

## Полимерные системы для пероральной доставки инсулина

Г.Е. Ерлан\*, Б.Б. Тюсюпова,  
С.М. Тажимаева, К.Б. Мусабеков

Казахский национальный университет  
имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан  
\*E-mail: [erlan.gulzhan@mail.ru](mailto:erlan.gulzhan@mail.ru)

Сахарный диабет входит в десятку основных причин смертности во всем мире и остается серьезной проблемой здравоохранения. Более полумиллиарда человек во всем мире страдают диабетом, который возникает при неспособности организма вырабатывать инсулин или неэффективном использовании вырабатываемого инсулина. Для поддержки уровня глюкозы в крови в пределах допустимой нормы люди с 1 типом диабета нуждаются в ежедневных инъекциях инсулина. Несмотря на то, что инсулин остается незаменимым препаратом при лечении сахарного диабета, его инъекционная форма препятствует его более широкому использованию. Для устранения барьеров, связанных с инъекционной формой инсулина и повышения простоты использования, а также для обеспечения терапевтических преимуществ проводится множество исследований по созданию пероральной формы инсулина. Данная обзорная статья посвящена представлению общих сведений о современных достижениях путей создания пероральной формы инсулина. В статье приведены данные по распространенности сахарного диабета и его лечению, описаны методы инкапсуляции белков, трудности применения перорального инсулина, а также различные подходы, которые были предприняты для преодоления барьеров на пути создания пероральной формы инсулина. Рассмотрены последние достижения в применении мукоадгезивных полимеров и гидрогелей для доставки лекарственных препаратов. Мукоадгезивные полимеры хитозан и альгинат благодаря своим свойствам, таким как чувствительность к pH, биосовместимость и биоразлагаемость привлекают все большее внимание. Приведены методы инкапсуляции белковых лекарственных препаратов с применением распылительной сушки, эмульгирования и осаждения полимерных материалов посредством комплексообразования.

**Ключевые слова:** сахарный диабет; инсулин; инкапсуляция; мукоадгезивные полимеры; гидрогели.

---

## Polymer systems for oral delivery of insulin

G.Ye. Yerlan\*, B.B. Tyussyupova,  
S.M. Tazhibayeva, K.B. Musabekov

Al-Farabi Kazakh National University,  
Almaty, Kazakhstan  
\*E-mail: [erlan.gulzhan@mail.ru](mailto:erlan.gulzhan@mail.ru)

Diabetes mellitus is among the top ten leading causes of death worldwide and remains a serious health problem. More than half a billion people worldwide have diabetes, which occurs when the body is unable to produce insulin or due to the inefficient use of the produced insulin. To keep blood glucose levels within the acceptable norm, people with type 1 diabetes need daily injections of insulin. Even though insulin remains an indispensable drug in the treatment of diabetes, its injectable form prevents its wider use. To eliminate the barriers associated with the injectable form of insulin, improve ease of use, and supply therapeutic benefits, a lot of work is underway to create an oral form of insulin. This review is devoted to the presentation of general information about modern achievements in the creation of an oral form of insulin. The paper describes the prevalence of diabetes mellitus and its treatment, methods of protein encapsulation, difficulties in the use of oral insulin, as well as various approaches that have been taken to overcome barriers to the creation of an oral form of insulin. The latest achievements in the use of mucoadhesive polymers and hydrogels for drug delivery are considered. Mucoadhesive polymers such as chitosan and alginate are attracting increasing attention due to their properties such as pH sensitivity, biocompatibility, and biodegradability. Methods of encapsulation of protein drugs with the use of spray drying, emulsification, and deposition of polymer materials by complexation are presented.

**Keywords:** diabetes mellitus; insulin; encapsulation; mucoadhesive polymers; hydrogels.

---

## Инсулинді пероралды жеткізудегі полимерлі жүйелер

Г.Е. Ерлан\*, Б.Б. Тюсюпова,  
С.М. Тажимаева, К.Б. Мусабеков

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық  
университеті, Алматы қ., Қазақстан  
\*E-mail: [erlan.gulzhan@mail.ru](mailto:erlan.gulzhan@mail.ru)

Қант диабеті әлемдегі адам шығынының негізгі он себептерінің бірі болып табылады және денсаулық сақтаудың басты мәселесі. Ағзаның инсулинді бөліп шығара алмауынан немесе бөлінген инсулинді дұрыс қолданбауынан туындайтын қант диабетінен дүние жүзінде жарты миллиардтан астам адам зардап шегеді. Қандағы глюкоза деңгейін қажетті норма шегінде ұстап тұру үшін 1-ші типті қант диабеті бар адамдар күнделікті инсулин инъекцияларына мұқтаж. Қант диабетін емдеуде инсулин таптырмас дәрі болып қала беретіндігіне қарамастан, оның инъекциялық формасы оның кеңінен қолданылуына кедергі келтіреді. Инсулиннің инъекциялық түрімен байланысты кедергілерді жою және оның қолданылуын жеңілдету, сонымен қатар терапевтік артықшылықтарды қамтамасыз ету үшін инсулиннің пероралды түрін жасауда көптеген жұмыстар жүргізілуде. Бұл шолу инсулиннің пероралды түрін жасау жолындағы заманауи жетістіктер жайлы жалпы мәліметтерді ұсынады. Мақалада қант диабетінің таралуы мен оның емделуі, ақуыздарды инкапсуляциялау әдістері, инсулиннің пероралды түрін қолданудағы қиыншылықтар, сонымен қатар инсулиннің пероралды түрін жасау жолындағы әр түрлі кедергілерді жоюға арналған тәсілдер сипатталды. Дәрілік заттарды тасымалдауда мукоадгезивті полимерлер мен гидрогельдерді қолданудың соңғы жетістіктері қарастырылды. Хитозан және альгинат тәрізді мукоадгезивті полимерлер өздерінің pH сезімталдығы, биоүйлесімділігі және биыдырағыштығы тәрізді қасиеттеріне байланысты қызығушылық туғызады. Ақуызды дәрілік заттарды бүріккіш кептіру, эмульгирлеу және полимерлі материалдарды кешентузу жолымен тұндыру әдістерін қолдана отырып инкапсуляциялау жолдары келтірілді.

**Түйін сөздер:** қант диабеті; инсулин; инкапсуляция; мукоадгезивті полимерлер; гидрогельдер.



Review (Обзор)

## Полимерные системы для пероральной доставки инсулина

Г.Е. Ерлан\* , Б.Б. Тюсюпова , С.М. Тажибаева , К.Б. Мусабеков 

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, пр. аль-Фараби 71, 050040 Алматы, Казакстан

\*E-mail: [erlan.gulzhan@mail.ru](mailto:erlan.gulzhan@mail.ru)

### 1. Введение

Распространенность диабета в 21 веке приближается к пандемическому масштабу. Это глобальное заболевание, частота которого растет экспоненциально [1]. Сахарный диабет — это нарушение регуляции глюкозы, характеризующееся накоплением уровня глюкозы в крови. Нарушение контроля глюкозы может быть вызвано неспособностью эндокринной поджелудочной железы секретировать инсулин или неспособностью организма правильно использовать инсулин [2]. Для решения этой проблемы были созданы новые инсулины. Однако, физиологическая замена инсулина также включает в себя многократные подкожные инъекции или использование инсулиновых помп [3]. Из-за своей простоты введения и низких затрат на здравоохранение пероральная доставка лекарств является более предпочтительным способом введения. Однако, из-за желудочно-кишечных барьеров, приводящих к незначительной пероральной биодоступности макромолекулярных препаратов, пероральные белковые композиции в настоящее время коммерчески недоступны [4]. Цель этой обзорной статьи — показать преимущества пероральной формы инсулина и

текущее состояние исследований в области разработки перорального инсулина.

### 2. Препятствия на пути пероральной доставки инсулина

Основные проблемы при пероральной доставке белков связаны с их химической и физической нестабильностью, что приводит к низкой биодоступности. Они также имеют плохую проницаемость через различные поверхности слизистой оболочки (рисунок 1).

Ферментативные и химические барьеры могут препятствовать усвоению белковых лекарственных препаратов в желудочно-кишечном тракте. Также абсорбционные барьеры в кишечном эпителии ограничивают транспорт белковых лекарственных препаратов. К химическим барьерам на пути пероральной доставки инсулина можно отнести чувствительность белковых препаратов к изменению pH. Значение pH в желудочно-кишечном тракте варьируется от сильнокислого (pH 1,2-3,0) до слабощелочного (6,5-8,0). При таких значениях pH может произойти гидролиз белков и потеря их активности [5].

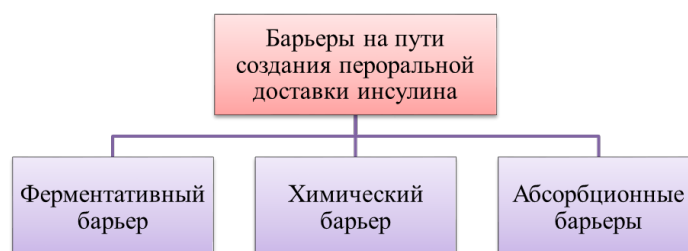


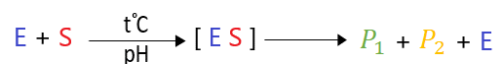
Рисунок 1 – Основные препятствия на пути пероральной доставки инсулина

К ферментативным барьерам относится деградация белков протеазами, присутствующими в желудочно-кишечном тракте. Физиологическая слизь, которая функционирует как диффузионный барьер, является первым абсорбционным препятствием при всасывании белковых лекарственных препаратов [6]. Общий механизм действия ферментов приведен в схеме 1.

Для преодоления барьеров на пути создания пероральной формы инсулина были предприняты различные подходы, включая химическую модификацию и включение в такие носители, как липидные системы, микросферы, наночастицы и липосомы [7-9]. При исследовании размера частиц и дозы липосом на гипогликемическую активность и пероральную биодоступность инсулин, инкапсулированный в липосомы,

проявлял повышенную абсорбцию и фармакологическую активность [7]. Однако, нестабильность в желудочно-кишечном тракте из-за различных значений pH, липаз и солей желчи, низкая эффективность инкапсуляции являются основными ограничениями липосомы [10]. Для повышения биодоступности перорально вводимого инсулина в работе [11] были получены инсулин-хитозановые полиэлектролитные комплексы (ПЭК), ассоциированные с липосомами лецитина. Значительное снижение уровня глюкозы в крови было отмечено после перорального введения липосомального препарата диабетическим крысам.

Для защиты инсулина от ферментативной деградации были разработаны микрочастицы желатиновой камеди, покрытые резистентным крахмалом/пектином.



E - фермент; S - субстрат; [E S] - комплекс;  $P_1, P_2$  - продукты

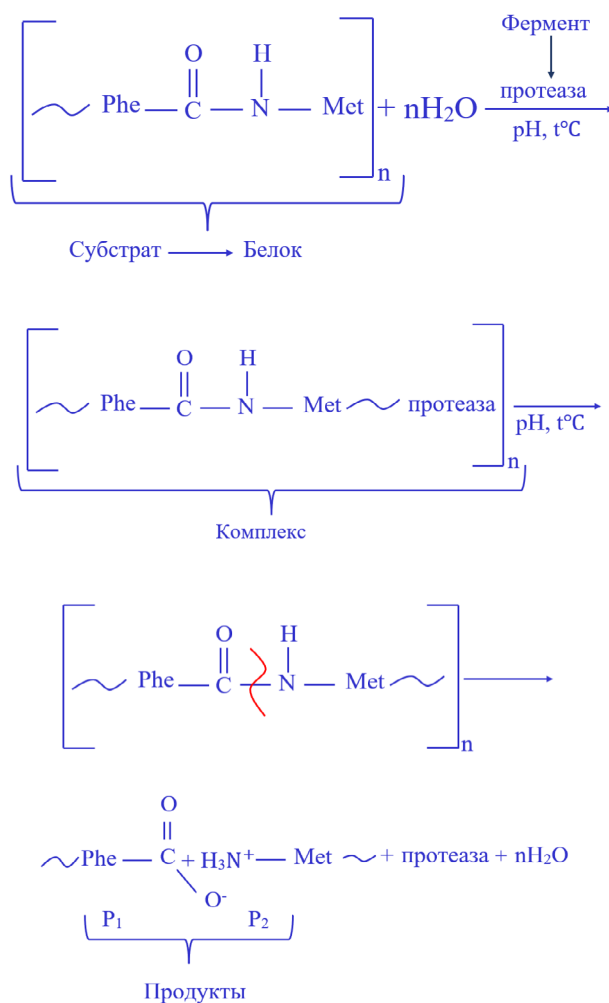


Схема 1 – Механизм деградации белков ферментами в желудочно-кишечном тракте

Продемонстрировано защитное действие разработанной системы от трипсина и альфа-химотрипсина в течение 120 мин. Достигнуто контролируемое высвобождение инсулина при различных значениях pH. *In vivo* исследования показали эффективную гипогликемическую активность в течение 7 ч. Результаты этого исследования указывают на то, что использованные полисахариды могут

заменить обычные ингибиторы ферментов, которые часто являются токсичными [12].

Для разработки пероральной формы инсулина необходимо понимание функций и характеристик этих вышеизложенных барьеров. Ниже на рисунке 2 приведены основные преимущества и недостатки пероральной формы инсулина:



Рисунок 2 – Преимущества и недостатки пероральной формы инсулина

### 3. Пероральная доставка белковых препаратов

Путем разработки подходящего носителя, который будет защищать инсулин от агрессивных сред желудка до того, как он попадет в желудочно-кишечный тракт можно преодолеть дегградацию, денатурацию инсулина [13].

Различные материалы, такие как наночастицы, нанокapsулы и коллаген, были исследованы в качестве инкапсулирующих и доставляющих инсулин агентов [14, 15]. Однако, из-за своей низкой пористости эти материалы проявляют лишь умеренную инсулиновую нагрузочную способность [16].

В исследовании Deat-Laine и других [17] инсулин инкапсулировали в микрочастицы, состоящие из денатурированного сывороточного белка и альгината, используя процесс холодного гелеобразования ионами  $Ca^{2+}$ , где была достигнута высокая степень (85%) инкапсуляции белка. Показано, что инсулин взаимодействует с сывороточным белком за счет

нековалентных связей и стерического эффекта. Результаты этих исследований показали, что инсулин может довольно быстро высвобождаться из микрочастиц путем диффузии как в кислой среде, так и в кишечнике, в то время как микрочастицы сывороточного белка/альгината проявляют защитный эффект против ферментативной дегградации инсулина пепсином и  $\alpha$ -химотрипсином. Эти результаты привели к возможности разработки пероральной формы инсулина путем его инкапсуляции в микрочастицы сывороточный белок/альгинат.

Иммобилизация живых клеток *Saccharomycesboulardii*, используемых в качестве биотерапевтического средства, с использованием микрочастиц сывороточный белок/альгинат также была изучена [18,19], и покрытие микрочастиц сывороточным белком и альгинатом показало хорошие защитные эффекты для иммобилизованных живых клеток. Эта работа также подтвердила, что микрочастицы сывороточный белок/альгинат могут быть использованы для защиты живых клеток в кислых средах.

Для пероральной доставки белковых препаратов, таких как инсулин, кальцитонин и циклоспорин А, твердые липидные наночастицы были покрыты хитозаном и полиэтиленгликолем (ПЭГ). Эффективность инкапсуляции для наночастиц, покрытых полиэтиленгликолем составила 90%, а для частиц, покрытых хитозаном, 30,7%. Поглощение наночастиц было исследовано с использованием культуры клеток *Caco-2*. Наночастицы, покрытые хитозаном, продемонстрировали значительный и длительный гипогликемический эффект, по сравнению с частицами, покрытыми ПЭГ, которые не проявили значительного эффекта [20].

Во многих исследованиях предпринимались попытки защитить загруженные макромолекулы от кислотной денатурации и ферментативной деградации, продлить период их пребывания в кишечнике и увеличить их поглощение кишечным эпителием с помощью наночастиц на основе хитозана. Хитозан демонстрирует сильные мукоадгезивные свойства, способность к контролируемому высвобождению и ингибирования ферментов. Эти свойства хитозана могут быть дополнительно улучшены модификацией первичных аминогрупп хитозана. Были проведены сравнительные исследования мукоадгезивных свойств тиолированных наночастиц хитозана и немодифицированных. Результаты исследований показали, что у тиолированных наночастиц адгезивные свойства в три раза больше по сравнению с исходными частицами. По данным *in vivo* исследования мукоадгезии сухая форма наночастиц имеет самую сильную мукоадгезию [21,22]. С целью дальнейшего повышения его эффективности при пероральном всасывании макромолекулярных препаратов были также изучены производные хитозана, такие как кватернизированный хитозан, тиолированный хитозан и карбоксилированный хитозан. Кроме того, последние разработки посвящены использованию хитозана и его производных в качестве носителей пероральной доставки гидрофильных макромолекул и исследованию их влияния на транспорт лекарственных средств.

В кислых водных средах хитозан растворим, имеет активные аминогруппы и может взаимодействовать с несколькими ионными веществами. Кроме того, хитозан и многие его производные полезны для медицинских и фармацевтических применений с физико-химическими и биохимическими свойствами. Поэтому его рецептуры будут служить резервуаром загруженных веществ, таких как таблетки, гранулы и пленки. Хитозан подвергается ионному сшиванию с многовалентными ионами. Поскольку они взаимодействуют электростатически, анионные полимеры могут образовывать комплексы с хитозаном. Такая сшивка полезна для разработки микро- или наночастиц хитозана [23].

Ключевым механизмом получения наночастиц хитозана является сшивка (химическая или физическая), процесс образования полиэлектролитных комплексов и самосборка гидрофобно модифицированного хитозана. Обратные мицеллы, десольватация, осаждение/коацервация

и эмульсионно-капельная коалесценция являются другими потенциальными процессами. Известно, что сшивка хитозана — это простая технология разработки для иммобилизации белка или инкапсуляции различных молекул, например капельное добавление шшивателя в раствор хитозана [24].

Альгинатные микрокапсулы можно использовать для микрокапсулирования пробиотических бактерий, демонстрирующих улучшенную жизнеспособность в моделируемых желудочных условиях [25]. Хотя сообщалось о «резком высвобождении» больших молекул при кишечном pH только при инкапсулировании альгината, его можно уменьшить путем покрытия хитозаном [26].

Альгинаты — это природные полисахариды, происходящие из бурых водорослей, содержащие линейную цепь из 1→4-связанных остатков β-D-маннуроносовой кислоты и α-L-гулууроносовой кислоты. За счет электростатического взаимодействия с ионами кальция гомополимерные блоки α-L-гулууроносовой кислоты в альгинате сшивают полимер с образованием монолита гидрогеля. Именно это свойство привело к тому, что альгинаты обычно используются в качестве инкапсулирующего материала с помощью метода внешнего гелеобразования [27]. Еще одна причина того, что эти полимеры особенно подходят для контролируемого высвобождения, заключается в том, что как хитозан, так и альгинат являются мукоадгезивами (способность к прилипанию к поверхности слизистых тканей) из-за их высокой плотности заряда, продлевая пребывание капсулы в области высвобождения [27-29].

Для инкапсулирования фосфолипидных мицелл получены послойные капсулы на основе хитозана и солей альгиновой кислоты. Кальциевые и бариевые соли альгиновой кислоты являлись основой для приготовления хитозан-альгинатных капсул. Для увеличения стойкости в щелочных средах в состав матрицы вводился хитозан различной вязкости, так как хитозан с увеличением pH резко теряет способность к растворению. Изучен процесс высвобождения фосфолипидных мицелл из полислоистых капсул. Результаты экспериментов показали, что комбинация Са-альгината и хитозана низкой вязкости наиболее предпочтительна, такие капсулы растворялись в среднем за 210-215 мин. Растворения капсул не наблюдалось в случае введения в состав матрицы хитозана средней вязкости [30].

В работе [31] антимикробные вещества, полученные из штаммов *Bacillus lentus*, *Geobacillus thermoglucosidasius* и *Paenibacillus polymyxa*, инкапсулированы с использованием альгината натрия и хитозана. Выбор этих полимерных носителей для инкапсулирования обусловлен натуральностью их происхождения, активностью против бактерий и грибов. По результатам исследований установлено, что альгинатные гранулы с хитозановым покрытием наиболее стабильны и устойчивы к распаду и сохранению антимикробной активности.

С целью улучшения жизнеспособности пробиотика (*Bifidobacterium breve*) в желудочно-кишечном тракте путем инкапсуляции в системе альгинатных микрокапсул, покрытых хитозаном, изучены и оценены некоторые свойства этих микрокапсул в исследованиях Micheal T. Cook и соавторов [32-35]. Исследования показали, что набухание и растворение зависели от pH, причем растворение происходило при значениях pH выше  $pK_a$  альгината. Показано, что микрокапсулы альгината, как влажные, так и сухие, улучшают выживаемость *B. breve* во время воздействия искусственного желудочного сока. Покрытие хитозаном еще больше повысило выживаемость. Влияние времени воздействия хитозана на толщину покрытия исследовано с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, и показано, что его проникновение в альгинатную матрицу происходит очень медленно [36].

Влияние комбинации двухвалентных сшивающих ионов на скорость высвобождения лекарства из альгинатных гидрогелей исследовано в работе [37]. При использовании смеси сшивающих ионов Ca (II) и Ba (II) может быть достигнута приемлемая скорость высвобождения. Более медленное высвобождение в течение длительного периода времени достигается при использовании ионов Ba (II), в то время как более быстрое высвобождение с полным разложением также возможно при использовании ионов Ca (II) в качестве сшивающих агентов. Промежуточное положение между этими двумя может быть получено при использовании раствора, содержащего оба иона в заранее рассчитанных количествах.

Супрамолекулярные гидрогели, образованные циклодекстринами и полимерами, широко исследуются как биосовместимые, биоразлагаемые и контролируемые системы доставки лекарств. Супрамолекулярный гидрогель на основе биоразлагаемых триблок-сополимеров поликапролактон – полиэтиленгликоль – поликапролактон (PCL-PEG-PCL) и  $\gamma$ -циклодекстрина ( $\gamma$ -CD) был получен путем комплексообразования, как средство для инъекций с замедленным высвобождением инсулина. С использованием микроволнового излучения триблок-сополимер PCL-PEG-PCL был синтезирован методом полимеризации с раскрытием кольца. Высвобождение инсулина через систему гидрогелей изучалось *in vitro*. Результаты протонного ядерного магнитного резонанса и гелепроникающей хроматографии показали, что микроволновое облучение – простой и надежный метод синтеза сополимера PCL-PEG-PCL. Гелеобразование произошло в течение минуты. Инсулин был высвобожден до 80% в течение 20 дней. Супрамолекулярный гидрогель на основе комплексообразования триблочного сополимера PCL-PEG-PCL с  $\gamma$ -циклодекстрином представляет собой подходящую систему для обеспечения длительного высвобождения терапевтических белков с желаемой текучестью [38].

Christiane Damge и другие исследователи [39-41] разработали наночастицы инсулина, приготовленные из приемлемых полимеров: биоразлагаемый полимер, поли( $\epsilon$ -капро-лактон), используемый для изготовления резорбируемых нитей, и, второй, Eudragit® RS, полиметакриловый полимер, обычно используемый для рецептуры традиционных твердых дозировок (например, покрытие таблеток). Более того, этот последний полимер может способствовать мукоадгезии, например, как хитозан, благодаря его катионной природе. В этом анализе наночастицы были разработаны в основном для пептидов и белков в соответствии с методом двойной эмульсии [42].

Нагруженные инсулином наночастицы полилактид-ко-гликозида (ПЛГА), покрытые N-триметил хитозан-хлоридом (ТМХ) (НЧ Инс ТМХ-ПЛГА), были приготовлены в этом исследовании для одновременного устранения нескольких барьеров для перорального всасывания инсулина. Наночастицы Инс ТМХ-ПЛГА были приготовлены с использованием метода испарения двухэмульсионного растворителя. Стабильность и высвобождение инсулина наночастиц в смоделированных желудочно-кишечных жидкостях, содержащих ферменты, показали, что наночастицы ТМХ-ПЛГА способны частично защищать инсулин от деградации ферментов. При одновременном преодолении нескольких барьеров абсорбции всасывание перорального инсулина усиливается за счет наночастиц ТМХ-ПЛГА. Для перорального введения макромолекулярных терапевтических средств наночастицы ТМХ-ПЛГА могут быть многообещающим методом доставки лекарств [43].

Для инкапсуляции гормона инсулина была разработана полиэлектролитная комплексная система нано- и микрочастиц хитозан-пектин. Целью данной работы было получение небольших частиц для пероральной доставки инсулина без химических сшивающих агентов на основе природных и биоразлагаемых полисахаридов. Нано- и микрочастицы были разработаны с использованием хитозанов (с разной степенью ацетилирования: 15,0% и 28,8%) и растворов пектина при различных соотношениях зарядов и общего заряда. Высвобождение инсулина оценивали *in vitro* в моделированной желудочной и кишечной средах. Система была стабильной в различных средах, особенно в искусственной желудочной жидкости (pH 1,2). Анализ с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ТЕМ) показал частицы сферической формы при добавлении инсулина в систему. В моделированной кишечной жидкости (pH 6,8) контролируемое высвобождение инсулина происходило в течение 2 ч. Тесты *in vitro* показали, что предлагаемая система потенциально может использоваться в качестве лекарственного средства для перорального введения биоактивных пептидов [44].

Возможность перорального применения разбавленных растворов инсулина изучена в работе [45]. Результаты кратковременных и долговременных

экспериментов показывают снижение уровня глюкозы в крови животных при пероральном введении разбавленных растворов инсулина. Были измерены концентрации инсулина в тканях печени и крови в зависимости от способа введения препарата. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что в отличие от подкожных инъекций при пероральном введении инсулин поступает в кровоток через печень, реализуя правильное распределение в организме.

В исследовании [46] была выдвинута гипотеза, что если расстояние от частицы до кишечной стенки больше, то инсулин дольше подвергается действию протеолитических ферментов и тем самым повышается его вероятность гидролиза. Для проверки этой гипотезы измерено количество инсулина, прошедшее через стенки смоделированной тонкой кишки за 10, 20 и 30 мин как в отсутствие, так и в присутствии протеолитического фермента трипсина. Установлено, что количество инсулина, прошедшего через стенки сосуда зависит от внутреннего диаметра сосуда. При использовании сосуда диаметром 10 мм количество инсулина, прошедшего через стенки, было в 1,3-1,4 раза больше, чем для сосуда диаметром 25 мм.

Инсулин был иммобилизован в объеме полимерных гидрогелей, модифицированных ингибиторами протеолитических ферментов. Модификация ингибиторами протеиназ не привела к изменению биологической активности иммобилизованного инсулина. Динамика изменения концентрации глюкозы в крови животных показала, что действие пероральной формы инсулина аналогично действию инъекционного инсулина. Однако, имеются количественные различия, которые обусловлены эффективностью действия иммобилизованного инсулина, составляющие 60-70% от эффективности действия инъекционного инсулина [47].

Стабильность инсулина, иммобилизованного в полиакриламидным гидрогеле, модифицированным

овомукоидом при значениях pH 2,5; 4,3; 8,0, изучена в работе [48]. При значениях pH<3,8 и pH>5,5 инсулин самопроизвольно распространяется из гидрогеля, и доля выделившегося инсулина прямо пропорциональна соотношению объемов гидрогеля и окружающего раствора. В диапазоне 3,8<pH<5,5 наблюдается высокая концентрация инсулина в объеме гидрогеля по сравнению с концентрацией инсулина в окружающем растворе, что обусловлено электростатическим взаимодействием молекул инсулина и овомукоида.

Для возможности создания систем доставки инсулина проведены работы по разработке глюкоза-чувствительных гидрогелей из поли(винилового спирта) и 4-меркаптофенилборной кислоты. Образование полимерных гидрогелей происходит в окислительной среде (pH>9) при смешивании водных растворов данных реагентов, посредством образования дисульфидных связей и ковалентной связи между 1,2-диолами, которые присутствуют в функциональных группах поли(винилового спирта) и фенилборной кислоты. Дисульфидные связи в этих гидрогелях расщепляются в растворах L-глутатиона, а связи между 1,2-диолами поли(винилового спирта) и -В(ОН)<sub>2</sub> группами меркаптофенилборной кислоты расщепляются в присутствии D-глюкозы, проявляя чувствительность гидрогелей к глюкозе. Но полной деградации гидрогелей в растворах L-глутатиона и D-глюкозы не наблюдалось, так как поли(виниловый спирт) является полукристаллическим полимером и со временем может загустеть за счет межмакромолекулярных водородных связей [49].

Несмотря на многочисленные исследования по доставке белков на основе полимеров, полисахаридов, в клинические исследования из них переведены лишь немногие. Каждый разработанный из вышеупомянутых носителей для доставки белков, имеют свои недостатки и преимущества, которые приведены в таблице 1.

**Таблица 1** – Преимущества и ограничения систем, используемых для пероральной доставки белков

Система	Преимущества	Ограничения
Микроэмульсии	Не повреждают ткани кишечника [50]. Увеличивают защиту от ферментативной деградации [51].	Имеют ограничения разделения фаз [52]. Параметры окружающей среды (pH, температура) влияют на стабильность [53].
Липосомы	Низкая токсичность, биосовместимость, биоразлагаемость [54].	Высокая стоимость, низкая загрузка препарата [55].
Ингибиторы ферментов	Замедляют деградацию белков ферментами.	Могут повлиять на нормальное переваривание пищевых белков [56].
Полимерные мицеллы	Увеличивают абсорбцию лекарственного вещества в кишечнике [57].	Недостаточная устойчивость белков, включенных в полимерные мицеллы [58].
Наночастицы	Контролируемое высвобождение белков [59].	Низкая эффективность захвата белков [60].
Микросферы	Контролируемая и целевая доставка белков [61].	Вероятность резкого высвобождения лекарственного вещества [62].
Усилитель абсорбции	Повышают пероральную биодоступность белков [63].	Изменяют морфологию клеток [64].

#### 4. Методы инкапсуляции белков

Для получения альгинатно-хитозановых капсул используются такие методы как эмульгирование [65], распылительная сушка [66] и метод коацервации [67]. Более мелкие частицы могут быть получены методом эмульгирования. Капсулы, полученные распылительной сушкой, имеют более широкое распределение по размерам, что может привести к возможным побочным эффектам при практическом применении [68].

Разработаны микроструктурные системы частиц поли-ε-капролактона, загруженные человеческим инсулином, используя простой процесс двойной эмульсии в/м/в с последующим методом испарения растворителя. Этот состав состоит из сферических микрочастиц размером в среднем 10 мкм. Высвобождение *in vitro* показало двухфазную активность, такую как быстрое высвобождение, при котором примерно 50% препарата высвобождается через 2 ч и до 48 ч в течение длительного периода. Это исследование показывает, что упрощенный метод двойной эмульсии приводит к получению биосовместимых микрочастиц поли-ε-капролактона, нагруженных человеческим инсулином, которые могут быть использованы для дальнейшего улучшения оптимизированных препаратов инсулина с замедленным высвобождением для восстановления гормонального уровня [69].

Для улучшения гликемического контроля при лечении сахарного диабета 2 типа в работе [70] представлена наноэмульсионная система, позволяющая перорально доставлять терапевтический пептид – эксенатид. Наноэмульсионная система создана при 37°C и стабильна при температуре хранения 4°C. Несмотря на то, что терапевтическое действие такой системы уступает действию традиционной подкожной инъекционной терапии, наноэмульсионная система с масляной структурой обеспечивает защиту инкапсулированного пептида, представляя возможность доставленному препарату стимулировать высвобождение инсулина, оказывая антидиабетическое действие.

Послойные пленки (LbL) полиэлектролита могут быть получены путем альтернативного и многократного осаждения полимерных материалов на твердую поверхность посредством комплексообразования [71,72] и биологического сродства [73], водородных связей [74,75]. Приготовление LbL пленок методом комплексообразования основано на электростатическом притяжении положительно и отрицательно заряженных водорастворимых полимерных материалов. При адсорбции полианионов или поликатионов на заряженной поверхности образуется новая поверхность с противоположным зарядом, из-за сверхкомпенсации поверхностного заряда. Преимуществом метода комплексообразования является широкий выбор твердых подложек, на которые можно наносить пленку: полимеры, керамика, стекло, металлы. В случае получения пленок из

органических полимеров, стабилизация этих пленок происходит за счет водородных связей и гидрофобных взаимодействий.

Пленки *layer by layer* с водородными связями получают путем поочередного осаждения донорных и акцепторных полимеров. Особенностью LbL пленок с водородной связью является их pH – зависимость нестабильности, которая может быть использована для разработок лекарственных средств с pH регулируемым высвобождением [76].

Биологическое сродство основано на силе притяжения между двумя веществами, например антигеном и антителом. Для получения ферментных LbL пленок использовались антитела, авидин или стрептавидин и лектин. Авидин используется для мечения биополимеров и клеток, так как прочно связывается с ДНК, липидами, белками [77]. При использовании этих биологических материалов весь процесс можно проводить в физиологических условиях. Биологическое сродство лектина к сахарам также использовалось для конструирования ферментных LbL пленок [78].

Полые микрокапсулы также были сконструированы путем покрытия поверхности микросфер пленками LbL с последующим растворением основного материала [79,80]. Достоинством микрокапсул на основе пленки LbL является то, что весь рабочий процесс можно проводить в воде в мягких условиях (т. е. при нейтральном pH при комнатной температуре). Таким образом можно успешно получить микрокапсулы, содержащие нестабильные соединения, такие как белки и гены [81,82]. Инсулин может быть встроен в пленки LbL путем альтернативного осаждения полимеров и инсулина, чтобы обеспечить контролируемое pH высвобождение инсулина [83].

Метод LbL был использован для получения многофункциональных протеин-полимерных микрочастиц с улучшенной биодоступностью протеина (инсулина). Микрочастицы защищали инкапсулированный инсулин от агрессивной желудочной среды, содержащей пепсин. Исследования кинетики глюкозы крови и концентрации человеческого инсулина у диабетических крыс, показывают, что микрокапсулированный инсулин, поступивший в кровоток, может быть обнаружен через 1, 6 и 24 ч после перорального введения и эффективно снижает уровень глюкозы в крови у диабетических крыс [84].

Методами *layer-by-layer* адсорбции полиэлектролитов на микроагрегатах нерастворимого белково-альгинатного комплекса и обратного ионотропного гелеобразования получены частицы, содержащие хитозан и альгинат. Размер частиц, полученных методом обратного ионотропного гелеобразования, составлял 450-950 нм; размер частиц, полученных при послойной адсорбции полиэлектролитов на белок-альгинатном комплексе, составлял 30-40 мкм. Наночастицы, полученные ионотропным гелеобразованием, имели более низкое содержание белка, чем микрочастицы, полученные путем послойной адсорбции полиэлектролитов. Мукоадгезивные свойства положи-



тельно заряженных микрочастиц, покрытые хитозаном превосходили отрицательно заряженные нано- и микрочастицы, поверхность которых была в основном покрыта альгинатом. Независимо от метода приготовления полученные частицы были стабильны при pH 4-5 и высвобождали белок в кислой и нейтральной среде [85].

Инсулин содержащие микрокапсулы получали путем послойного (LbL) осаждения поли (аллиламингидрохлорида) (ПАГ) и полианионов, таких как поли (стиролсульфонат) (ПСС), поли (винилсульфат) (ПВС) и декстрансульфат (ДС) на инсулинсодержащем микрочастицах карбоната кальция ( $\text{CaCO}_3$ ). Ядро  $\text{CaCO}_3$  растворяли в разбавленном растворе HCl для получения инсулинсодержащих полых микрокапсул. Высвобождение инсулина из микрокапсул происходило быстрее при pH 9,0 и 7,4, чем в кислой среде растворов из-за разной плотности заряда ПАГ. Кроме того, высвобождение инсулина подавлялось, при конструировании микрокапсул с использованием ПАГ с более низким молекулярным весом, вероятно, из-за более толстой оболочки микрокапсул. Результаты показали потенциальное использование инсулинсодержащих микрокапсул для разработки систем доставки инсулина [86].

Метод коацервации жирных кислот был использован в исследовании [87] для разработки липидных носителей как средств пероральной доставки инсулина и его аналогов. По результатам экспериментов нагруженные инсулином липидные носители показали более высокую проникающую способность по сравнению со свободным пептидом. *Ex vivo* исследования показали поглощение инсулина в кишечнике из липидных носителей, а при исследовании *in vivo* наблюдалось снижение уровня глюкозы в крови у крыс.

Для улучшения абсорбции перорально вводимого инсулина в качестве носителей были использованы pH-чувствительные наногели метилметакрилата/метиленантарной кислоты [88]. Метод полиэлектролитного комплексообразования был использован для ввода инсулина в наногели. Была проведена лиофилизация наногелей в присутствии трегалозы. Стабильность лиофилизованных наногелей была исследована при  $5 \pm 3^\circ\text{C}$  в течение 3 месяцев, и по результатам исследований наногели оставались стабильными. Также первичная структура инсулина в наногелях была неповрежденной.

Также исследуются проблемы разработки биodeградируемых полимерных систем для создания пероральной формы инсулина [89] и отмечаются барьеры, существующие в желудочно-кишечном тракте для использования пероральной формы инсулина: деструктивное действие протеолитических ферментов, быстрое высвобождение инсулина в кишечнике и его всасывание через кишечную стенку.

При конструировании лекарственных препаратов перорального применения полисахаридные матрицы играют большую роль. Полисахаридные матрицы, на основе альгинатов и хитозана, не растворяются в кислой

среде желудка и не подвергаются ферментативному расщеплению в верхних отделах желудочно-кишечного тракта. В слабощелочной среде кишечника полисахаридный гидрогель начинает медленно растворяться. Скорость растворения гидрогеля зависит от состава матрицы. Изменяя состав матрицы, можно контролировать скорость высвобождения лекарственных веществ [90-92].

В качестве носителей перорального инсулина были приготовлены и исследованы три типа наночастиц: простые наночастицы альгината, наночастицы альгината – стеариновой кислоты и наночастицы альгината – с конъюгатом C18 [93]. Из них наночастицы альгинат-C18 показали улучшенное проникновение в слизь и низкий уровень токсичности, снижали уровень глюкозы и повысили уровень инсулина в крови. В результате добавления конъюгата C18 в альгинат, тенденция реабсорбции инсулина минимизировалась, так как активные группы COOH/COO- альгината были сопряжены с C18.

В исследовании [94] изучена система многофункциональных наночастиц на основе производных хитозана и гиалуроновой кислоты. Для разработки многофункциональных наночастиц применили технологию электростатической самосборки. Результаты исследований подтвердили, что модификация наночастиц повышает клеточную проницаемость и улучшает гипогликемический эффект.

Жирные кислоты и четвертичный аммоний были использованы для модификации наночастиц хитозана, нагруженных инсулином. Посредством гидрофобных и электростатических взаимодействий получены такие наночастицы как: N-(2-гирокси)-пропил-3-триметиламмоний хлорид хитозан – лауриновая кислота; N-(2-гирокси)-пропил-3-триметиламмоний хлорид хитозан – олеиновая кислота [95]. Оба типа полученных наночастиц улучшали гипогликемический эффект нагруженного инсулина, однако, наночастицы с олеиновой кислотой, имея более сильную гидрофобность поверхности, были эффективнее по сравнению с наночастицей лауриновой кислоты.

Для контролируемой доставки инсулина были сформированы ядра наночастиц хитозана и полиуретан-хитозана методом комплексной коацервации, и в качестве защитной оболочки поверх ядра методом ионного гелеобразования были сшиты альгинат и полиуретан-альгинат [96]. Эффективность включения полиуретана продемонстрировала заметное улучшение в исследованиях *in vitro* и *in vivo*: снижение уровня глюкозы у мышей с диабетом; эффективность инкапсуляции и устойчивое высвобождение инсулина; безопасность.

В системах *in vitro* и *in vivo* протестирована пероральная система доставки инсулина из наночастиц тиолированного хитозана. Результаты *in vitro* исследований показали устойчивый выброс инсулина из тиолированных наночастиц хитозана при pH 5,3. Флуоресцентные пятна, которые наблюдались *in vivo*, являются доказательством доставки

пероральной системы в желудочно-кишечный тракт. Данные *in vitro* и *in vivo* исследования свидетельствуют о потенциальном применении наночастиц тиолированного хитозана при лечении сахарного диабета [97].

Совместное введение Zn-инсулина с D-формой циклического пептида усиливало эффективность всасывания инсулина, не вызывало цитотоксичности и снижало уровень глюкозы в крови мышей [98]. Также Zn-инсулин был более устойчив к деградации в тонком кишечнике по сравнению с инсулином. Результаты исследований показывают, что циклическое производное натрийуретического пептида усиливает пероральную абсорбцию инсулина.

Влияние инъекционной и пероральной формы инсулина на крыс с диабетом было изучено в работе [99]. Данные этого исследования показали, что пероральное лечение наночастицами триметилхитозана, нагруженного инсулином, подобно инъекционной форме инсулина могут снижать уровень глюкозы в крови и снижает повреждение почек крыс. Результаты исследований [100] показали эффективность перорально вводимых наночастиц инсулина по сравнению с инъекционным инсулином в коррекции липидного обмена у крыс с сахарным диабетом. Однако, назначение пероральной формы инсулина больным с сахарным диабетом все еще требует дальнейшего изучения.

В дополнение к исследованиям по иммобилизации инсулина мы перечислили ниже исследования по доставке других лекарственных препаратов. Причина обзора и представления таких работ в данной статье заключается в том, что в этих исследованиях изучались вопросы контроля диффузии при транспорте биомолекул и регулирования ее скорости, уменьшения диффузии при фазовом переходе, регулирования дозировки препаратов, удаления биотоксинов, условия, необходимые для проникновения сополимеров в ткани человека и т.д., которые следует учитывать при разработке пероральной формы инсулина.

В исследованиях казахстанских ученых [101] альгинат кальция применили для иммобилизации противоопухолевого препарата циклофосфида. Кинетика высвобождения циклофосфида исследована *in vitro*. Показано, что модификация частиц альгината хитозаном обеспечивает снижение скорости высвобождения иммобилизованного вещества. Адсорбционный слой хитозана увеличивался с повышением концентрации хитозана.

В работе [102] для контроля диффузии иммобилизованного анальгетика АВ-101 были выбраны различные соотношения маннуриновой (М)/гулуриновой кислоты (G), содержащихся в альгинате натрия. По результатам исследований было установлено, что с увеличением маннуриновых единиц в альгинате происходит обширное набухание альгинатных шариков, так же результаты показали быструю диссоциацию М – блоков по сравнению с G – блоками.

Макропористые монолитные криогели были применены для удаления биотоксинов с использованием ковалентной иммобилизации биомолекул. Результаты продемонстрировали высокую адсорбционную способность полимерных криогелей к токсинам, тем самым показывая применимость этих материалов для иммобилизации биомолекул [103].

Авторы в исследовании [104] получили термочувствительный гидрогель, позволяющий регулировать скорость диффузии иммобилизованного антимикробного агента, контролируя температуру окружающей среды. Десорбция препарата была исследована методом равновесной адсорбции. При 22°C полувывсвобождение препарата составило 32 мин; высвобождение препарата объясняется набуханием гидрогеля и механизмом равновесной диффузии; при 37°C наблюдалось снижение диффузии из-за его фазового перехода из набухшего состояния в уплотненное состояние и период полувывсвобождения увеличился до 210 мин.

Наночастицы полилактида-со-гликолида были синтезированы для иммобилизации противотуберкулезного препарата в исследованиях авторов [105]. Образовавшиеся наночастицы показали удовлетворительные физико-химические характеристики, были стабильны во времени и оказывали пролонгированное действие препарата. Устойчивая суспензия, образовавшаяся при разбавлении наночастиц позволяет регулировать дозировку препарата.

Влияние комбинации магнитных и электрических полей на поведение полиэлектролитного гидрогеля исследовано в работе [106]. Под действием внешнего магнитного поля скорость сжатия полимерного геля увеличивалась по сравнению с действием только электрического тока. Такой эффект происходит, когда магнитное поле перпендикулярно электрическому току.

В работе [107] анестетик рихлокаин иммобилизован в шитые и линейные полимеры и определен состав образовавшегося полимер-лекарственного комплекса. Исследована устойчивость полимер-лекарственного комплекса при изменении термодинамического качества растворителя, ионной силы, температуры, pH среды. В интервале pH 2,0-6,5 коэффициент набухания комплекса увеличивается и комплекс постепенно разрушается, но дальнейшее увеличение pH снова вызывает сжатие геля. Оценена кинетика высвобождения лекарственного вещества из полимерной матрицы. Полное высвобождение лекарства достиглось через 144 ч. При pH = 8,0 рихлокаин высвобождается до 80% в течение 50 ч, при pH = 5,5 – в течение 260 ч.

Для доставки ципрофлоксацина были использованы пленки на основе хитозана и хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин). Пленки, содержащие ципрофлоксацин, показали хорошие антимикробные свойства в отношении грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* и грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*.

Высвобождение лекарственного препарата из пленок составило 42,2% для пленок хитозана и 56,1% для пленок хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин), демонстрируя потенциальное применение этих пленок в транспортировке лекарственных веществ [108].

Для доставки лекарств через слизистую оболочку в исследовании [109] были синтезированы носители на основе полисахаридов, образующие в присутствии ионов металлов прозрачные гели. Образовавшиеся гели могут связывать молекулы лекарственных средств, обеспечивая проникновение сополимера в ткани человека. Исследованные сополимеры желатиновой камеди с привитым поли(2-этил-2-оксазолином) обладают физиологической клеточной морфологией и могут быть использованы для доставки лекарственных препаратов.

### 5. Заключение

Для создания пероральной формы инсулина предприняты различные подходы, разработаны множество систем на основе биоразлагаемых полимеров, липидов, липосом, супромолекулярных гидрогелей. В обзоре приведены преимущества и ограничения этих систем, основные препятствия на пути создания пероральной формы инсулина. Приведены исследования по разработке микрочастиц, проявляющих защитный

эффект против деградации инсулина. В рассмотренных исследованиях было изучено влияние пероральной формы инсулина на животных с сахарным диабетом. Результаты исследований показали эффективность перорально вводимых частиц. Несмотря на обширные исследования по разработке перорального инсулина, существуют значительные проблемы, которые еще предстоит решить в области создания пероральной формы инсулина. К ним относятся необходимость повышения биодоступности иммобилизованного инсулина, повышения его физико-химической и биологической стабильности в желудочно-кишечном тракте, а также рассмотрение возможности дополнительного введения в инсулинсодержащие носители его альтернативных заменителей. Пероральная форма инсулина должна быть биосовместимой и биоразлагаемой, стабильной в желудочно-кишечном тракте.

### Благодарности

Ерлан Гульжан выражает благодарность за финансирование стипендии Ph.D. программы Министерству науки и высшего образования Республики Казахстан. Данная научно-исследовательская работа выполнена в КазНУ им. аль-Фараби по теме диссертации «Иммобилизация инсулина в полисахаридных гелях».

### Литература

- 1 Singh S., Hariharan K. Diabetic hindfoot problems // *Orthopaedics and trauma*. – 2016. – Vol.30, Is.1. – P.75–85.
- 2 Ravaine V., Ancla C., Catargi B. Chemically controlled closed-loop insulin delivery // *Journal of Controlled Release*. – 2008. – Vol.132, Is.1. – P.2–11.
- 3 Kalra S. Smart insulins // *The Journal of the Pakistan Medical Association*. – 2014. – Vol.64, Is.1. – P.24–26.
- 4 Sun L., Liu Z., Tian H., Le Z., Liu L. et al. Scalable Manufacturing of Enteric Encapsulation Systems for Site-Specific Oral Insulin Delivery // *Biomacromolecules*. – 2019. – Vol.20, Is.1. – P.528–538.
- 5 Sood A., Panchagnula R. Peroral route: An opportunity for protein and peptide drug delivery // *Chemical Reviews*. – 2001. – Vol.101, Is.11. – P.3275–3304.
- 6 Cone R.A. Barrier properties of mucus // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2009. – Vol.61, Is.2. – P.75–85.
- 7 Niu M., Lu Y., Hovgaard L., Guan P., Tan Y. et al. Hypoglycemic activity and oral bioavailability of insulin-loaded liposomes containing bile salts in rats: The effect of cholate type, particle size and administered dose // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2012. – Vol.81, Is.2. – P.265–272.
- 8 Fonte P., Araujo F., Silva C., Pereira C., Reis S. et al. Polymer-based nanoparticles for oral insulin delivery: Revisited approaches // *Biotechnology Advances*. – 2014. – Vol.33, Is.6. – P.1342–1354.
- 9 Elsayed A., Remawi M., Qinna N., Farouk A., Badwan A. Formulation and characterization of an oily-based system for oral delivery of insulin // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2009. – Vol.73, Is.2. – P.269–279.
- 10 Mohanraj V., Barnes T., Prestidge C. Silica nanoparticle coated liposomes: A new type of hybrid nanocapsule for proteins // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2010. – Vol.392, Is.1–2. – P.285–293.
- 11 Al-Remawi M., Elsayed A., Maghrabi I., Hamaidi M., Jaber N. Chitosan/lecithin liposomal nanovesicles as an oral insulin delivery system // *Pharmaceutical Development and Technology*. – 2017. – Vol.22, Is.3. – P.390–398.
- 12 Meneguín A., Beyssac E., Garrat G., Hsein H., Cury B. Retrograded starch/pectin coated gellan gum-microparticles for oral administration of insulin: A technological platform for protection against enzymatic degradation and improvement of intestinal permeability // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2018. – Vol.123. – P.84–94.
- 13 Nakamura K., Murray R., Joseph J., Peppas N., Morishita M. et al. Oral insulin delivery using P(MAA-g-EG) hydrogels: Effects of network morphology on insulin delivery characteristics // *Journal of Controlled Release*. – 2004. – Vol.95, Is.3. – P.589–599.
- 14 Sarmento B., Martins S., Ferreira D., Souto E. Oral insulin delivery by means of solid lipid nanoparticles // *International Journal of Nanomedicine*. – 2007. – Vol.2, Is.4. – P.743–749.

- 15 Gu Z., Dang T., Ma M., Tang B., Cheng H. et al. Glucose-responsive microgels integrated with enzyme nanocapsules for closed-loop insulin delivery // *ACS Nano*. – 2013. – Vol.7, Is.8. – P.6758–6766.
- 16 Chen M., Sonaje K., Chen K., Sung H. A review of the prospects for polymeric nanoparticle platforms in oral insulin delivery // *Biomaterials*. – 2011. – Vol.32, Is.36. – P. 9826–9838.
- 17 Deat-Laine E., Hoffart V., Cardot J., Subirade M., Beyssac E. Development and in vitro characterization of insulin loaded whey protein and alginate microparticles // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2012. – Vol.439, Is.1–2. – P.136–144.
- 18 Hebrard G., Hoffart V., Beyssac E., Cardot J., Alric M. et al. Coated whey protein/alginate microparticles as oral controlled delivery systems for probiotic yeast // *Journal of Microencapsulation*. – 2010. – Vol.27, Is.4. – P.292–302.
- 19 Hebrard G., Hoffart V., Cardot J., Subirade M., Beyssac E. Development and characterization of coated-microparticles based on whey protein/alginate using the Encapsulator device // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2013. – Vol.39, Is.1. – P.128–137.
- 20 Almeida A., Souto E. Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2007. – Vol.59, Is.6. – P.478–490.
- 21 Sonia T., Sharma C. Chitosan and its derivatives for drug delivery perspective // *Advances in Polymer Science*. – 2011. – Vol.243, Is.1. – P.23–54.
- 22 Sakloetsakun D., Perera G., Hombach J., Millotti G., Bernkop-Schnürch A. The impact of vehicles on the mucoadhesive properties of orally administrated nanoparticles: A case study with chitosan-4-thiobutylamidine conjugate // *AAPS PharmSciTech*. – 2010. – Vol.11, Is.3. – P.1185–1192.
- 23 Onishi H. Chitosan microparticles // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. – 2010. – Vol.20, Is.1. – P.15–22.
- 24 Bellich B., D'Agostino I., Semeraro S., Gamini A., Cesaro A. "The good, the bad and the ugly" of chitosans // *Marine Drugs*. – 2016. – Vol. 14, Is.99. – P.1–31.
- 25 Chandramouli V., Kailasapathy K., Peiris P., Jones M. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions // *Journal of Microbiological Methods*. – 2004. – Vol.56, Is.1. – P.27–35.
- 26 Zhou S., Deng X., Li X. Investigation on a novel core-coated microspheres protein delivery system // *Journal of Controlled Release*. – 2001. – Vol.75, Is.1–2. – P.27–36.
- 27 George M., Abraham T. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan – a review // *Journal of Controlled Release*. – 2006. – Vol.114, Is.1. – P.1–14.
- 28 Sogias I., Williams A., Khutoryanskiy V. Why is chitosan mucoadhesive? // *Biomacromolecules*. – 2008. – Vol.9, Is.7. – P.1837–1842.
- 29 Bernkop-Schnürch A., Kast C., Richter M. Improvement in the mucoadhesive properties of alginate by the covalent attachment of cysteine // *Journal of Controlled Release*. – 2001. – Vol.71, Is.3. – P. 277–285.
- 30 Манаенков О.В., Сидоров А.И., Молчанов В.П. Получение полислойных капсул на основе хитозана и солей альгиновой кислоты для инкапсулирования фосфолипидных мицелл // *Вестник МИТХТ*. – 2010. – №2. – С.76–81.
- 31 Похиленко В.Д., Дунайцев И.А., Перелыгин В.В., Лев И.О., Калмантаев Т.А. Иммобилизация антимикробных веществ бактериального происхождения в полимерные матрицы и оценка их свойств // *Современные проблемы науки и образования*. – 2016. – №6.
- 32 Cook M., Tzortzis G., Khutoryanskiy V., Charalampopoulos D. Layer-by-layer coating of alginate matrices with chitosan-alginate for the improved survival and targeted delivery of probiotic bacteria after oral administration // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2013. – Vol.1, Is.1. – P.52–60.
- 33 Cook M., Tzortzis G., Charalampopoulos D., Khutoryanskiy V. Microencapsulation of a synbiotic into PLGA/alginate multiparticulate gels // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2014. – Vol.466, Is.1–2. – P.400–408.
- 34 Nualkaekul S., Lenton D., Cook M., Khutoryanskiy V., Charalampopoulos D. Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in pomegranate juice // *Carbohydrate Polymers*. – 2012. – Vol.90, Is.3. – P.1281–1287.
- 35 Cook M., Tzortzis G., Charalampopoulos D., Khutoryanskiy V. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery // *Journal of Controlled Release*. – 2012. – Vol.162, Is.1. – P. 56–67.
- 36 Cook M., Tzortzis G., Charalampopoulos D., Khutoryanskiy V. Production and evaluation of dry alginate-chitosan microcapsules as an enteric delivery vehicle for probiotic bacteria // *Biomacromolecules*. – 2011. – Vol.12, Is.7. – P.2834–2840.
- 37 Bajpai M., Shukla P., Bajpai S. Ca (II)+Ba(II) ions crosslinked alginate gels prepared by a novel diffusion through dialysis tube (DTDT) approach and preliminary BSA release study // *Polymer Degradation and Stability*. – 2016. – Vol.134, – P. 22–29
- 38 Khodaverdi E., Heidari Z., Tabassi S., Tafaghodi M., Alibolandi M. et al. Injectable supramolecular hydrogel from insulin-loaded triblock PCL-PEG-PCL copolymer and  $\gamma$ -cyclodextrin with sustained-release property // *AAPS PharmSciTech*. – 2015. – Vol.16, Is.1. – P.140–149.
- 39 Socha M., Sapin A., Damge C., Maincent P. Influence of polymers ratio on insulin-loaded nanoparticles based on poly- $\epsilon$ -caprolactone and Eudragit RS for oral administration // *Drug Delivery*. – 2009. – Vol.16, Is. 8. – P.430–436.
- 40 De Araujo T., Teixeira Z., Barbosa-Sampaio H., Rezende L., Boschero A., Duran N. et al. Insulin-loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles: efficient, sustained and safe insulin delivery system // *Journal of Biomedical Nanotechnology*. – 2013. – Vol.9. – P.1098–1106.
- 41 Damge C., Socha M., Ubrich N., Maincent P. Poly( $\epsilon$ -caprolactone)/Eudragit nanoparticles for oral delivery of aspart-insulin in the treatment of diabetes // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2010. – Vol.99, Is.2. – P.879–889.
- 42 Damge C., Maincent P., Ubrich N. Oral delivery of insulin associated to polymeric nanoparticles in diabetic rats // *Journal of Controlled Release*. – 2007. – Vol.117, Is.2. – P.163–170.

- 43 Sheng J., Han L., Qin J., Ru G., Li R. et al. N-trimethyl chitosan chloride-coated PLGA nanoparticles overcoming multiple barriers to oral insulin absorption // *ACS Applied Materials and Interfaces*. – 2015. – Vol.7, Is.28. – P.15430–15441.
- 44 Maciel V., Yoshida C., Pereira S., Goycoolea F., Franco T. Electrostatic self-assembled chitosan-pectin nano- and microparticles for insulin delivery // *Molecules*. – 2017. – Vol.22, Is.10. – P.1707.
- 45 Валуев И.Л., Старосельцева Л.К., Валуев Л.И., Ванчугова Л.В. Препарат инсулина для регулирования уровня глюкозы в крови // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2019. – Т.53, №4. – С.20–23.
- 46 Valuev I., Vanchugova L., Obydennova I., Valuev L. Polymer insulin derivatives: application peculiarities // *Polymer Science, Series A*. – 2018. – Vol.60, Is.4. – P.491–494.
- 47 Платэ Н.А., Валуев Л.И., Старосельцева Л.К., Валуева Т.А., Ванчугова Л.В., Ульянова М.В. Макромолекулярные системы с инсулином в связи с проблемой диабета // *Высокомолекулярные соединения*. – 1994. – Т.36, №11. – С.1876–1879.
- 48 Валуев И.Л., Сытов Г.А., Валуев Л.И., Ванчугова Л.В., Пан А.В., Платэ Н.А. Стабильность препарата иммобилизованного инсулина при различных pH // *Вопросы медицинской химии*. – 2002. – Т.48, №6. – С.618–623.
- 49 Nurpeissova Z., Alimkhanova S., Mangazbayeva R., Shaikhutdinov Y., Mun G., Khutoryanskiy V. Redox- and glucose-responsive hydrogels from poly(vinyl alcohol) and 4-mercaptophenylboronic acid // *European Polymer Journal*. – 2015. – Vol.69. – P.132–139.
- 50 Cheng M., Wang J., Li Y., Liu X., Zhang X. et al. Characterization of water-in-oil microemulsion for oral delivery of earthworm fibrinolytic enzyme // *Journal of Controlled Release*. – 2008. – Vol.129, Is.1. – P.41–48.
- 51 Liu D., Kobayashi T., Russo S., Li F., Plevy S. et al. In vitro and in vivo evaluation of a water-in-oil microemulsion system for enhanced peptide intestinal delivery // *The AAPS Journal*. – 2013. – Vol.15, Is.1. – P.288–298.
- 52 Senthil K., Dhachinamoorthi D., Saravanan R., Gopal U., V.Shanmugam. Microemulsions as carrier for novel drug delivery: a review // *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. – 2011. – Vol.10, Is. 2. – P.37–45.
- 53 Madhav S., Gupta D. A review on microemulsion based system // *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* – 2011. – Vol.2, Is.8. – P.1888 – 1899.
- 54 Gupta S., Jain A., Chakraborty M., Sahni J., Ali J. et. al. Oral delivery of therapeutic proteins and peptides: a review on recent developments // *Drug Delivery*. – 2013. – Vol.20, Is.6. – P.237–246.
- 55 Catalan-Latorre A., Ravaghi M., Manca M., Caddeo C., Marongiu F. et al. Freeze-dried eudragit-hyaluronan multicompartiment liposomes to improve the intestinal bioavailability of curcumin // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2016. – Vol.107. – P.49–55.
- 56 Park K., Kwon I., Park K. Oral protein delivery: Current status and future prospect // *Reactive and Functional Polymers*. – 2011. – Vol.71, Is.3. – P.280–287.
- 57 Schipper N., Varum K, Artursson P. Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs. 1: Influence of molecular weight and degree of acetylation on drug transport across human intestinal epithelial (Caco-2) cells // *Pharmaceutical Research*. – 1996. – Vol.13, Is. 11. – P.1686–1692.
- 58 Alai M., Lin W, Pingale S. Application of polymeric nanoparticles and micelles in insulin oral delivery // *Journal of Food and Drug Analysis*. – 2015. – Vol.23, Is.3. – P.351–358.
- 59 Jannin V., Delleria E., Chevrier S., Chavant Y., Voutsinas C. et al. In vitro lipolysis tests on lipid nanoparticles: comparison between lipase/co-lipase and pancreatic extract // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2015. – Vol.41, Is.10. – P.1582–1588.
- 60 Boushra M., Tous S., Fetih G., Korzekwa K., Lebo D. et al. Development and evaluation of viscosity-enhanced nanocarrier (VEN) for oral insulin delivery // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2016. – Vol.511, Is.1. – P.462–472.
- 61 Yokoyama M. Polymeric micelles as drug carriers: their lights and shadows // *Journal of Drug Targeting*. – 2014. – Vol.22, Is.7. – P.576–583.
- 62 Mitragotri S., Burke P., Langer R. Overcoming the challenges in administering biopharmaceuticals: formulation and delivery strategies // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2014. – Vol.13, Is.9. – P.655–672.
- 63 Williams A., Barry B. Penetration enhancers // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2004. – Vol.56, Is.5. – P.603–618.
- 64 Brayden D., Mrsny R. Oral peptide delivery: prioritizing the leading technologies // *Therapeutic Delivery*. – 2011. – Vol.2, Is.12. – P.1567–1573.
- 65 Vandenberg G., De La Noue J. Evaluation of protein release from chitosan-agginate microcapsules produced using external or internal gelation // *Journal of Microencapsulation*. – 2001. – Vol.18, Is.4. – P.433–441.
- 66 Coppi G., Iannuccelli V., Leo E., Bernabei M., Cameroni R. Chitosan-alginate microparticles as a protein carrier // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2001. – Vol.27, Is.5. – P.393–400.
- 67 Mi F., Sung H., Shyu S. Drug release from chitosan-alginate complex beads reinforced by a naturally occurring cross-linking agent // *Carbohydrate Polymers*. – 2002. – Vol.48, Is.1. – P.61–72.
- 68 Wang L., Ma G., Su Z. Preparation of uniform sized chitosan microspheres by membrane emulsification technique and application as a carrier of protein drug // *Journal of Controlled Release*. – 2005. – Vol.106, Is.1–2. – P. 62–75.
- 69 Guerreiro L., Da Silva D., Girard-Dias W., Mascarenhas C., Miranda K. et al. Macromolecular confinement of therapeutic protein in polymeric particles for controlled release: Insulin as a case study // *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2017. – Vol.53, Is.2. – P.1–8.
- 70 Lin P., Chen K., Miao Y., Chen H., Lin K. et al. Phase-Changeable nanoemulsions for oral delivery of a therapeutic peptide: toward targeting the pancreas for antidiabetic treatments using lymphatic transport // *Advanced Functional Materials*. – 2019. – Vol.29, Is.13. – P. 1809015 (1–11).

- 71 Suzuki I., Egawa Y., Mizukawa Y., Hoshi T., Anzai J. Construction of positively-charged layered assemblies assisted by cyclodextrin complexation // *Chemical Communications*. – 2002. – Vol.2, Is.2. – P.164–165.
- 72 Wang Z., Feng Z., Gao C. Stepwise assembly of the same poly electrolytes using host-guest interaction to obtain microcapsules with multiresponsive properties // *Chemistry of Materials*. – 2008. – Vol.20, Is.13. – P.4194–4199.
- 73 Pallarola D., Bildering C., Pietrasanta L., Queralto N., Knoll W. et al. Recognition-driven layer-by-layer construction of multiprotein assemblies on surfaces: A biomolecular toolkit for building up chemoresponsive bioelectrochemical interfaces // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2012. – Vol.14, Is.31. – P.11027–11039.
- 74 Pavluchina S., Sukhishvili S. Polymer assemblies for controlled delivery of bioactive molecules from surfaces // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2011. – Vol.63, Is.9. – P.822–836.
- 75 Tomita S., Sato K., Anzai J. Layer-by-layer assembled thin films composed of carboxyl-terminated poly(amidoamine) dendrimer as a pH-sensitive nano-device // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2008. – Vol.326, Is.1. – P.35–40.
- 76 Sukhishvili S., Granick S., Layered. Erasable Polymer Multilayers Formed by Hydrogen-Bonded Sequential Self-Assembly // *Macromolecules*. – 2002. – Vol.35. – P. 301–310.
- 77 Elia G. Biotinylation reagents for the study of cell surface proteins // *Proteomics*. – 2008. – Vol.8 – P. 4012–4024.
- 78 Yao H., Hu N. pH-Switchable Bioelectrocatalysis of Hydrogen Peroxide on Layer-by-Layer Films Assembled by Concanavalin A and Horseradish Peroxidase with Electroactive Mediator in Solution // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 2010. – Vol.114. – P.3380–3386.
- 79 Antipov A., Sukhorukov G., Leporatti S., Radtchenko I., Donath E. et al. Polyelectrolyte multilayer capsule permeability control // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2002. – Vol.198–200. – P.535–541.
- 80 Dam H., Caruso F. Formation and degradation of layer-by-layer-assembled polyelectrolyte polyrotaxane capsules // *Langmuir*. – 2013. – Vol. 29, Is.24. – P.7203–7208.
- 81 Zuo Q., Lu J., Hong A., Zhong D., Xie S. et al. Preparation and characterization of PEM-coated alginate microgels for controlled release of protein // *Biomedical Materials*. – 2012. – Vol.7, Is.3. – P. 1–13.
- 82 Santos J., Nouri A., Fernandes T., Rodrigues J., Tomas H. Gene delivery using biodegradable polyelectrolyte microcapsules prepared through the layer-by-layer technique // *Biotechnology Progress*. – 2012. – Vol.28, Is.4. – P.1088–1094.
- 83 Yoshida K., Sato K., Anzai J. Layer-by-layer polyelectrolyte films containing insulin for pH-triggered release // *Journal of Materials Chemistry*. – 2010. – Vol.20, Is.8. – P.1546–1552.
- 84 Balabushevich N., Pechenkin M., Shibanova E., Volodkin D., Mikhalechik E. Multifunctional polyelectrolyte microparticles for oral insulin delivery // *Macromolecular Bioscience*. – 2013. – Vol.13, Is.10. – P.1379–1388.
- 85 Kirzhanova E., Pechenkin M., Demina N., Balabushevich N. Alginate-chitosan micro- and nanoparticles for transmucosal delivery of proteins // *Moscow University Chemistry Bulletin*. – 2016. – Vol.71, Is.2. – P.127–133.
- 86 Yoshida K., Ono T., Kashiwagi Y., Takahashi S., Sato K. pH-dependent release of insulin from layer-by-layer-deposited polyelectrolyte microcapsules // *Polymers (Basel)*. – 2015. – Vol.7, Is.7. – P. 1269–1278.
- 87 Muntoni E., Marini E., Ahmadi N., Milla P., Ghe C. et al. Lipid nanoparticles as vehicles for oral delivery of insulin and insulin analogs: preliminary ex vivo and in vivo studies // *Acta Diabetologica*. – 2019. – Vol.56, Is.12. – P.1283–1292.
- 88 Mudassir J., Darwis Y., Muhamad S., Ali Khan A. Self-assembled insulin and nanogels polyelectrolyte complex (Ins/NGs-PEC) for oral Insulin delivery: characterization, lyophilization and in-vivo evaluation // *International Journal of Nanomedicine*. – 2019. – Vol.14. – P.4895–4909.
- 89 Liu X., Li C., Lv J., Huang F., An Y. et al. Glucose and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Dual-Responsive Polymeric Micelles for the Self-Regulated Release of Insulin // *ACS Applied Bio Materials*. – 2020. – Vol. 3, Is.3. – P.1598–1606.
- 90 Ramadas M., Paul W., Dileep K., Anitha Y., Sharma C. Lipoinulin encapsulated alginate-chitosan capsules: Intestinal delivery in diabetic rats // *Journal of Microencapsulation*. – 2000. – Vol.17, Is.4. – P. 405–411.
- 91 Xing L., Dawei C., Liping X., Rongqing Z. Oral colon-specific drug delivery for bee venom peptide: Development of a coated calcium alginate gel beads-entrapped liposome // *Journal of Controlled Release*. – 2003. – Vol.93, Is.3. – P.293–300.
- 92 Dai C., Wang B., Zhao H., Li B., Wang J. Preparation and characterization of liposomes-in-alginate (LIA) for protein delivery system // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2006. – Vol.47, Is.2. – P.205–210.
- 93 Alfatama M., Lim L., Wong T. Alginate-C18 Conjugate Nanoparticles Loaded in Tripolyphosphate-Cross-Linked Chitosan-Oleic Acid Conjugate-Coated Calcium Alginate Beads as Oral Insulin Carrier // *Molecular Pharmaceutics*. – 2018. – Vol.15, Is.8. – P.3369–3382.
- 94 Chen Z., Han S., Yang X., Xu L., Qi H. et al. Overcoming Multiple Absorption Barrier for Insulin Oral Delivery Using Multifunctional Nanoparticles Based on Chitosan Derivatives and Hyaluronic Acid // *International Journal of Nanomedicine*. – 2020. – Vol.15. – P.4877–4898.
- 95 Li H., Zhang Z., Bao X., Xu G., Yao P. Fatty acid and quaternary ammonium modified chitosan nanoparticles for insulin delivery // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2018. – Vol.170. – P.136–143
- 96 Bhattacharyya A., Nasim F., Mishra R., Bharti R., Kundu P. Polyurethane-incorporated chitosan/alginate core-shell nanoparticles for controlled oral insulin delivery // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2018. – Vol.135, Is.26. – P.46365 (1–15).
- 97 Sudhakar S., Chandran S., Selvamurugan N., Nazeer R. Biodistribution and pharmacokinetics of thiolated chitosan nanoparticles for oral delivery of insulin in vivo // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2020. – Vol.150. – P.281–288.

- 98 Ito S., Torii Y., Chikamatsu S., Harada T., Yamaguchi S. et al. Oral coadministration of Zn–Insulin with D–form small intestine–permeable cyclic peptide enhances its blood glucose–lowering effect in mice // *Molecular Pharmaceutics*. – 2021. – Vol.18, Is.4. – P.1593–1603.
- 99 Ghavimishamekh A., Ziamajidi N., Dehghan A., Goodarzi M., Abbasipourkabar R. Study of insulin–loaded chitosan nanoparticle effects on TGF– $\beta$ 1 and fibronectin expression in kidney tissue of type 1 diabetic rats // *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. – 2019. – Vol.34, Is.4. – P.418–426.
- 100 Ghasemi H., Kheiripour N., Alipoor B., Ranjbar A., Pourfarjam Y. et al. The effects of synthetic orally administrated insulin nanoparticles in comparison to injectable insulin on the renal function markers of type 1–diabetic rats // *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. – 2020. – Vol.23. – P.1–9.
- 101 Grigor'ev D., Musabekov K., Musabekov N., Kusainova Zh. The immobilization of antineoplastic drug cyclophosphamide in calcium alginate // *Polymer Science, Series A*. – 2017. – Vol.59, Is.4. – P. 506–514.
- 102 Iskakov R., Batyrbekov E., Zhubanov B., Fomicheva Y., Yu V. et al. Immobilization of Analgetic AB–101 into Calcium Alginate Gels // *Eurasian Chemico–Technological Journal*. – 2017. – Vol.4, Is.4. – P.293.
- 103 Ingavle G., Baillie L., Zheng Y., Lis E., Savina I. et al. Affinity binding of antibodies to supermacroporous cryogel adsorbents with immobilized protein A for removal of anthrax toxin protective antigen // *Biomaterials*. – 2015. – Vol.50. – P.140–153.
- 104 Iskakov R., Sedinkin S., Mamytbekov G., Batyrbekov E., Bekturov E. et. al. Controlled Release of Farmazin from Thermosensitive Gels Based on Poly(N–vinylcaprolactam) // *Russian Journal of Applied Chemistry*. – 2004. – Vol.77, Is.2. – P.339–341.
- 105 Tazhbayev Ye., Galiyeva A., Zhumagaliyeva T., Burkeyev M., Kazhmuratova A. et al. Synthesis and characterization of isoniazid immobilized polylactide–co–glycolide nanoparticles // *Bulletin of the Karaganda University. "Chemistry" series*. – 2021. – Vol.101, Is.1. – P.61–70.
- 106 Suleimenov I., Sigitov V., Kudaibergenov S., Didukh A., Fryasinova T. et. al. Influence of combined magnetic and electric fields on the behaviour of polyelectrolyte hydrogel // *Polymer International*. – Vol.50, Is.2. – P.194–196.
- 107 Makysh G., Bimendina L., Kudaibergenov S. Interaction of richlocaïn with some linear and crosslinked polymers // *Polymer*. – 2002. – Vol.43, Is.16. – P.4349–4353.
- 108 Abilova G., Kaldybekov D., Irmukhametova G., Kazybayeva D., Iskakbayeva Z. et al. Chitosan/poly(2–ethyl–2–oxazoline) films with ciprofloxacin for application in vaginal drug delivery // *Materials*. – 2020. – Vol.13, Is.7. – P.1–12.
- 109 Lavikainen J., Dauletbekova M., Toleutay G., Kaliva M., Chatzinikolaidou M. et al. Poly(2–ethyl–2–oxazoline) grafted gellan gum for potential application in transmucosal drug delivery // *Polymers for Advanced Technologies*. – 2021. – Vol.32, Is.7. – P.2770–2780.

## References

- Singh S, Hariharan K (2016) *Orthopaedics and Trauma* 30:75–85. <http://doi.org/10.1016/j.mporth.2016.02.006>
- Ravaine V, Ancla C, Catargi B (2008) *J Control Release* 132:2–11. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.08.009>
- Kalra S (2014) *J Pak Med Assoc* 64:24–26.
- Sun L, Liu Z, Tian H, Le Z, Liu L, et al (2019) *Biomacromolecules* 20:528–538. <http://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b01530>
- Sood A, Panchagnula R (2001) *Chem Rev* 101:3275–3304. <http://doi.org/10.1021/cr000700m>
- Cone R (2009) *Adv Drug Deliver Rev* 61:75–85. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2008.09.008>
- Niu M, Lu Y, Hovgaard L, Guan P, Tan Y, et al (2012) *Eur J Pharm Biopharm* 81:265–272. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.02.009>
- Fonte P, Ararjo F, Silva C, Pereira C, Reis S, et al (2014) *Biotechnol Adv* 33:1342–1354. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.010>
- Elsayed A, Remawi M, Qinna N, Farouk A, Badwan A (2009) *Eur J Pharm Biopharm* 73:269–279. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2009.06.004>
- Mohanraj V, Barnes T, Prestidge C (2010) *Int J Pharm* 392:285–293. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.03.061>
- Al-Remawi M, Elsayed A, Maghrabi I, Hamaidi M, Jaber N (2017) *Pharm Dev Technol* 22:390–398. <http://doi.org/10.1080/10837450.2016.1213745>
- Meneguín A, Beyssac E, Garrait G, Hsein H, Cury B (2018) *Eur J Pharm Biopharm* 123:84–94. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.11.012>
- Nakamura K, Murray R, Joseph J, Peppas N, Morishita M, et al (2004) *J Control Release* 95:589–599. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2003.12.022>
- Sarmiento B, Martins S, Ferreira D, Souto E (2007) *Int J Nanomed* 2:743–749
- Gu Z, Dang T, Ma M, Tang B, Cheng H et al (2013) *ACS Nano* 7:6758–6766. <http://doi.org/10.1021/nn401617u>
- Chen M, Sonaje K, Chen K, Sung H (2011) *Biomaterials* 32:9826–9838. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.08.087>
- Deat-Laine E, Hoffart V, Cardot J, Subirade M, Beyssac E (2012) *Int J Pharm* 439:136–144. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.10.003>
- Hebrard G, Hoffart V, Beyssac E, Cardot J, Alric M, et al (2010) *J Microencapsul* 27:292–302. <http://doi.org/10.3109/02652040903134529>
- Hebrard G, Hoffart V, Cardot J, Subirade M, Beyssac E (2013) *Drug Dev Ind Pharm* 39:128–137. <http://doi.org/10.3109/03639045.2012.660950>
- Almeida A, Souto E (2007) *Adv Drug Deliver Rev* 59:478–490. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2007.04.007>
- Sonia T, Sharma C (2011) *Adv Polym Sci* 243:23–54. [http://doi.org/10.1007/12\\_2011\\_117](http://doi.org/10.1007/12_2011_117)



- 22 Sakloetsakun D, Perera G, Hombach J, Millotti G, Bernkop-Schnurch A (2010) *AAPS PharmSciTech* 11:1185–1192. <http://doi.org/10.1208/s12249-010-9479-8>
- 23 Onishi H (2010) *J Drug Deliv Sci Tec* 20:15–22. [http://doi.org/10.1016/S1773-2247\(10\)50002-9](http://doi.org/10.1016/S1773-2247(10)50002-9)
- 24 Bellich B, D'Agostino I, Semeraro S, Gamini A, Cesaro A (2016) *Mar Drugs* 14:1–31. <http://doi.org/10.3390/md14050099>
- 25 Chandramouli V, Kailasapathy K, Peiris P, Jones M (2004) *J Microbiol Meth* 56:27–35. <http://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.09.002>
- 26 Zhou S, Deng X, Li X (2001) *J Control Release* 75:27–36. [http://doi.org/10.1016/S0168-3659\(01\)00379-0](http://doi.org/10.1016/S0168-3659(01)00379-0)
- 27 George M, Abraham T (2006) *J Control Release* 114:1–14. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.04.017>
- 28 Sogias I, Williams A, Khutoryanskiy V (2008) *Biomacromolecules* 9:1837–1842. <http://doi.org/10.1021/bm800276d>
- 29 Bernkop-Schnurch A, Kast C, Richter M (2001) *J Control Release* 71:277–285. [http://doi.org/10.1016/S0168-3659\(01\)00227-9](http://doi.org/10.1016/S0168-3659(01)00227-9)
- 30 Manaenkov OV, Sidorov AI, Molchanov VP (2010) *Bulletin of Moscow Institute of Fine Chemical Technologies* 5:76–81. (In Russian)
- 31 Pokhilenko VD, Dunaitsev IA, Perelygin VV, Lev IO (2016) *Modern problems of science and education*. (In Russian). <http://doi.org/10.17513/spno.25472>
- 32 Cook M, Tzortzis G, Khutoryanskiy V, Charalampopoulos D (2013) *J Mater Chem B* 1:52–60. <http://doi.org/10.1039/C2TB00126H>
- 33 Cook M, Tzortzis G, Charalampopoulos D, Khutoryanskiy V (2014) *Int J Pharm* 466:400–408. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.03.034>
- 34 Nualkaekul S, Lenton D, Cook M, Khutoryanskiy V, Charalampopoulos D (2012) *Carbohydr Polym* 90:1281–1287. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.073>
- 35 Cook M, Tzortzis G, Charalampopoulos D, Khutoryanskiy V (2012) *J Control Release* 162:56–67. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.06.003>
- 36 Cook M, Tzortzis G, Charalampopoulos D, Khutoryanskiy V (2011) *Biomacromolecules* 12:2834–2840. <http://doi.org/10.1021/bm200576h>
- 37 Bajpai M, Shukla P, Bajpai S (2016) *Polym Degrad Stabil* 134:22–29. <http://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2016.09.027>
- 38 Khodaverdi E, Heidari Z, Tabassi S, Tafaghodi M, Alibolandi M, Tekie F, et al (2015) *AAPS PharmSciTech* 16:140–149. <http://doi.org/10.1208/s12249-014-0198-4>
- 39 Socha M, Sapin A, Damge C, Maincent P (2009) *Drug Deliv* 16:430–436. <http://doi.org/10.3109/10717540903223442>
- 40 De Araujo TM, Teixeira Z, Barbosa-Sampaio H, Rezende L, Boschero A, Duran N, et al (2013) *J Biomed Nanotechnol* 9:1098–1106. <http://doi.org/10.1166/jbn.2013.1607>
- 41 Damge C, Socha M, Ubrich N, Maincent P (2010) *J Pharm Sci* 99:879–889. <http://doi.org/10.1002/jps.21874>
- 42 Damge C, Maincent P, Ubrich N (2007) *J Control Release* 117:163–170. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.10.023>
- 43 Sheng J, Han L, Qin J, Ru G, Li R, et al (2015) *ACS Appl Mater Inter* 7:15430–15441. <http://doi.org/10.1021/acsami.5b03555>
- 44 Maciel V, Yoshida C, Pereira S, Goycoolea F, Franco T (2017) *Molecules* 22:1707. <http://doi.org/10.3390/molecules22101707>
- 45 Valuev IL, Staroseltseva LK, Valuev LI, Vanchugova LV (2019) *Chemical Pharmaceutical Journal* 53:20–23. <http://doi.org/10.30906/0023-1134-2019-53-4-20-23> (In Russian)
- 46 Valuev IL, Vanchugova L, Obydenova I, Valuev L (2018) *Polym Sci Ser A+* 60:491–494. <http://doi.org/10.1134/S0965545X18040120>
- 47 Plate NA, Valuev LI, Staroseltseva LK, Valueva TA, Vanchugova LV, Ulyanova MV (1994) *Macromolecular Compounds* 36:1876–1879. (In Russian)
- 48 Valuev IL, Sytov GA, Valuev LI, Vanchugova LV, Pan AV, Plate NA (2002) *Questions of Medicinal Chemistry* 48:618–623. (In Russian)
- 49 Nurpeissova Z, Alimkhanova S, Mangazbayeva R, Shaikhutdinov Y, Mun G, Khutoryanskiy V (2015) *Eur Polym J* 69:132–139. <http://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.06.003>
- 50 Cheng M, Wang J, Li Y, Liu X, Zhang X, et al (2008) *J Control Release* 129:41–48. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.03.018>
- 51 Liu D, Kobayashi T, Russo S, Li F, Plevy S, et al (2013) *AAPS J* 15:288–298. <http://doi.org/10.1208/s12248-012-9441-7>
- 52 Senthil K, Dhachinamoorthi D, Saravanan R, Gopal U, V.Shanmugam (2011) *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 10:37–45.
- 53 Madhav S, Gupta D (2011) *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2:1889–1899
- 54 Gupta S, Jain A, Chakraborty M, Sahni J, Ali J (2013) *Drug Deliv* 20:237–246. <http://doi.org/10.3109/10717544.2013.819611>
- 55 Catalan-Latorre A, Ravaghi M, Manca ML, Caddeo C, Marongiu F, et al (2016) *Eur J Pharm Biopharm* 107:49–55. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.06.016>
- 56 Park K, Kwon IC, Park K (2011) *Reactive and Functional Polymers* 71:280–287. <http://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2010.10.002>
- 57 Schipper N, Varum K, Artursson P (1996) *Pharm Res* 13:1686–1692. <http://doi.org/10.1023/A:1016444808000>
- 58 Alai M, Lin W, Pingale S (2015) *J Food Drug Anal* 23:351–358. <http://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.01.007>
- 59 Jannin V, Dellera E, Chevrier S, Chavant Y, Voutsinas C, et al (2015) *Drug Dev Ind Pharm* 41:1582–1588. <http://doi.org/10.3109/03639045.2014.972412>
- 60 Boushra M, Tous S, Fetih G, Korzekwa K, Lebo D et al. (2016) *Int J Pharm* 511:462–472. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.07.016>
- 61 Yokoyama M (2014) *J Drug Target* 22:576–583. <http://doi.org/10.3109/1061186X.2014.934688>
- 62 Mitragotri S, Burke P, Langer R (2014) *Nat Rev Drug Discov* 13:655–672. <http://doi.org/10.1038/nrd4363>
- 63 Williams A, Barry B (2004) *Adv Drug Deliver Rev* 56:603–618. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.025>



- 64 Brayden D, Mrsny R (2011) *Therapeutic Delivery* 2:1567–1573. <http://doi.org/10.4155/tde.11.114>
- 65 Vandenberg G, De La Nore J (2001) *J Microencapsul* 18:433–441. <http://doi.org/10.1080/02652040010019578>
- 66 Coppi G, Iannuccelli V, Leo E, Bernabei M, Cameroni R (2001) *Drug Dev Ind Pharm* 27:393–400. <http://doi.org/10.1081/DDC-100104314>
- 67 Mi F, Sung H, Shyu S (2002) *Carbohydr Polym* 48:61–72. [http://doi.org/10.1016/S0144-8617\(01\)00212-0](http://doi.org/10.1016/S0144-8617(01)00212-0)
- 68 Wang L, Ma G, Su Z (2005) *J Control Release* 106:62–75. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.04.005>
- 69 Guerreiro L, da Silva D, Girard-Dias W, Mascarenhas C, Miranda K, et al (2017) *Braz J Pharm Sci* 53(2). <http://doi.org/10.1590/s2175-97902017000216039>
- 70 Lin P, Chen K, Miao Y, Chen H, Lin K, et al (2019) *Adv Funct Mater* 29:1809015. <http://doi.org/10.1002/adfm.201809015>
- 71 Suzuki I, Egawa Y, Mizukawa Y, Hoshi T, Anzai J (2002) *Chem Commun* 2:164–165. <http://doi.org/10.1039/b108771c>
- 72 Wang Z, Feng Z, Gao C (2008) *Chemistry of Materials* 20:4194–4199. <http://doi.org/10.1021/cm800335f>
- 73 Pallarola D, Bildering C Von, Pietrasanta L, Queralto N, Knoll W, et al (2012) *Phys Chem Chem Phys* 14:11027–11039. <http://doi.org/10.1039/c2cp41225j>
- 74 Pavluchina S, Sukhishvili S (2011) *Adv Drug Deliver Rev* 63:822–836. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2011.03.017>
- 75 Tomita S, Sato K, Anzai J (2008) *J Colloid Interf Sci* 326:35–40. <http://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.06.054>
- 76 Sukhishvili S, Granick S, Layered (2002) *Macromolecules* 35:301–310. <https://doi.org/10.1021/ma011346c>
- 77 Elia G (2008) *Proteomics* 8:4012–4024. <https://doi.org/10.1002/pmic.200800097>
- 78 Yao H, Hu N (2010) *J Phys Chem B* 114:3380–3386. <https://doi.org/10.1021/jp912203d>
- 79 Antipov A, Sukhorukov G, Leporatti S, Radtchenko I, Donath E (2002) *Colloid Surface A* 198–200:535–541. [http://doi.org/10.1016/S0927-7757\(01\)00956-6](http://doi.org/10.1016/S0927-7757(01)00956-6)
- 80 Dam H, Caruso F (2013) *Langmuir* 29:7203–7208. <http://doi.org/10.1021/la304580x>
- 81 Zuo Q, Lu J, Hong A, Zhong D, Xie S et al. (2012) *Biomed Mater* 7:035012. <http://doi.org/10.1088/1748-6041/7/3/035012>
- 82 Santos J, Nouri A, Fernandes T, Rodrigues J, Tomas H (2012) *Biotechnol Progr* 28:1088–1094. <http://doi.org/10.1002/btpr.1576>
- 83 Yoshida K, Sato K, Anzai J (2010) *J Mater Chem* 20:1546–1552. <http://doi.org/10.1039/b918226h>
- 84 Balabushevich N, Pechenkin M, Shibanova E, Volodkin D, Mikhalechik E (2013) *Macromol Biosci* 13:1379–1388. <http://doi.org/10.1002/mabi.201300207>
- 85 Kirzhanova E, Pechenkin M, Demina N, Balabushevich N (2016) *Moscow University Chemistry Bulletin* 71:127–133. <http://doi.org/10.3103/S002713141602005X>
- 86 Yoshida K, Ono T, Kashiwagi Y, Takahashi S, Sato K, Anzai J-I (2015) *Polymers-Basel* 7:1269–1278. <http://doi.org/10.3390/polym7071269>
- 87 Muntoni E, Marini E, Ahmadi N, Milla P, Ghe C (2019) *Acta Diabetol* 56:1283–1292. <http://doi.org/10.1007/s00592-019-01403-9>
- 88 Mudassir J, Darwis Y, Muhamad S, Ali Khan A (2019) *Int J Nanomed* 14:4895–4909. <http://doi.org/10.2147/IJN.S199507>
- 89 Liu X, Li C, Lv J, Huang F, An Y, et al (2020) *ACS Appl Bio Mater* 3:1598–1606. <http://doi.org/10.1021/acsabm.9b01185>
- 90 Ramadas M, Paul W, Dileep K, Anitha Y, Sharma C (2000) *J Microencapsul* 17:405–411. <http://doi.org/10.1080/026520400405660>
- 91 Xing L, Dawei C, Liping X, Rongqing Z (2003) *J Control Release* 93:293–300. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2003.08.019>
- 92 Dai C, Wang B, Zhao H, Li B, Wang J (2006) *Colloid Surface B* 47:205–210. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2005.07.013>
- 93 Alfatama M, Lim L, Wong T (2018) *Mol Pharm* 15:3369–3382. <http://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00391>
- 94 Chen Z, Han S, Yang X, Xu L, Qi H, et al (2020) *Int J Nanomed* 15:4877–4898. <http://doi.org/10.2147/IJN.S251627>
- 95 Li H, Zhang Z, Bao X, Xu G, Yao P (2018) *Colloid Surface B* 170:136–143. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.05.063>
- 96 Bhattacharyya A, Nasim F, Mishra R, Bharti R, Kundu P (2018) *J Appl Polym Sci* 135:46365. <http://doi.org/10.1002/app.46365>
- 97 Sudhakar S, Chandran S, Selvamurugan N, Nazeer R (2020) *Int J Biol Macromol* 150:281–288. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.079>
- 98 Ito S, Torii Y, Chikamatsu S, Harada T, Yamaguchi S, et al (2021) *Mol Pharm* 18:1593–1603. <http://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c01010>
- 99 Ghavimishamekh A, Ziamajidi N, Dehghan A, Goodarzi M, Abbasalipourkabir R (2019) *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 34:418–426. <http://doi.org/10.1007/s12291-018-0771-9>
- 100 Ghasemi H, Kheiripour N, Alipoor B, Ranjbar A, Pourfarjam Y, et al (2020) *Iran J Basic Med Sci* 23:1–9.
- 101 Grigor'ev D, Musabekov K, Musabekov N, Kusainova Zh (2017) *Polym Sci Ser A+* 59:506–514. <http://doi.org/10.1134/S0965545X17040022>
- 102 Iskakov R, Batyrbekov E, Zhubanov B, Fomicheva Y, Yu V et al. (2017) *Eurasian Chem Technol J* 4:293. <http://doi.org/10.18321/ectj547>
- 103 Ingavle G, Baillie L, Zheng Y, Lis E, Savina I, Howell C et al (2015) *Biomaterials* 50:140–153. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.01.039>
- 104 Iskakov R, Sedinkin S, Mamyrbekov G, Batyrbekov E, Bekturov E et al (2004) *Russian Journal of Applied Chemistry* 77:339–341. <http://doi.org/10.1023/B:RJAC.0000030380.07016.fa>
- 105 Tazhbayev Ye, Galiyeva A, Zhumagaliyeva T, Burkeyev M, Kazhmuratova A, et al (2021) *Bulletin of the Karaganda University "Chemistry" series* 101:61–70. <http://doi.org/10.31489/2021Ch1/61-70>
- 106 Suleimenov I, Sigitov V, Kudaibergenov S, Didukh A, Fryasinova T, et al (2001) *Polym Int* 50:194–196. [http://doi.org/10.1002/1097-0126\(200102\)50:2<194::AID-PI596>3.0.CO;2-Z](http://doi.org/10.1002/1097-0126(200102)50:2<194::AID-PI596>3.0.CO;2-Z)

- 107 Makysh G, Bimendina L, Kudaibergenov S (2002) Polymer 43:4349–4353. [http://doi.org/10.1016/S0032-3861\(02\)00268-9](http://doi.org/10.1016/S0032-3861(02)00268-9)
- 108 Abilova G, Kaldybekov D, Irmukhametova G, Kazybayeva D, Iskabayeva Z, et al (2020) Materials 13:1709. <http://doi.org/10.3390/ma13071709>
- 109 Lavikainen J, Dauletbekova M, Toleutay G, Kaliva M, Chatzinikolaidou M, et al (2021) Polym Advan Technol 32:2770–2780. <http://doi.org/10.1002/pat.5298>