Polymers*. 2023. Vol. 15. no. 7. P. 1596. https://doi.org/10.3390/polym15071596
4. Young Hee Choi, Hyo-Kyung Han. Nanomedicines: current status and future perspectives in aspect of drug delivery and pharmacokinetics. *J. Pharm. Investig.* 2018. Vol. 48. no. 1. Pp. 43–60. https://doi.org/10.1007/s40005-017-0370-4
5. Muthu M.S., David Tai Leong, Lin Mei et al. Nanotheranostics – application and further development of nanomedicine strategies for advanced theranostics. *Theranostics*. 2014. Vol. 4. no. 6. Pp. 660–677. https://doi.org/10.7150/thno.8698
6. Singh D., Kumar A. Next-generation nanocarriers for precision antitumor therapy: from passive targeting to intelligent response. *Explor. Target Antitumor Ther.* 2025. Vol. 6. P. 1002355. https://doi.org/10.37349/etat.2025.100235
7. Minhye Kim, Myeongyeon Shin, Yaping Zhao et al. Transformative impact of nanocarrier-mediated drug delivery: overcoming biological barriers and expanding therapeutic horizons. *Small Sci*. 2024. Vol. 4. no. 11. P. 2400280. https://doi.org/10.1002/smsc.202400280
8. Tripathi D., Pandey P., Sharma S. et al. Advances in nanomaterials for precision drug delivery: Insights into pharmacokinetics and toxicity. *BioImpacts*. 2024. Vol. 15. P. 30573. https://doi.org/10.34172/bi.30573
9. Shilova S.V., Mirgaleev G.M., Sagdeev D.O. et al. Luminescent nanoparticles of chitosan–carrageenan polyelectrolyte complex as promising multifunctional vancomycin delivery systems. *Colloid J*. 2025. Vol. 87. no. 5. Pp. 694–706. https://doi.org/10.1134/S1061933X25600678
10. Patra J.K., Das G., Fraceto L.F. et al. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *J. Nanobiotechnol.* 2018. Vol. 16. P. 71. https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8
11. Xiaoli Wu, Han Yang, Weitao Yang et al. Nanoparticle-based diagnostic and therapeutic systems for brain tumors. *J. Mater. Chem. B.* 2019. Vol. 7. no. 31. Pp. 4734–4750. https://doi.org/10.1039/C9TB00860H
12. Agudelo D., Bérubé G., Tajmir-Riahi H.A. An overview on the delivery of antitumor drug doxorubicin by carrier proteins. *Int. J. Biol. Macromol.* 2016. Vol. 88. Pp. 354–363. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.03.060
13. Rutherford S.H., Hutchison C.D.M., Greetham G.M. et al. Optical screening and classification of drug binding to proteins in human blood serum. *Anal. Chem*. 2023. Vol. 95. no. 46. Pp. 17037–17045. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c03713
14. Elzoghby A.O., Samy W.M., Elgindy N.A. Albumin-based nanoparticles as potential controlled release drug delivery systems. *J. Control. Release*. 2012. Vol. 157. no. 2. Pp. 168–182. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.07.031
15. Tae Hyung Kim, Hai Hua Jiang, Yu Seok Youn et al. Preparation and characterization of water-soluble albumin-bound curcumin nanoparticles with improved antitumor activity. *Int. J. Pharm*. 2011. Vol. 403. nos. 1–2. Pp. 285–291. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.10.041
16. Sułkowska A. Interaction of drugs with bovine and human serum albumin. *J. Mol. Struct.* 2002. Vol. 614. nos. 1–3. Pp. 227–232. https://doi.org/10.1016/S0022-2860(02)00256-9
17. Aiqin Gong, Xiashi Zhu, Yanyan Hu et al. A fluorescence spectroscopic study of the interaction between epristeride and bovin serum albumine and its analytical application. *Talanta*. 2007. Vol. 73. no. 4. Pp. 668–673. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.04.041
18. Abarova S., Papageorgiou A., Ivanov Y. et al. Warfarin replaces dexamethasone in drug complexes with human serum albumin-a fluorescence spectroscopy study. *Bulg. Chem. Commun*. 2020. Vol. 52. no. 3. Pp. 404–408. https://doi.org/10.34049/bcc.52.3.5242

19. Madamsetty V.S., Mohammadinejad R., Uzieliene I. et al. Dexamethasone: insights into pharmacological aspects, therapeutic mechanisms, and delivery systems. *ACS Biomater. Sci. Eng*. 2022. Vol. 8. no. 5. Pp. 1763–1790. https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.2c00026
20. Shabalin I.G., Czub M.P., Majorek K.A. et al. Molecular determinants of vascular transport of dexamethasone in COVID-19 therapy. *IUCrJ*. 2020. Vol. 7. Part 6. Pp. 1048–1058. https://doi.org/10.1107/s2052252520012944
21. Rhen T., Cidlowski J.A. Antiinflammatory action of glucocorticoids–New mechanisms for old drugs. *N. Engl. J. Med*. 2005. Vol. 353. no. 16. Pp. 1711–1723. https://doi.org/10.1056/nejmra050541
22. Alangari A.A. Corticosteroids in the treatment of acute asthma. *Ann. Thorac. Med*. 2014. Vol. 9. no. 4. Pp. 187–192. https://doi.org/10.4103/1817-1737.140120
23. Czub M.P., Handing K.B., Venkataramany B.S. et al. Albumin-based transport of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in mammalian blood plasma. *J. Med. Chem*. 2020. Vol. 63. no. 13. Pp. 6847–6862. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00225
24. Na Qu, Ke Song, Yating Ji et al. Albumin nanoparticle-based drug delivery systems. *Int. J. Nanomed*. 2024. Vol. 19. Pp. 6945–6980. https://doi.org/10.2147/IJN.S467876
25. Libánská A., Randárová E., Lager F. et al. Polymer nanomedicines with pH-sensitive release of dexamethasone for the localized treatment of inflammation. *Pharmaceutics*. 2020. Vol. 12. no. 8. Pp. 700–718. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080700
26. Huan Wang, Rui Gou, Wei Li et al. Targeting delivery of dexamethasone to inflamed joints by albumin-binding peptide modified liposomes for rheumatoid arthritis therapy. *Int. J. Nanomed*. 2025. Vol. 20. Pp. 3789–3802. https://doi.org/10.2147/IJN.S486488
27. Naik P.N., Chimatadar S.A., Nandibewoor S.T. Interaction between a potent corticosteroid drug – Dexamethasone with bovine serum albumin and human serum albumin: A fluorescence quenching and fourier transformation infrared spectroscopy study. *J. Photochem. Photobiol. B*. 2010. Vol. 100. no. 3. Pp.147–159. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.05.014
28. Pontremoli C., Barbero N., Viscardi G. et al. Insight into the interaction of inhaled corticosteroids with human serum albumin: A spectroscopic-based study. *J. Pharm. Anal*. 2018. Vol. 8. no. 1. Pp. 37–44. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2017.07.003
29. Qian Wang, Xuyang Liu, Ming Su et al. Study on the interaction characteristics of dexamethasone sodium phosphate with bovine serum albumin by spectroscopic technique. *New J. Chem*. 2014. Vol. 38. no. 9. Pp. 4092–4098. https://doi.org/10.1039/c4nj00327f
30. Besheli N.H., Martens M., Macías-Sánchez E. et al. Unraveling the formation of gelatin nanospheres by means of desolvation. *Nano. Lett*. 2023. Vol. 23. no. 23. Pp. 11091–11098. https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.3c03459
31. Nan Zhou, Chun-Xiang He. An improved method of isomolar series by dual-wavelength spectrophotometry. *Microchim. Acta*. 1993. Vol. 111. Pp.183–191. https://doi.org/10.1007/BF01245305
32. Lakowicz J.R. (ed.). *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. New York: Springer Science, 2006. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4
33. Gupta P.K., Gallo J.M., Hung C.T. et al. Influence of stabilization temperature on the entrapment of adriamycin in albumin microspheres. *Drug. Dev. Ind. Pharm*. 1987. Vol. 13. no. 8. Pp. 1471–1482. https://doi.org/10.3109/03639048709068386
34. Reis C.P., Neufeld R.J., Ribeiro A.J. et al. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med*. 2006. Vol. 2. no. 1. Pp. 8–21. https://doi.org/10.1016/j.nano.2005.12.003
35. Weber C., Coester C., Kreuter J. et al. Desolvation process and surface characterisation of protein nanoparticles. *Int. J. Pharm*. 2000. Vol. 194. no. 1. Pp. 91–102. https://doi.org/10.1016/S0378-5173(99)00370-1
36. Ye-Zhong Zhang, Xiao-Xia Chen, Jie Dai et al. Spectroscopic studies on the interaction of lanthanum (III) 2-oxo-propionic acid salicyloyl hydrazone complex with bovine serum albumin. *Luminescence*. 2008. Vol. 23. no. 3. Pp. 150–156. https://doi.org/10.1002/bio.1025
37. Ming Guo, Jian-Wei Zou, Ping-Gui Yi et al. Binding interaction of gatifloxacin with bovine serum albumin. *Anal. Sci*. 2004. Vol. 20. no. 3. Pp. 465–470. https://doi.org/10.2116/analsci.20.465
38. Al-Owaidi M.F., Alkhafaji S.L., Mahood AM. Quantitative determination of dexamethasone sodium phosphate in bulk and pharmaceuticals at suitable pH values using the spectrophotometric method. *J. Adv. Pharm. Technol. Res*. 2021. Vol. 12. no. 4. Pp. 378–383. https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_6_21
39. Jayabharathi J., Thanikachalam V., Sathishkumar R. et al. Fluorescence investigation of the interaction of 2-(4-fluorophenyl)-1-phenyl-1H-phenanthro [9, 10-d] imidazole with bovine serum albumin. *J. Photochem. Photobiol. B*. 2012. Vol. 117. Pp. 222–227. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2012.10.005

40. Motz R.N., Sun A.C., Lehnherr D. et al. High-throughput determination of Stern–Volmer quenching constants for common photocatalysts and quenchers. *ACS Org. Inorg. Au*. 2023. Vol. 3. no. 5. Pp. 266–273. https://doi.org/10.1021/acsorginorgau.3c00019
41. Lackowicz J.R., Weber G. Quenching of fluorescence by oxygen: a probe for structural fluctuation in macromolecule. *Biochemistry*. 1973. Vol. 12. no. 21. Pp. 4161–4170. https://doi.org/10.1021/bi00745a020
42. Eftink M.R., Ghiron C.A. Fluorescence quenching studies with proteins. *Anal. Biochem*. 1981. Vol. 114. no. 2. Pp. 199–227. https://doi.org/10.1016/0003-2697(81)90474-7
43. Iwakawa S., Spahn H., Benet L.Z. Stereoselective binding of the glucuronide of ketoprofen enantiomers to human serum albumin. *Biochem. Pharmacol*. 1990. Vol. 39. no. 5. Pp. 949–953. https://doi.org/10.1016/0006-2952(90)90212-4
44. Ross D.P., Subramanian S. Thermodynamics of protein association reactions: Forces contributing to stability. *Biochemistry*. 1981. Vol. 20. no. 11. Pp. 3096–3102. https://doi.org/10.1021/bi00514a017
45. Mallick A., Haldar B., Chattopadhyay N. Spectroscopic investigation on the interaction of ICT probe 3-acetyl-4-oxo-6, 7-dihydro-12H indolo-[2, 3-a] quinolizine with serum albumins. *J. Phys. Chem. B*. 2005. Vol. 109. no. 30. Pp. 14683–14690. https://doi.org/10.1021/jp051367z
46. Rahmelow K., Hubner W. Secondary structure determination of proteins in aqueous solution by infrared spectroscopy: a comparison of multivariate data analysis methods. *Anal. Biochem*. 1996. Vol. 241. no. 1. Pp. 5–13. https://doi.org/10.1006/abio.1996.0369
47. Brauner J.W., Flach C.R., Mendeisohn R. A quantitative reconstruction of the amide I contour in the IR spectra of globular proteins: from structure to spectrum. *J. Am. Chem. Soc*. 2005. Vol. 127. no. 1. Pp. 100–109. https://doi.org/10.1021/ja0400685
48. Государственная фармакопея РФ. XIV изд. Т. 2. *Лекарственные формы лекарственных средств и методы их анализа*. Москва, 2018. С. 2170–2182.
49. Rivas C.J.M., Tarhini M., Badri W. et al. Nanoprecipitation process: From encapsulation to drug delivery. *Int. J. Pharm*. 2017. Vol. 532. no. 1. Pp. 66–81. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.08.064
50. Crank J. *The Mathematics of Diffusion*. Oxford: Clarendon Press, 1975.
51. 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. Vol. 5. no. 1. Pp. 23–36. http://doi.org/10.1016/0168-3659(87)90034-4

ПРИЛОЖЕНИЕ

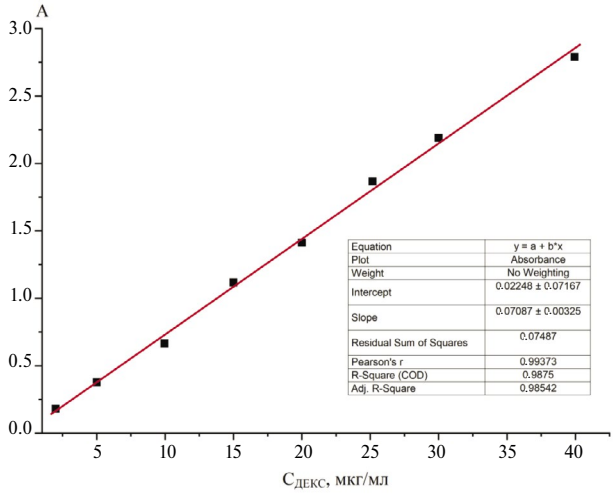


Рис. П1. Калибровочная зависимость оптической плотности раствора ДЕКС в присутствии БСА (25 мкг/мл) от концентрации ДЕКС при λ = 250 нм

Fig. A1. Calibration curve of the optical density of a DEX solution in the presence of BSA (25 μg/mL) vs. DEX concentration at λ = 250 nm

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шилова Светлана Владимировна – д-р хим. наук; проф., Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Российская Федерация
E-mail: s_shilova74@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-0887-8251

Миргалеев Григорий Маратович – канд. хим. наук; ассистент, Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Российская Федерация
E-mail: kombat9713@mail.ru
https://orcid.org/0000-0001-6524-7926

Бызов Дмитрий Петрович – магистрант, Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Российская Федерация
E-mail: dmitriy.byzov@yandex.ru
https://orcid.org/0009-0004-7024-3646

Эндерс Полина Яковлевна – ст. преподаватель, Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Российская Федерация
E-mail: enderspolina@mail.ru
https://orcid.org/0009-0001-6651-5707

ABOUT THE AUTHORS

Shilova, Svetlana V. – Dr. Sci. (Chemistry); Full Professor, Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation
E-mail: s_shilova74@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-0887-8251

Mirgaleev, Gregory M. – Cand. Sc. (Chemistry); Assistant Professor, Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation
E-mail: kombat9713@mail.ru
https://orcid.org/0000-0001-6524-7926

Byzov, Dmitriy P. – Master's Degree student, Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation
E-mail: dmitriy.byzov@yandex.ru
https://orcid.org/0009-0004-7024-3646

Enders, Polina Ya. – Senior Lecturer, Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation
E-mail: enderspolina@mail.ru
https://orcid.org/0009-0001-6651-5707

Поступила в редакцию 02.07.2026 г.
После доработки 03.09.2026 г.
Принята к публикации 07.09.2026 г.

Received July 02, 2026
Revised September 03, 2026
Accepted September 07, 2026