

УДК 547.458:577.1:544.77-148

*Л.А. Орел, С.І. Сінельников, Л.В. Кобріна, В.В. Бойко, С.В. Рябов***ПОЛІМЕРНІ МАТРИЦІ НА ОСНОВІ АЛЬГІНАТУ НАТРІЮ: СИНТЕЗ І КІНЕТИКА ВИВІЛЬНЕННЯ МЕТОПРОЛОЛУ****Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, м. Київ**

Одержано полімерні матриці на основі альгінату натрію, β -циклодекстину та β -циклодекстрин-сукцината з інкапсульованим лікарським препаратом метопрололом і методами ІЧ-спектроскопії та піролітичної мас-спектрометрії підтверджено їх структуру. Встановлено вплив β -циклодекстину та β -циклодекстрин-сукцината на кінетику вивільнення метопрололу з такого типу матриць. Так, при дослідженні кінетики вивільнення метопрололу було встановлено, що при наявності β -циклодекстину десорбція метопрололу відбувається повільніше відносно вихідного альгінату натрію в 1,5 рази. Проте, при введенні у матрицю β -циклодекстрин-сукцината спостерігається зворотний ефект – прискорення вивільнення метопрололу з полімерної системи. Методом ІЧ-спектроскопії було доведено наявність β -циклодекстину та його похідного у полімерних матрицях за характеристичними смугами поглинання β -циклодекстину та β -циклодекстрин-сукцината.

Ключові слова: полімерні матриці, альгінат натрію, β -циклодекстрин, кінетика, вивільнення, метопролол сукцинат.

Вступ

В останні десятиріччя постійно зростає інтерес і розширюються сфери використання природних полімерів у лікарських препаратах, косметичних засобах і в харчових продуктах. У цьому аспекті цікавими є альгінатні полімери. Альгінова кислота – це лінійний кополімер, що

містить блоки (1,4)-з'єднаних залишків β -D-мануранової (M) та α -L-гулуранової кислот (Г) (рис. 1). Альгінова кислота нерозчинна у воді (і в більшості органічних розчинників) і має здатність поглинати воду масою майже в 300 разів більше власної, що обумовлює її застосування як адсорбента [1–3].

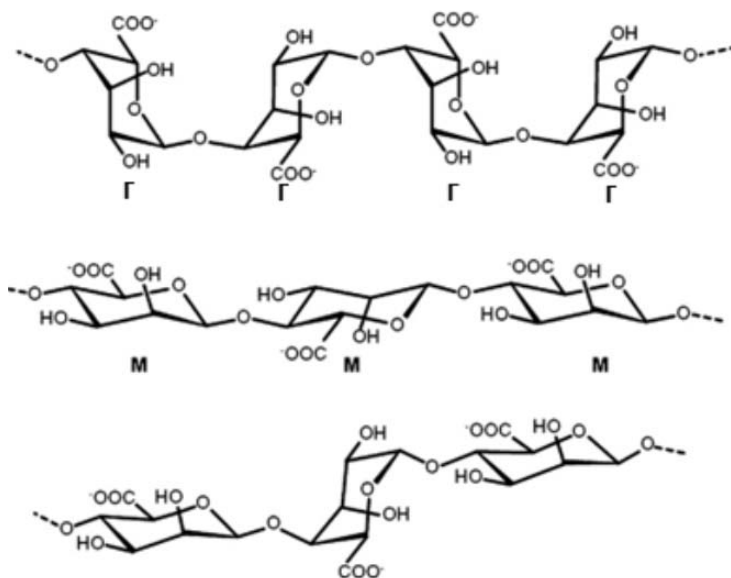


Рис. 1. Хімічна структура альгінової кислоти

© Л.А. Орел, С.І. Сінельников, Л.В. Кобріна, В.В. Бойко, С.В. Рябов, 2017

L.A. Orel, S.I. Sinelnikov, L.V. Kobrina, V.V. Boyko, S.V. Riabov

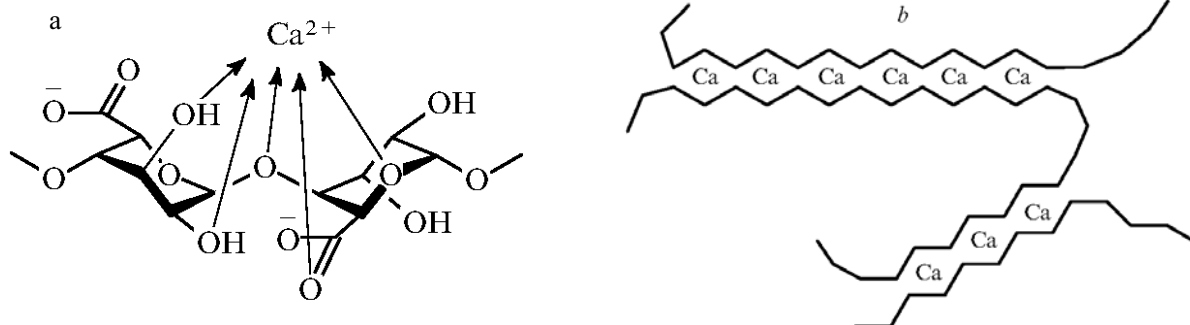


Рис. 2. Координація іонів кальцію залишками α -L-гулурунової кислоти в молекулі альгінату (а), функція цих іонів в забезпеченні міжмолекулярних взаємодій при гелеутворенні (б)

Цікавими об'єктами є деякі солі альгінової кислоти, так звані альгірати. Зазвичай альгірати одержують з бурих морських водоростей (лат. Phaeophyceae), ламінарії японської (лат. *Laminaria japonica* Aresch) та інших водоростей шляхом їх оброблення водними розчинами лугу, як правило, NaOH [4].

Безпосередньо альгінат натрію завдяки своїй водорозчинності, нетоксичності, високій загущуючій здатності має широке застосування в харчовій, медичній, косметичній, текстильній та інших галузях промисловості [5]. Великий інтерес дослідників до альгінату натрію пов'язаний з його здатністю формувати гідрогелі у водних розчинах при додаванні солей двовалентних металів. Практичне застосування знайшли солі кальцію, іони якого виступають в якості зшиваючих агентів, взаємодіючи з карбоксильними групами Г-блоків молекули альгінату (рис. 2). Координація з такими катіонами призводить до кооперативного зв'язування один з одним різних молекул полімеру, внаслідок чого утворюються іотропні гелі, які тримірно зшиті іонами кальцію [6–8].

Висока водоутримуюча здатність, відсутність токсичності та біодеградабельність альгінатних гідрогелів дають змогу розробляти на їх основі нові матеріали біотехнологічного, фармакологічного та медичного призначення [9–11]. Зокрема, такі гідрогелі можуть бути застосовані при створенні систем доставки лікарських препаратів [12–14].

З іншого боку, перспективними компонентами при створенні полімерних матриць для доставки ліків є β -циклодекстрин та його похідні, які є біосумісними та біодеградабельними сполуками і утворюють комплекси включення з різними органічними субстратами, що дозволяє значно підвищити розчинність лікарських препаратів, їх стабільність і біодоступність.

Тому метою нашої роботи було створення

полімерних матриць на основі альгінату натрію з β -циклодекстрином та його похідним – β -циклодекстрин-сукцинатом і дослідження процесу десорбції з них метопрололу сукцинату (хімічна назва: 1-[4-(2-мето-ксіетил) фенокси]-3-[(1-метилетил) аміно]-2-пропанол сукцинату (2:1), брутто формула – $C_{34}H_{56}N_2O_{10}$) (рис. 3).

Метопролол сукцинат є ліпофільним селективним блокатором β_1 -адренорецепторів без внутрішньої симпатоміметичної активності зі слабкою мембраностабілізуючою дією.

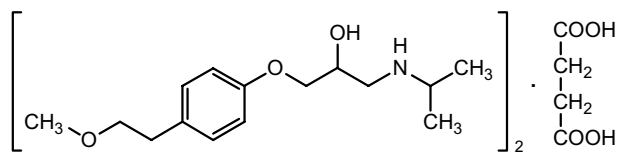


Рис. 3. Структурна формула метопрололу сукцинату (МТП)

Субстанція метопрололу сукцинату є білим кристалічним порошком, розчинним у метанолі та малорозчинним в етанолі і дихлорметані. Сам метопролол погано розчиняється у воді, тому його використовують у формі солі (сукцинату) (розчинність 300 мг/мл при 37°C). У такому вигляді він входить до складу таблетованих форм з уповільненим або контрольованим вивільненням.

Отже, на нашу думку, комбінація таких різних за своєю природою компонентів полімерної матриці може дати цікавий синергетичний ефект при вивільненні лікарського препарату МТП, який можна поширити і на інші об'єкти.

Експериментальна частина

Для виконання експериментальної роботи використовували такі реагенти: β -циклодекстрин (β -ЦД), молекулярної маси (ММ) 1135 фірми Cyclolab Ltd. (Угорщина).

Альгінат натрію (Алг.-Na), ММ мономерного фрагменту $C_6H_7O_6 \cdot Na$ 198; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ММ 147; β -циклодекстрин-сукцинат (β -ЦД-(сукц)₅),

середня ММ 1635 – всі реактиви фірми Aldrich.

Досліджуваний лікарський препарат (ЛП) – метопролол сукцинат ММ 652,8 (МТП).

УФ-спектри записували на UV-Vis-спектрофотометрі UV-2401 PC фірми Shimadzu (Японія) з діапазоном частот 190–800 нм.

ІЧ-спектри записували на ІЧ-спектрометрі з Фур'є-перетворенням Bruker Tensor-37 (Німеччина) з діапазоном частот 400–4000 cm^{-1} з роздільною здатністю 4 cm^{-1} .

Склад летких продуктів та інтенсивності їх виділення при піролізі досліджуваних зразків вивчали на мас-спектрометрі MX-1321, який забезпечує визначення компонентів газових сумішей у діапазоні масових чисел 1–4000. Маса зразків становила 0,25 мг.

Синтез полімерних матриць на основі Алг.-Na

Було одержано полімерні матриці з МТП при додаванні β -ЦД та β -ЦД-(сукц)₅ до Алг.-Na.

Спочатку зважували дві наважки МТП, кожен по 0,07 ммоль (0,05 г). Одну наважку МТП додавали до розчину, утвореного з 0,75 ммоль (0,15 г) Алг.-Na та 0,04 ммоль (0,05 г) β -ЦД. Іншу наважку додавали до 20 мл водного розчину $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ і ставили на магнітну мішалку. Утворений розчин Алг.-Na– β -ЦД–МТП крапля-

ми зі шприца додавали до розчину $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ –МТП протягом 20 хв. В процесі реакції утворювалися гранули, які поступово випадали з розчину.

Одержані гранули відфільтровували, потім декілька раз промивали водою для видалення сполук, які не прореагували, та висушували до сталої ваги при температурі 70°C. Вихід – 84%.

За такою ж методикою було одержано й інші матриці на основі Алг.-Na.

Схему синтезу полімерних матриць на основі Алг.-Na наведено на рис. 4.

Результати та їх обговорення

Дослідження хімічної будови полімерних матриць методом ІЧ-спектроскопії

Одержані сполуки охарактеризовано методом ІЧ-спектроскопії. У спектрах зшитого Алг.-Na з CaCl_2 та МТП окрім смуг поглинання альгінату ($\nu(\text{O}-\text{H}-)$) у діапазоні 3000–3600 cm^{-1} , $\nu(\text{C}-\text{H})$ 2920–2850 cm^{-1} ; 1614, 1417 cm^{-1} , які відносяться до $\nu_{\text{as}}(\text{COO}-)$ та $\nu_{\text{sym}}(\text{COO}-)$ карбоксил-іонів, а також смуги в області 1107–935 cm^{-1} , що пов'язана з коливаннями піранозного циклу альгінату) спостерігаються й смуги поглинання МТП ($\nu(\text{C}=\text{C})$ – 1513 cm^{-1} бензольного кільця та $\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ – 1246 cm^{-1}) у порівнянні з вихідним Алг.-Na. Також слід зазначити, що у спектрі

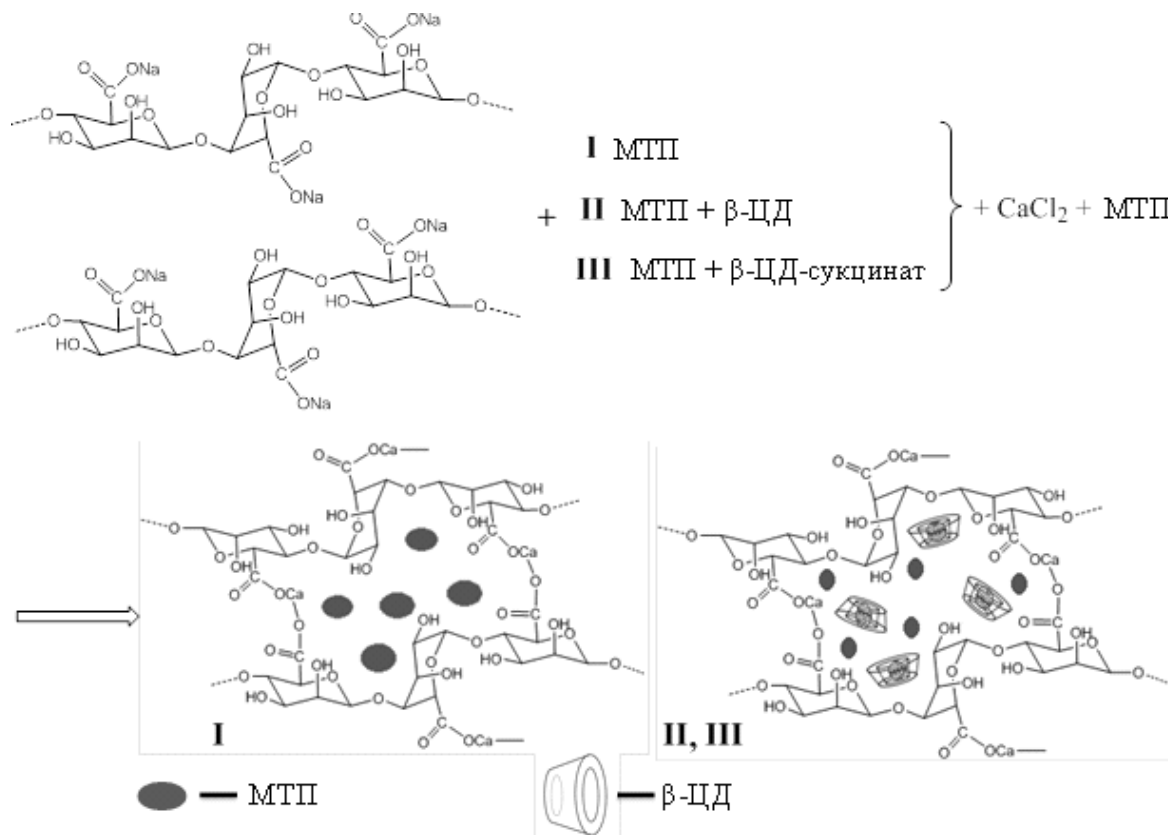


Рис. 4. Схема формування полімерних матриць на основі Алг.-Na

зшитого Алг.-Na з CaCl_2 та МТП смуга $\nu(\text{O}-\text{H}-)$ стає вужчою і зсувається у низькочастотну область. Це відбувається внаслідок участі гідроксильних і карбоксильних груп альгінату в утворенні хелатної структури з іонами кальцію і, як наслідок, послабленням водневого зв'язку між функціональними ОН-групами. При додаванні β -ЦД при зшиванні Алг.-Na з CaCl_2 та МТП у спектрі зростає смуга поглинання 1028 cm^{-1} та з'являється смуга поглинання 1156 cm^{-1} , які відповідають коливанням глюкозидного місточка і глюкозидного кільця макроциклу β -ЦД. У випадку додавання β -ЦД-(сукц)₅ при одержанні зшитого Алг.-Na з CaCl_2 та МТП окрім зазначених вище смуг поглинання додатково спостерігається плече в області $1731\text{--}1726\text{ cm}^{-1}$, що відноситься до $\text{C}=\text{O}$ -групи в сукцинаті β -ЦД.

Дослідження будови полімерних матриць методом піролітичної мас-спектрометрії

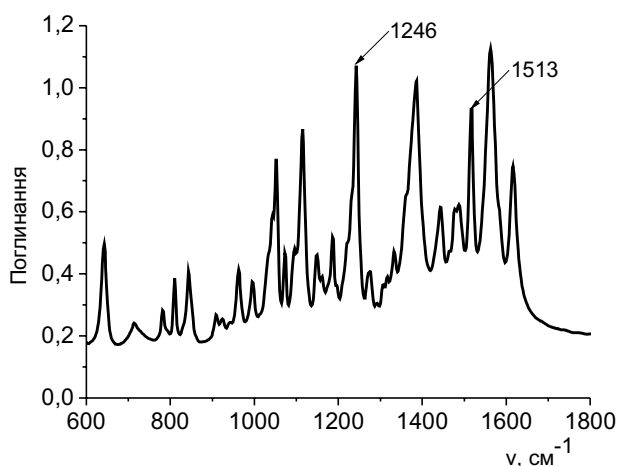


Рис. 5. ІЧ-спектр МТП

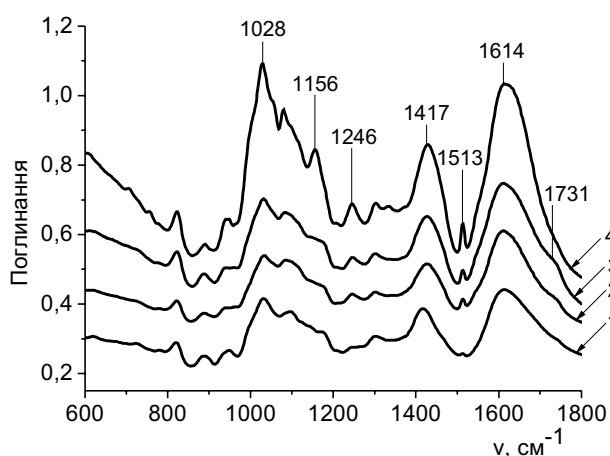


Рис. 6. ІЧ-спектри: 1 – Алг.-Na;
2 – Алг.-Na+ CaCl_2 +МТП;
3 – Алг.-Na+ CaCl_2 +МТП+ β -ЦД-(сукц)₅;
4 – Алг.-Na+ CaCl_2 +МТП+ β -ЦД

На рис. 7 наведено термограми полімерних матриць, які містять МТП.

Як видно з рис. 7, характер термодеструкції досліджуваних матриць майже однаковий: до 125°C загальний іонний струм виділення летких продуктів зростає, в інтервалі 50°C на всіх кривих спостерігається плато, далі в інтервалі температур $175^\circ\text{C}\text{--}300^\circ\text{C}$ термограми мають два екстремальних піки, а при температурі 380°C – ще один незначний пік виділення летких компонентів.

У таблиці наведено показники загального іонного струму та кількість летких продуктів при температурах максимуму газоутворення, а також десять основних іонних фрагментів та їх інтенсивність у мас-спектрах досліджуваних об'єктів.

Аналізуючи результати мас-спектрометрії, можна констатувати, що швидкість термодеструкції (тангенс кута нахилу кривих на ділянці від 25°C до 125°C), показник загального іонного струму та інтенсивність летких продуктів в мас-спектрі більші для матриць, які містять β -ЦД (зразок 2) або β -ЦД-(сукц)₅ (зразок 3). Тобто, матриця на основі Алг.-Na (зразок 1) є більш термостабільною, ніж з додаванням β -ЦД або β -ЦД-(сукц)₅.

Це можливо пов'язано з процесами утворення сітки альгінату. Так, при введенні β -ЦД через стеричні перешкоди тривимірною сіткою альгінату виявляється більш дефектною. Можливо, β -ЦД впливає на динаміку процесу утворення оболонки гранули. У випадку використання β -ЦД-(сукц)₅ відбувається утворення ще менш міцної структури в порівнянні з системою

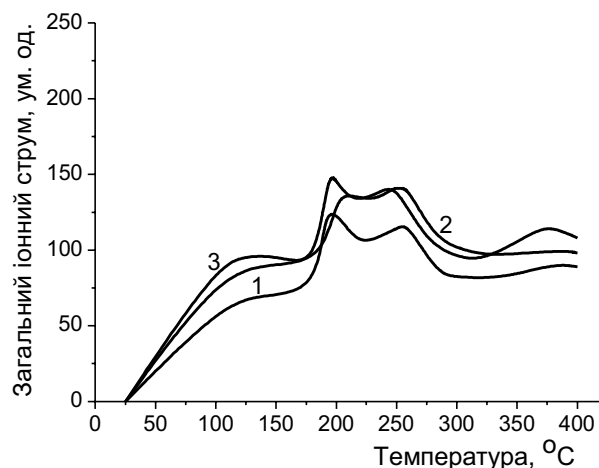


Рис. 7. Температурна залежність загального іонного струму виділення летких продуктів термодеструкції: Алг.-Na+ CaCl_2 +МТП (1); Алг.-Na+ CaCl_2 +МТП+ β -ЦД (2); Алг.-Na+ CaCl_2 +МТП+ β -ЦД-(сукц)₅ (3)

Основні іонні фрагменти у мас-спектрах досліджуваних об'єктів

m/z / I · 10 ⁴ , ум. од.									
Алг.-Na+CaCl ₂ +МТП (зразок 1), 200 ⁰ С, J=125 ум. од., n=37 од.									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
44/7,23	18/5,49	17/1,38	43/0,66	45/0,48	28/0,31	16/0,26	72/0,15	57/0,13	29/0,11
Алг.-Na+CaCl ₂ +МТП+β-ЦД (зразок 2), 200 ⁰ С, J=136 ум. од.									
44/8,95	18/6,35	17/2,17	43/1,10	45/0,70	28/0,44	16/0,30	95/0,25	96/0,24	60/0,21
Алг.-Na+CaCl ₂ +МТП+β-ЦД-(сукц) ₅ (зразок 3), 198 ⁰ С, J=145 ум. од.									
44/8,37	18/5,58	17/1,21	43/0,42	28/0,38	29/0,35	45/0,34	16/0,20	72/0,19	31/0,19
Алг.-Na+CaCl ₂ +МТП (зразок 1), 260 ⁰ С, J=116 ум. од.									
44/7,23	18/3,27	17/0,61	28/0,41	43/0,36	107/0,34	45/0,24	16/0,16	55/0,15	27/0,10
Алг.-Na+CaCl ₂ +МТП+β-ЦД (зразок 2), 260 ⁰ С, J=140 ум. од.									
44/8,74	18/4,77	17/1,12	126/0,97	28/0,74	107/0,70	43/0,59	45/0,38	16/0,32	152/0,25
Алг.-Na+CaCl ₂ +МТП+β-ЦД-(сукц) ₅ (зразок 3), 2500 ⁰ С, J=142 ум. од.									
44/8,46	18/3,45	17/0,69	43/0,42	107/0,38	59/0,29	16/0,26	45/0,23	29/0,16	57/0,14
Алг.-Na+CaCl ₂ +МТП (зразок 1), 380 ⁰ С, J=91 ум. од.									
18/0,852	44/0,778	28/0,385	43/0,294	41/0,248	27/0,198	107/0,182	17/0,163	55/0,160	67/0,138
Алг.-Na+CaCl ₂ +МТП+β-ЦД (зразок 2), 400 ⁰ С, J=98 ум. од.									
18/1,044	28/0,761	44/0,383	27/0,301	16/0,283	17/0,233	29/0,224	43/0,216	15/0,199	107/0,120
Алг.-Na+CaCl ₂ +МТП+β-ЦД-(сукц) ₅ (зразок 3), 380 ⁰ С, J=115 ум. од.									
18/0,854	28/0,322	44/0,299	43/0,297	41/0,166	27/0,153	17/0,136	55/0,123	67/0,121	107/0,117
МТП, 140 ⁰ С, J=192 ум. од.									
72/18,2	30/7,24	223/3,39	73/2,01	107/1,80	18/1,50	56/1,48	102/1,34	45/1,33	43/1,24

Алг.-Na+β-ЦД, що можна пояснити присутністю великих сукцинільних замісників в β-ЦД-(сукц)₅ (ще можна припустити, що карбоксильні групи β-ЦД-(сукц)₅ можуть певною мірою також брати участь в утворенні інтерполімерного комплексу за участі іонів Ca²⁺). Тому, формостійкість зразків 2 та 3 забезпечується завдяки сумарній дії двох форм структурування: за рахунок утворення хелатних комплексів між карбоксилатними аніонами і катіонами кальцію і за рахунок міжмолекулярних взаємодій.

В мас-спектрі МТП при температурі 140⁰С реєструються іонні фрагменти, що утворюються за рахунок деструкції сукцинатної групи, а саме ІФ з m/z=72 (CH-CH₂-COOH); 30 (C₂H₆); 17 (OH); 73 (CH₂-CH₂-COOH); 43 (CH₂CHO); 45 (COOH); 56 (C₂O₂), а також метопролольної складової: леткі з m/z=102 (C₄H₆O₃); 107 (CH₂-C₆H₄-OH); 149 (CH₃OSCH₂CH₂C₆H₄O); 152 (CH₃OSCH₂CH₂C₆H₄OH); 223 (C₁₃H₂₁O₂N); 252 (C₁₄H₂₂O₃N); 267 (C₁₅H₂₅O₃N); 268 (C₁₅H₂₆O₃N). В той же час в мас-спектрах матриць з МТП іонні фрагменти, що характерні для МТП відсутні (крім летких з m/z=107 та 152, які реєструються в спектрах зразків 1-3 при температурі 260⁰С та вище). Останнє може свідчити про утворення зв'язків між молекулами матриці та молекулами МТП.

Дослідження кінетики вивільнення МТП

ЛП вводили в полімерні матриці шляхом інкапсуляції (тобто, безпосередньо при синтезі матриці).

30 мг зразка із інкапсульованим ЛП заливали 4 мл дистильованої води. Після чого відбирали (відразу та через певні проміжки часу) проби по 3 мл, вимірювали концентрацію ЛП і повертали пробу до досліджуваного розчину. Відбір проб здійснювали протягом 24 год. Концентрацію МТП встановлювали за допомогою УФ-спектроскопії, розраховуючи кількість препарату в розчині за допомогою калібрувального графіка. Оптичну густину для обчислення концентрації вимірювали в максимумах поглинання в більш довгохвильовій області (МТП – 274 нм).

Отримані експериментальні дані свідчать про те, що при додаванні β-ЦД до Алг.-Na десорбція МТП відбувається повільніше відносно самого Алг.-Na в 1,5 рази, в той же час при додаванні β-ЦД-(сукц)₅ спостерігається зворотний ефект – прискорення вивільнення МТП з полімеру (рис. 8). Такий ефект може бути пояснений процесами утворення сітки Алг.-Na. Введення різних сполук в матрицю Алг.-Na по-різному впливає на її структуру. Так, при введенні β-ЦД вірогідно формується більш щільна матриця завдяки виникненню сильних міжмолекулярних взаємодій. Стосовно β-ЦД-(сукц)₅ можна зробити припущення, що за рахунок на-

явності в β -ЦД карбоксильних груп, які можуть брати участь в утворенні інтерполімерного комплексу, утворюється менш впорядкована структура, а при гелеутворенні міжмолекулярні взаємодії зменшуються.

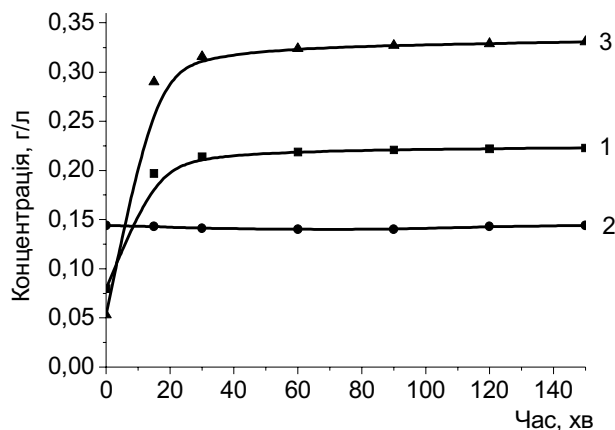


Рис. 8. Десорбція МТП: 1 – Алг.-Na+CaCl₂; 2 – Алг.-Na+CaCl₂+ β -ЦД; 3 – Алг.-Na+CaCl₂+ β -ЦД-(сукц)₅

Висновки

Таким чином, методом ІЧ-спектроскопії було доведено наявність β -ЦД та його похідного у полімерній матриці за характеристичними смугами поглинання β -ЦД та сукцинату. Результати досліджень методом мас-спектроскопії показали, що матриця на основі Алг.-Na є більш термостабільною, ніж з додаванням β -ЦД або β -ЦД-(сукц)₅. У мас-спектрах матриць з МТП іонні фрагменти, що характерні для МТП відсутні (крім летких з $m/z=107$ та 152 , які реєструються в спектрах зразків 1–3 при температурі 260°C та вище), що може свідчити про утворення зв'язків між молекулами матриці та молекулами МТП.

При дослідженні кінетики вивільнення МТП було встановлено, що при додаванні β -ЦД утворюється більш щільна матриця, за рахунок чого десорбція МТП з неї уповільнюється. В свою чергу, при додаванні β -ЦД-(сукц)₅ за рахунок наявності в його складі карбоксильних груп утворюється менш впорядкована структура матриці і тому вивільнення з неї, навпаки, прискорюється.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Tønnesen H.H., Karlsen J.* Alginate in drug delivery systems // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2002. – Vol.28. – P.621-630.
2. *George M., Abraham T.E.* Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs // *Journal of Controlled Release*. – 2006. – Vol.114. – P.1-14.
3. *Blandino A., Macias M., Cantero D.* Formation of calcium alginate gel capsules: influence of sodium alginate and CaCl₂ concentration on gelation kinetics // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 1999. – Vol.88. – P.686-689.
4. *Smidsrød O., Skjak-Brik G.* Alginate as immobilization matrix for cells // *Trends in Biotechnology*. – 1990. – Vol.8. – P.71-78.
5. *Физико-химические свойства, физиологическая активность и применение альгинатов – полисахаридов бурых водорослей / Хотимченко Ю.С., Ковалев В.В., Савченко О.В., Зиганшина О.А.* // *Биология моря*. – 2001. – Т.27. – № 3. – С.151-162.
6. *Усов А.И.* Альгиновые кислоты и альгинаты: методы анализа, определения состава и установления строения // *Успехи химии*. – 1999. – Т.68. – № 11. – С.1051-1061.
7. *Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model / Grant G.T., Morris E.R., Rees D.A., Smith P.J.C., Thom D.* // *FEBS Letters*. – 1973. – Vol.32. – P.195-198.
8. *Щипунов Ю.А., Конева Е.Л., Постнова И.В.* Гомогенные гели альгината: фазовое поведение и реологические свойства // *Высокомолекулярные соединения*. – 2002. – Т.44. – № 7. – С.1201-1211.
9. *Skjak-Braek G., Espevik T.* Application of alginate gels in biotechnology and biomedicine // *Carbohydr. Eur.* – 1996. – Vol.14. – P.19-25.
10. *Kshirsagar N.A.* Drug delivery systems // *Indian Journal of Pharmacology*. – 2000. – Vol.32. – P.54-61.
11. *Pandey R., Khuller G.K.* Chemotherapeutic potential of alginate-chitosan microspheres as anti-tubercular drug carriers // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2004. – Vol.53. – No. 4. – P.635-640.
12. *Sodium alginate: the wonder polymer for controlled drug delivery / Sachan N.K., Pushkar S., Jha A., Bhattacharya A.* // *Journal of Pharmacy Research*. – 2009. – Vol.2 – P.1191-1199.
13. *Alginate-based oral drug delivery system for tuberculosis: pharmacokinetics and therapeutic effects / Qurrat-ul-Ain, Sharma S., Khuller G.K., Garg S.K.* // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2003. – Vol.51. – P.931-938.
14. *Lee K.Y., Mooney D.J.* Alginate: properties and biomedical applications // *Progress in Polymer Science*. – 2012. – Vol.37. – P.106-126.

Надійшла до редакції 14.09.2017

POLYMER MATRICES BASED ON SODIUM ALGINATE: SYNTHESIS AND KINETICS OF THE RELEASE OF METOPROLOL

L.A. Orel, S.I. Sinelnikov, L.V. Kobrina, V.V. Boyko, S.V. Riabov
Institute of Macromolecular Chemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

The polymer matrices based on sodium alginate, β -cyclodextrin and β -cyclodextrin succinate were obtained by encapsulation and their structures were confirmed by means of IR-spectroscopy and pyrolysis mass spectrometry. The influence of β -cyclodextrin and β -cyclodextrin succinate on the release kinetics of metoprolol from these matrices was established. In the presence of β -cyclodextrin, desorption of metoprolol occurs 1.5 times slower as compared with the initial sodium alginate. However, the reverse effect (i.e. the acceleration of metoprolol release from the polymer) was observed after the introduction of β -cyclodextrin succinate. FT-IR-spectroscopy method revealed the presence of β -cyclodextrin and its derivative in the polymer matrices by the characteristic absorption bands of β -cyclodextrin and β -cyclodextrin succinate.

Keywords: polymer matrices; sodium alginate; β -cyclodextrin; kinetics; release; metoprolol succinate.

REFERENCES

1. Tønnesen H.H., Karlens J. Alginate in drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2002, vol. 28, pp. 621-630.
2. George M., Abraham T.E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan – a review. *Journal of Controlled Release*, 2006, vol. 114, pp. 1-14.
3. Blandino A., Macias M., Cantero D. Formation of calcium alginate gel capsules: influence of sodium alginate and CaCl_2 concentration on gelation kinetics. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 1999, vol. 88, pp. 686-689.
4. Smidsrød O., Skjak-Brik G. Alginate as immobilization matrix for cells. *Trends in Biotechnology*, 1990, vol. 8, pp. 71-78.
5. Khotimchenko Yu.S., Kovalev V.V., Savchenko O.V., Ziganshina O.A. Fiziko-khimicheskiye svoystva, fiziologicheskaya aktivnost' i primeneniye al'ginatov – polisakharidov burykh vodoroslei [Physicochemical properties, physiological activity and application of alginates – polysaccharides of brown algae]. *Biologiya Morya*, 2001, vol. 27, no. 3, pp. 151-162. (in Russian).
6. Usov A.I. Al'ginovyie kisloty i al'ginaty: metody analiza, opredeleniya sostava i ustanovleniya stroeniya [Alginic acids and alginates: methods of analysis, determination of composition and establishment of structure]. *Uspekhi Khimii*, 1999, vol. 68, no. 11, pp. 1051-1061. (in Russian).
7. Grant G.T., Morris E.R., Rees D.A., Smith P.J.C., Thom D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS Letters*, 1973, vol. 32, pp. 195-198.
8. Shchipunov Yu.A., Koneva Ye.L., Postnova I.V. Gomogennye geli al'ginata: fazovoye povedenie i reologicheskie svoystva [Homogeneous alginate gels: phase behavior and rheological properties]. *Vysokomolekulyarnye Soedineniya*, 2002, vol. 44, no. 7, pp. 1201-1211. (in Russian).
9. Skjak-Braek G., Espevik T. Application of alginate gels in biotechnology and biomedicine. *Carbohydrates in Europe*, 1996, vol. 14, pp. 19-25.
10. Kshirsagar N.A. Drug delivery systems. *Indian Journal of Pharmacology*, 2000, vol. 32, pp. 54-61.
11. Pandey R., Khuller G.K. Chemotherapeutic potential of alginate-chitosan microspheres as anti-tubercular drug carriers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2004, vol. 53, no. 4, pp. 635-640.
12. Sachan N.K., Pushkar S., Jha A., Bhattacharya A. Sodium alginate: the wonder polymer for controlled drug delivery. *Journal of Pharmacy Research*, 2009, vol. 2, pp. 1191-1199.
13. Qurrat-ul-Ain, Sharma S., Khuller G.K., Garg S.K. Alginate-based oral drug delivery system for tuberculosis: pharmacokinetics and therapeutic effects. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003, vol. 51, pp. 931-938.
14. Lee K.Y., Mooney D.J. Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 2012, vol. 37, pp. 106-126.