

НАНОКАПСУЛИРОВАНИЕ ВИТАМИНА D**Т.С. Гутнова, Д.В. Компанцев, А.А. Гвозденко, В.Н. Крамаренко, А.В. Блинов**

Таисия Скандарбековна Гутнова *, Дмитрий Владиславович Компанцев

Кафедра фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии, Фармацевтический факультет, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета Министерства Здравоохранения России, ул. Кирова, 33, Пятигорск, Российская Федерация, 357501

E-mail: tgutnova@mail.ru *, d.v.kompancev@pmedpharm.ru

Алексей Алексеевич Гвозденко, Василий Николаевич Крамаренко, Андрей Владимирович Блинов

Кафедра электроники и нанотехнологий, Инженерный институт, Северо-Кавказский федеральный университет, ул. Пушкина, 1, Ставрополь, Российская Федерация, 355017

E-mail: gvozdenko.1999a@gmail.com, cramarenkovasy@mail.ru

Основная задача планируемого эксперимента заключается в получение стабилизированной наноэмульсии витамина D₃ с последующим получением нанокапсул витамина D₃ с высоким биологическим потенциалом, а также анализ пространственных (размерных) характеристик, изучение устойчивости и стабильности полученного продукта. В представленном исследовании изучены физико-химические и технологические свойства субстанции витамина D и подобран оптимальный режим ультрадиспергирования. Экспериментально установлен состав и предложена технология получения лабораторных образцов нанокапсул. Изучены форма и размер полученных нанокапсул с витамином D. Основываясь на разработанной экспериментальной модели, получен оптимальный состав нанокапсул. Количественное содержание витамина D₃ в анализируемом образце нанокапсул составило 76,9% при времени выдержки 2,0 мин. Результаты исследования стабильности и устойчивости нанокапсул с витамином D доказали их устойчивость в течение 12 мес. Разрабатываемые нанокапсулы витамина D – это способ модификации субстанции витамина D для последующего получения таблеток с улучшенными биофармацевтическими свойствами. Подбор состава вспомогательных веществ, основанный на прогнозировании их свойств, а также технология получения нанокапсулы позволяет увеличить продолжительность терапевтического действия с одновременным снижением максимального уровня концентрации препарата в организме. Экспериментально подтверждена оптимальная композиция солюбилизаторов для достижения более полного, быстрого и адресного высвобождения действующего вещества в заданном отделе кишечника. Целью исследования является получение качественного лекарственного препарата с такими улучшенными свойствами, как надлежащая биодоступность, безопасность, низкая токсичность, отсутствие побочных эффектов и контролируемое высвобождение.

Ключевые слова: нанокапсулирование, наноэмульсия, средний гидродинамический радиус, ультрагомогенизатор, центрифугирование, ультразвуковая ванна, магнитная мешалка с подогревом

Для цитирования:Гутнова Т.С., Компанцев Д.В., Гвозденко А.А., Крамаренко В.Н., Блинов А.В. Нанокапсулирование витамина D. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2021. Т. 64. Вып. 5. С. 98–105**For citation:**Gutnova T.S., Kompantsev D.V., Gvozdenko A.A., Kramarenko V.N., Blinov A.V. Vitamin D nanocapsulation. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2021. V. 64. N 5. P. 98–105

VITAMIN D NANOCAPSULATION

T.S. Gutnova, D.V. Kompantsev, A.A. Gvozdenko, V.N. Kramarenko, A.V. Blinov

Taisiya S. Gutnova *, Dmitry V. Kompantsev

Department of Pharmaceutical Technology with a Course in Medical Biotechnology, Faculty of Pharmacy,
Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - a branch of the Volgograd State Medical University, Kirov st.,
33, Pyatigorsk, 357501, Russia

E-mail: tgutnova@mail.ru *, d.v.kompancev@pmedpharm.ru

Alexey A. Gvozdenko, Vasily N. Kramarenko, Andrey V. Blinov

Department of Electronics and Nanotechnology, Engineering Institute, North Caucasus Federal University, Push-
kin st., 1, Stavropol, 355017, Russia

E-mail: gvozdenko.1999a@gmail.com, cramarenkovasy@mail.ru

The main objective of the planned experiment is to obtain a stabilized nanoemulsion of vitamin D₃, followed by obtaining nanocapsules of vitamin D₃ with a high biological potential, as well as to analyze the spatial (dimensional) characteristics, to study the stability and stability of the resulting product. In the presented study, the physicochemical and technological properties of the vitamin D substance were studied and the optimal ultradisersion mode was selected. The composition is experimentally established and a technology for obtaining laboratory samples of nanocapsules is proposed. The shape and size of the obtained nanocapsules with vitamin D were studied. Based on the developed experimental model, the optimal composition of nanocapsules was obtained. The quantitative content of vitamin D₃ in the analyzed sample of nanocapsules was 76.9% with a holding time of 2.0 min. The results of studying the stability and stability of vitamin D nanocapsules proved their stability for 12 months. The developed vitamin D nanocapsules are a way of modifying the vitamin D substance for the subsequent production of tablets with improved biopharmaceutical properties. The selection of the composition of excipients based on the prediction of their properties, as well as the technology for producing nanocapsules, allows to increase the duration of the therapeutic effect while simultaneously reducing the maximum concentration of the drug in the body. The optimal composition of solubilizers for achieving a more complete, rapid and targeted dissolution of the active substance in a given part of the intestine has been experimentally confirmed. The aim of the study is to obtain a quality drug with improved properties such as adequate bioavailability, safety, low toxicity, no side effects and controlled release.

Key words: nanocapsulation, nanoemulsion, average hydrodynamic radius, ultrahomogenizer, centrifugation, ultrasonic bath, heated magnetic stirrer

ВВЕДЕНИЕ

Современные знания о роли монотерапии витамина D сформировали устойчивую потребность в монопрепарате витамина D с контролируемым высвобождением и высокой биодоступностью [1-7]. Продукты, обладающие такими параметрами в полном объеме, на фармацевтическом рынке отсутствуют.

Прием высоких доз витамина ограничен, так как холекальциферол является токсичным соединением: обладает низкой биоадсорбцией и кумулятивными свойствами. Применение витамина D в повышенных концентрациях требует создания «умной» лекарственной формы [8-14]. Обеспечить введение больших доз витамина D с минимальной

вероятностью развития токсического эффекта возможно за счет создания наноструктурированной активной матрицы, внутри которой будет заключена активная субстанция витамина.

Для достижения более полного и быстрого растворения действующего вещества были подобраны вспомогательные вещества, обеспечивающие структурно-механические и медико-биологические свойства лекарственной формы [15-17]. Нанокapsулы должны быть химически стабильны, биоактивны, биосовместимы, защищать инкапсулированное вещество от внешних воздействий, выдерживать технологические воздействия (смешивание, прессование).

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

По результатам научно-информационного поиска изготовление нанокапсул проводили высокоэффективным физическим методом – как наиболее оптимальным [18-22]. Решение технической задачи достигается способом получения нанокапсул витамина D₃, характеризующимся тем, что в качестве оболочки нанокапсул используется твин-80, а в качестве ядра – масляный концентрат витамина D₃ при получении нанокапсул путем механической фрагментации масляной фазы в водной фазе в присутствии ПАВ. Очень маленький размер масляных частиц достигается посредством пропускания через гомогенизатор высокого давления.

Предварительно готовили масляный концентрат витамина D₃ с использованием следующей технологии:

1. Все описываемые манипуляции проводили в Перчаточном боксе Sanplatec модель DX-2 для работы в среде инертного газа;

2. Лабораторная посуда, измерительные приборы и реактивы загружались в бокс через центральное окно;

3. По окончании загрузки окно герметично закрывалось, воздух из рабочей зоны откачивался вакуумным насосом до уровня разряжения 0,08 Мпа;

4. После этого в рабочую зону начинал подаваться инертный газ (азот) до уровня избыточности. Далее открывался вентиль, сопряженный с прецизионным моноблочным газоанализатором кислорода OMD-507 компании Southland Sensing. В системе создавалось избыточное давление, которое вытесняло остаток атмосферного воздуха из системы. При достижении содержания кислорода в вытесняемой атмосфере до значения менее 10% вентиль закрывали;

5. В мерный стакан вносят 86,5 г C8/C10 триглицерида и 1 г витамина Е (токоферола ацетат);

6. Через вакуумный шлюз, предварительно продутый азотом, в рабочую зону бокса вносят упаковку с субстанцией витамина D₃ (40 млн МЕ/г). Отвешивают на весах 12,5 г. Отвешенное количество субстанции добавляют в мерный стакан при перемешивании стеклянной палочкой без нагрева до полного растворения, переливают в банку темного стекла. Перед закрытием банки производят дополнительную продувку азотом в течение 2 мин используя гибкий шланг, введенный в рабочую зону бокса.

Наноэмульсию получают путем перемешивания компонентов при комнатной температуре в

химическом стакане с использованием ультрагомогенизатора при оборотах вала 2000 об/мин, время экспозиции 5 мин.

Полученную наноэмульсию сушат на лиофильной сушилке. Это кратчайшее время сушки при сохранении всех критических качественных характеристик лиофилизированного продукта. На первом этапе сублимационной сушки образцы наноэмульсии замораживают до низкой температуры (-60 °C) и в открытой таре помещают в рабочую камеру устройства на 2 ч. На втором этапе сушки происходит непосредственное удаление льда или кристаллов растворителя из замороженного раствора путем создания высокого вакуума. За счет разности парциального давления вода намораживается на змеевике конденсора [23]. В течение 1,5 ч происходит удаление остаточной влаги, и получают порошок нанокапсул витамина D₃.

Размер нанокапсул определяют методом фотонно-корреляционной спектроскопии с дальнейшей компьютерной обработкой данных. Перед исследованием каждый образец разбавляют в 50 раз бидистиллированной водой.

Форму нанокапсул определяли на электронном сканирующем микроскопе «QUANTA FEG 650». Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) является одним из наиболее широко используемых методов для диагностики наноматериалов и наноструктур. Предел разрешения сканирующего электронного микроскопа приближается к нескольким нанометрам, а увеличение легко варьируется от ~10 до более 300000 [24-25].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследования вероятности образования комплекса между ВМС и молекулой витамина D₃ был реализован следующий алгоритм. Для построения квантово-механического образования комплекса брали репрезентативный участок молекулы следующих полимеров:

- 2-гидрокси-β-циклодекстрина;
- альгината натрия;
- натрий карбоксиметилцеллюлозы;
- поливинилпирролидона;
- пектина;
- этилцеллюлозы;
- макрогола.

Трехмерные модели молекул указанных выше полимеров строили в среде программы HyperChem 8. Оптимизацию геометрии проводили методом MM+, затем полуэмпирическими методами RM1. Аналогичная операция была проведена

для молекулы витамина D₃. Затем каждую из молекул мономеров помещали рядом с витамином D₃ и также проводили оптимизацию геометрии методом RM1. В последующем для каждого из комплексов были взяты периодические граничные условия с добавлением водного окружения с минимальной дистанцией между растворителем и растворенными атомами – 2,3Å.

Далее проводили вычисление молекулярной динамики для каждого комплекса. В процессе моделирования была применена имитация отжига. Параметры моделирования:

- ✓ начальная температура = 500 K,
- ✓ конечная температура = 298 K,
- ✓ шаг температуры = 1 K,
- ✓ время моделирования = 1000 пс,
- ✓ шаг моделирования = 0,001 пс.

В результате моделирования было определено, что каждые из мономеров способны образовывать комплексы с витамином D₃ в водной среде, но для выявления образования наибольшего числа водородных связей для каждого комплекса, исследование продолжили с использованием программы ORCA 4.1. Оптимизация геометрии молекул полимеров и витамина D₃ производилась методом теории функционала плотности (UB3LYP) с базисными функциями 3-21G*. Колебательный анализ и расчет энергии Гиббса (табл. 1) производились при помощи теории функционала плотности (UB3LYP) с использованием набора базисных функций 6-311G**.

Из результатов видно, что наименьшее количество водородных связей и, соответственно, прочность комплекса меньше в системах витамина D₃ с пектином, макроголом, поливинилпирролидо-

ном и натрий карбоксиметилцеллюлозой, а наибольшее – с 2-гидрокси-β-циклодекстрином, альгинатом натрия и этилцеллюлозой.

Для получения наноэмульсии методом диспергирования в несмешивающихся жидкостях необходимо наличие двух фаз – гидрофильной и гидрофобной. При подборе состава расплава – будущей оболочки нанокapsул изучены следующие ингредиенты: воск эмульсионный, воск микрокристаллический, воск пчелиный, камедь и пектин в различных соотношениях по отношению к масляной фазе (табл. 2). В качестве дисперсионной среды выбрана вода очищенная, так как для получения эмульсии «масло/вода» необходимо наличие гидрофильной диспергируемой жидкости.

Образцы в течение 1 мес. хранили при температуре +4 °C, оценивали визуально их устойчивость и стабильность. Образцы под шифрами 3.05.07; 4.05.07; 6.05.07 оказались неустойчивыми (рис. 1, 2, 3) и были исключены из дальнейшего плана эксперимента.

Таблица 1

Рассчитанные энергии Гиббса образования комплексов витамина D₃ с полимерами
Table 1. Calculated Gibbs energies for the formation of complexes of vitamin D₃ with polymers

Комплексы с витамином D ₃	Энергия Гиббса, кДж/моль
2-гидрокси-β-циклодекстрин	-5353,65
альгинат натрия	-4966,88
этилцеллюлоза	-2776,11
натрий карбоксиметилцеллюлоза	-1987,63
поливинилпирролидон	-1180,90
макрогол	-392,88
пектин	-18,966

Таблица 2

Составы модельных образцов наноэмульсий
Table 2. Compositions of model samples of nanoemulsions

Состав/шифр	1.05.07	2.05.07	3.05.07	4.05.07	5.05.07	6.05.07
Витамин D3 (концентрат)	5	5	5	5	5	5
Коллифор HS15	3				10	
Гидроксипропил-β-циклодекстрин		3				
Камедь					1	
Твин-80	3	1	1	2	3	3
Воск эмульсионный		2		2		
Воск микрокристаллический			3			
Пектин						5
Воск пчелиный			5			
Воды очищенной	До 100%	До 100%	До 100%	До 100%	До 100%	До 100%

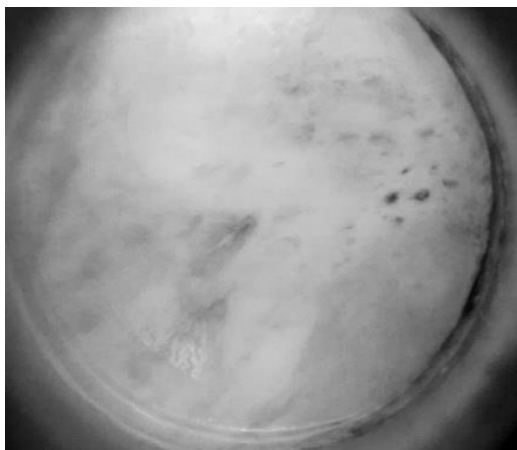


Рис. 1. Образец 3.05.07 (смесь затворжилась)
Fig. 1. Sample 3.05.07 (the mixture was mixed)



Рис. 2. Образец 4.05.07 (компоненты смеси не растворились, визуально наблюдается сгусток)
Fig. 2. Sample 4.05.07 (the components of the mixture did not dissolve, a clot is visually observed)

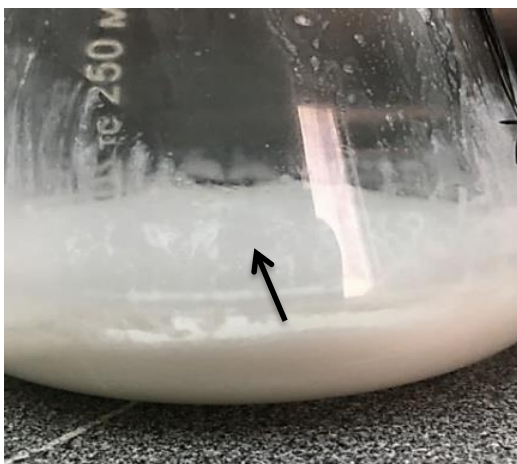


Рис. 3. Образец 6.05.07 (смесь расслоилась, невооруженным глазом видна вода на поверхности системы)
Fig. 3. Sample 6.05.07 (the mixture has stratified, water is visible on the surface of the system with the naked eye)

В стабильных образцах (1.05.07; 2.05.07; 5.05.07) определяли размер частиц (рис. 4):

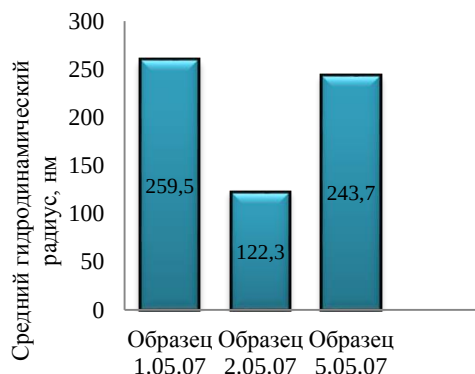


Рис. 4. Диаграмма распределения среднего гидродинамического радиуса в анализируемых образцах
Fig. 4. Diagram of the distribution of the average hydrodynamic radius in the analyzed samples

Опираясь на результаты проведенного эксперимента по выбору состава и технологии нанокapsул был выбран оптимальный состав из пяти изученных модельных образцов наномульсий. Предварительные исследования указывают, что система 2.05.07 является наиболее устойчивой и в ней наблюдается наименьший диаметр наночастиц (245 нм). Дальнейшие исследования, направленные на повышение устойчивости системы и уменьшение частиц-нанокapsул, будут проводиться с этим составом, с изменением режимов воздействия.

Задачей второго этапа исследования явилось снижение размера частиц нанокapsул в наномульсии. Для этого образец под шифром 2.05.07 подвергали следующим физическим воздействиям (табл. 3):

- А) перемешивание в магнитной мешалке с подогревом;
- В) центрифугирование;
- С) озвучивание ультразвуком в ультразвуковой ванне.

Таблица 3

Размеры нанокapsул после физических воздействий
Table 3. Sizes of nanocapsules after physical impact

Физическое воздействие	Mean*	Position*	STD*
Магнитная мешалка	27,64	20,09	25,09
Центрифугирование	57,67	67,62	17,55
Ультразвук	56,61	67,47	33,08

*Примечание: 1 Mean – средний гидродинамический радиус;
2 Position – положение самого интенсивного пика на гистограмме;
3 STD – погрешность

* Note: 1 Mean - average hydrodynamic radius; 2 Position - position of the most intense peak on the histogram; 3 STD – error

По результатам табл. 3 можно сделать следующие выводы:

- с использованием для перемешивания магнитной мешалки с подогревом (время экспозиции 5 мин) можно получить нанокапсулы с диаметром 55,28 нм;
- после центрифугирования при 5000 об/мин в течение 5 мин получают нанокапсулы с диаметром 115,34 нм;
- после озвучивания ультразвуком в ультразвуковой ванне в течение 5 мин получают нанокапсулы 113,22 нм.

Состав под шифром 2.05.07 изучали на сканирующем электронном микроскопе. Принцип работы СЭМ «QUANTA FEG 650»: пучок электронов с энергией фокусируется на поверхности образца в очень маленькое пятно диаметром примерно 5 нм, которое сканирует поверхность с помощью системы отклоняющих катушек. При столкновении электроны проникают внутрь поверхности и приводят к эмиссии электронов и фотонов из образца. После попадания эмитированных электронов в катодно-лучевую трубку в ней формируются СЭМ-изображение, представленное на рис. 5.

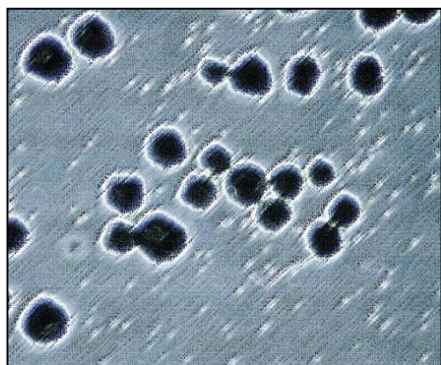


Рис. 5. СЭМ-изображение нанокапсул витамина D
Fig. 5. SEM image of vitamin D nanocapsules

Анализ проводили по методике, описанной в ОФС.1.2.1.0009.15 «Оптическая микроскопия», согласно которой наночастицы представляют собой микросферы с эквивалентным диаметром равным от 1 до 5 нм. Поверхность частиц – шероховатая, частицы непрозрачные и без каких-либо включений.

Действующим веществом субстанции-нанокапсул является витамин D₃, поэтому методы качественного и количественного анализа разрабатываются для определения фармакологически активного компонента (витамина D₃). За основу при разработке метода идентификации были взяты монографии Европейской Фармакопеи 8.0 для исследуемой субстанции, которые были адаптированы с учетом «фоновых шумов» определения обуслов-

ленных влиянием веществ, входящих в состав оболочки нанокапсулы.

- *Пробоподготовка* – 0,0855 г образца развели в 25 мл метанола и облучали ультразвуком в ультразвуковой ванне УЗВ-7/100-МП-РЭЛ-ТЕК УХЛ 4 ТУ 3444-005-26285789-2006 в течение 20 мин.

- *Количественный анализ* – ВЭЖХ (ЕФ 8.0) Колонка: размер: l = 0,25 м, Ø = 4,6 мм; Неподвижная фаза: силикагель для хроматографии R (5 мкм).

Подвижная фаза: метанол

Скорость потока: 2 мл/мин.

Обнаружение: спектрофотометр при длине волны 254 нм.

- *Процент включения витамина D в нанокапсулу* – ультрафиолетовая и видимая абсорбционная спектрофотометрия (2.2.25 ЕФ 8.0). Тестовый раствор. Приготовьте раствор в циклогексане, содержащий эквивалент около 400 МЕ/мл. Спектральный диапазон: 250-300 нм. Максимальное поглощение: при 267 нм.

Результаты хроматографического анализа образца нанокапсул под шифром 2.05.07 представлены в табл. 4.

Таблица 4

Результаты хроматографического анализа
Table 4. Chromatographic analysis results

№ п/п	Время выдержки, мин	Процент включения, %
1	1,0	37,5
2	2,0	76,9
3	3,0	21,3
4	4,0	59,8
5	5,0	18,9
6	6,0	18,6

Количественное содержание витамина D₃ в анализируемом образце нанокапсул составило 76,9% при времени выдержки 2,0 мин.

Для образца с оптимальным составом нанокапсул (шифр 2.05.07) проводили долгосрочные испытания стабильности. В течение года через каждые 3 месяца образец подлежал проверке по показателям качества нормативной документации: визуально оценивали однородность эмульсии при просматривании невооруженным глазом в светлом и темном поле прибора УК-2 («Устройство для контроля растворов на отсутствие механических загрязнений»), освещенном электрической матовой лампой 60 W или лампой дневного света 20 W. Определяли размер нанокапсул по вышеизложенной методике.

Таблица 5

Результаты анализа стабильности и устойчивости полученных композиций нанокапсул
 Table 5. Results of the analysis of stability and stability of the obtained nanocapsule compositions

Параметр	Результат после хранения		
	6 мес	12 мес	18 мес
Внешний вид	не изменился, инородные включения отсутствуют	не изменился, инородные включения отсутствуют	мельчайшие инородные включения черного цвета
Запах	специфический, не изменился	специфический, не изменился	специфический, не изменился
Размер нанокапсул	55,28 нм	59,15 нм	73,59 нм
Уровень включения витамина D ₃ в нанокапсулы	составляет 76,9% при времени выдержки 2,0 мин	составляет 75,6% при времени выдержки 2,0 мин	составляет 65,2% при времени выдержки 2,0 мин
Степень сыпучести	29,2 °C «очень хорошая сыпучесть»	30,1 °C «хорошая сыпучесть»	31,0 °C «хорошая сыпучесть»

ВЫВОД

Основываясь на разработанной экспериментальной модели, получены лабораторные образцы нанокапсул состава: масляный концентрат (НД 42-13874-05) – 5%; 2-гидрокси-β-циклодекстрин (CAS 128446-35-5) – 3%; твин-80 (CAS 9005-65-6) – 1%; воск эмульсионный (ТУ

№20.41.42-029-00333865-2018) – 2%; вода очищенная (ФС.2.2.0020.15 Вода очищенная) – до 100%. Исследования стабильности полученных образцов подтвердили, что выбранная рецептура и технология позволяет получить наиболее устойчивые нанокапсулы. Нанокапсулы с наименьшим диаметром в 55,28 нм получают после последовательного перемешивания ультразвуком и магнитной мешалкой с подогревом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зейд С.С.К., Яковлева Л.В., Мелитицкая А.В. Опыт применения витамина D в лечении первичной артериальной гипертензии у детей подросткового возраста. *Мед. Вестн. Сев. Кавказа*. 2019. Т. 14. № 2. С. 376-377. DOI: 10.14300/mnnc.2019.14057.
2. Pereira-Santos M., Costa P.R., Santos C.A. Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Obes. Rev.* 2016. V. 17. N 5. 484 p. DOI: 10.1111/obr.12393.
3. Golzarand M., Shab-Bidar S., Koochakpoor G. Effect of vitamin D3 supplementation on blood pressure in adults: An updated meta-analysis. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2016. V. 26. N 8. P. 663-673. DOI: 10.1016/j.numecd.2016.04.011.
4. Wei S.Q., Qi H.P., Luo Z.C., Fraser W.D. Maternal vitamin D status and adverse pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2013. V. 26. N 9. P. 889-899. DOI: 10.3109/14767058.2013.765849.
5. Harvey N.C., Holroyd C., Ntani G., Javaid K., Cooper P., Moon R. Vitamin D supplementation in pregnancy: a systematic review. *Health Technol. Assess.* 2014. V. 18. N 45. P. 1-190. DOI: 10.3310/hta18450.
6. Ota K., Dambaeva S., Han A.R., Beaman K., Gilman-Sachs A., Kwak-Kim J. Vitamin D deficiency may be a risk factor for recurrent pregnancy losses by increasing cellular immunity and autoimmunity. *Hum Reprod.* 2014. N 29. P. 208-219. DOI: 10.1093/humrep/det424.
7. Bodnar L.M., Platt R.W., Simhan H.N. Early-pregnancy vitamin D deficiency and risk of preterm birth subtypes. *Obstet Gynecol.* 2015. V. 125. N 2. P. 439-447. DOI: 10.1097/AQG.0000000000000621.
8. Shahgheibi S., Farhadifar F., Pouya B. The effect of vitamin D supplementation on gestational diabetes in high-risk women: Results from a randomized placebocontrolled trial. *J. Res. Med. Sci.* 2016. V. 21. N 2. DOI: 10.4103/1735-1995.175148.

REFERENCES

1. Zeiyd S.S.K., Yakovleva L.V., Melititskaya A.V. Experience in the use of vitamin D in the treatment of primary arterial hypertension in adolescent children. *Med. Vestn. Sev. Kavkaza*. 2019. V. 14. N 2. P. 376-377 (in Russian). DOI: 10.14300/mnnc.2019.14057.
2. Pereira-Santos M., Costa P.R., Santos C.A. Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Obes. Rev.* 2016. V. 17. N 5. 484 p. DOI: 10.1111/obr.12393.
3. Golzarand M., Shab-Bidar S., Koochakpoor G. Effect of vitamin D3 supplementation on blood pressure in adults: An updated meta-analysis. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2016. V. 26. N 8. P. 663-673. DOI: 10.1016/j.numecd.2016.04.011.
4. Wei S.Q., Qi H.P., Luo Z.C., Fraser W.D. Maternal vitamin D status and adverse pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2013. V. 26. N 9. P. 889-899. DOI: 10.3109/14767058.2013.765849.
5. Harvey N.C., Holroyd C., Ntani G., Javaid K., Cooper P., Moon R. Vitamin D supplementation in pregnancy: a systematic review. *Health Technol. Assess.* 2014. V. 18. N 45. P. 1-190. DOI: 10.3310/hta18450.
6. Ota K., Dambaeva S., Han A.R., Beaman K., Gilman-Sachs A., Kwak-Kim J. Vitamin D deficiency may be a risk factor for recurrent pregnancy losses by increasing cellular immunity and autoimmunity. *Hum Reprod.* 2014. N 29. P. 208-219. DOI: 10.1093/humrep/det424.
7. Bodnar L.M., Platt R.W., Simhan H.N. Early-pregnancy vitamin D deficiency and risk of preterm birth subtypes. *Obstet Gynecol.* 2015. V. 125. N 2. P. 439-447. DOI: 10.1097/AQG.0000000000000621.
8. Shahgheibi S., Farhadifar F., Pouya B. The effect of vitamin D supplementation on gestational diabetes in high-risk women: Results from a randomized placebocontrolled trial. *J. Res. Med. Sci.* 2016. V. 21. N 2. DOI: 10.4103/1735-1995.175148.

9. **Linnea Bärebring.** Vitamin D Status during Pregnancy in a MultiEthnic Population-Representative Swedish Cohort. *Nutrients*. 2016. N 8. P. 655. DOI: 10.3390/nu8100655.
10. **Мальцева Л.И., Васильева Э.Н., Денисова Т.Г.** Витамин D и преэклампсия. *Рос. вестн. акушера-гинеколога*. 2016. Т. 16. № 1. С. 79-83. DOI: 10.17116/rosa-kush201616179-83.
11. **Mirzakhani H.** Early pregnancy vitamin D status and risk of preeclampsia. *J. Clin. Invest.* 2016. V. 126. N 12. P. 4702-4715. DOI: 10.1172/JCI89031.
12. **Doria K. Thiele, Jody Ralph, Maher El-Masri, Cindy M. Anderson.** Vitamin D3 Supplementation During Pregnancy and Lactation Improves Vitamin D Status of the Mother-Infant Dyad. *J. Obstet., Gynecol. Neonat Nurs.* 2017. V. 46. N 1. P. 135-147. DOI: 10.1016/j.jogn.2016.02.016.
13. **Zhou S.S., Tao Y.H., Huang K., Zhu B.B., Tao F.B.** Vitamin D and risk of preterm delivery: up-to-date meta-analysis of randomized controlled trials and observational studies. *J. Obstet. Gynaecol.* 2017. V. 43. N 2. P. 247-256. DOI: 10.1111/jog.13239.
14. **Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш., Закирова А.М.** Роль витамина D в системе мать-плацента-плод. *Практ. медицина*. 2016. № 01. С. 26-31.
15. **Чуешов В.И.** Технология лекарств промышленного производства. 2014. Режим доступа: https://www.studmed.ru/chueshov-v-i-promyshlennaya-tehnologiya-lekarstv-tom-1_e6467a43c23.html (дата обращения: 10.03.2020).
16. ОСТ 91500.05.001-00. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения. М.: МЗ РФ, 2000. С. 38.
17. **Бочков П.О., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Жердев В.П., Шевченко Р.В.** Влияние высокомолекулярных вспомогательных веществ на оптимизацию фармакокинетических свойств лекарственных препаратов. *Фармакокин. и фармакодин.* 2016. № 1. С. 3-11.
18. **Степанова Э.Ф., Ким М.Е., Мурзагулова К.Б., Евсеева С.Б.** Микрокапсулы: перспективы использования в современной фармацевтической практике. *Совр. пробл. науки и образования*. 2014. № 5. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=14927> (дата обращения: 15.05.19)
19. **Автина Н.В., Писарева Д.И., Спичак И.В., Панкрушева Т.А., Воронкова О.С.** Разработка детской лекарственной формы на основе микрокапсул с метронидазолом. *Науч. ведом. Сер. Медицина. Фармация*. 2011. Т. 99. № 4. С. 170-176.
20. **Saberi A.H., Fang Y., McClements D.J.** Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: Factors affecting particle size using spontaneous emulsification. *J. Colloid Interf. Sci.* 2013. 391. P. 95-102. DOI: 10.1016/j.jcis.2012.08.069.
21. **Mayer S., Weiss J., McClements D.J.** Vitamin E-enriched nanoemulsions formed by emulsion phase inversion: Factors influencing droplet size and stability. *J. Colloid Interf. Sci.* 2013. V. 402. P. 122-130. DOI: 10.1016/j.jcis.2013.04.016.
22. **Королева М.Ю., Наговицына Т.Ю., Быданов Д.А., Юртов Е.В.** Прямые наноземulsionи, стабилизированные смесями неионогенных ПАВ. *Бутлеров. сообщ.* 2014. Т. 38. № 4. С. 119-125.
23. **Nail S.L., Jiang S., Chongprasert S., Knopp S.A.** Fundamentals of freeze-drying. *Pharm. Biotechnol.* 2002. N 14. P. 281-360. DOI: 10.1007/978-1-4615-0549-5_6.
24. **Гутнова Т.С., Компанцев Д.В., Бугаёв Ф.С., Шаталова Т.А., Мичник Л.А., Хаджиева З.Д.** Разработка состава таблеток витамина D3 и определение срока их годности. *Health Educ. Millen.* 2019. Т. 21. № 5. С. 27-32. DOI: 10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-5-27-32.
25. **Картонова Л.В.** Основы кристаллографии. Владимир: Владимир. гос.ун-т им. А. Г. и Н. Г. Столетовых. 2015. 80 с..
9. **Linnea Bärebring.** Vitamin D Status during Pregnancy in a MultiEthnic Population-Representative Swedish Cohort. *Nutrients*. 2016. N 8. P. 655. DOI: 10.3390/nu8100655.
10. **Mal'ceva L.I., Vasil'eva E.N., Denisova T.G.** Vitamin D and preeclampsia. *Ros. Vestn. Akushera-Ginekologa*. 2016. V. 16. N 1. P. 79-83 (in Russian). DOI: 10.17116/rosa-kush201616179-83.
11. **Mirzakhani H.** Early pregnancy vitamin D status and risk of preeclampsia. *J. Clin. Invest.* 2016. V. 126. N 12. P. 4702-4715. DOI: 10.1172/JCI89031.
12. **Doria K. Thiele, Jody Ralph, Maher El-Masri, Cindy M. Anderson.** Vitamin D3 Supplementation During Pregnancy and Lactation Improves Vitamin D Status of the Mother-Infant Dyad. *J. Obstet., Gynecol. Neonat Nurs.* 2017. V. 46. N 1. P. 135-147. DOI: 10.1016/j.jogn.2016.02.016.
13. **Zhou S.S., Tao Y.H., Huang K., Zhu B.B., Tao F.B.** Vitamin D and risk of preterm delivery: up-to-date meta-analysis of randomized controlled trials and observational studies. *J. Obstet. Gynaecol.* 2017. V. 43. N 2. P. 247-256. DOI: 10.1111/jog.13239.
14. **Mal'tsev S.V., Mansurova G.Sh., Zakirova A.M.** The role of vitamin D in the mother-placenta-fetus system. *Prakt. Meditsina*. 2016. N 01. P. 26-31 (in Russian).
15. **Chueshov V.I.** Technology of medicines of industrial production. 2014. Rezhim dostupa: https://www.studmed.ru/chueshov-v-i-promyshlennaya-tehnologiya-lekarstv-tom-1_e6467a43c23.html.
16. OST 91500.05.001-00. Quality standards of medicines. Basic provisions. M.: MZ RF. 2000. P. 38. (in Russian).
17. **Bochkov P.O., Kolyvanov G.B., Litvin A.A., Zherdev V.P., Shevchenko R.V.** The effect of high-molecular excipients on the optimization of pharmacokinetic properties of medicinal drugs. *Farmakokin. Farmakodin.* 2016. N 1. P. 3-11 (in Russian).
18. **Stepanova E.F., Kim M.E., Murzagulova K.B., Evseeva S.B.** Microcapsules: prospects for use in modern pharmaceutical practice. *Sovr. Probl. Nauki Obrazov.* 2014. N 5. Rezhim dostupa: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=14927> (in Russian).
19. **Avtina N.V., Pisareva D.I., Spikach I.V., Pankrusheva T.A., Voronkova O.S.** Development of a children's dosage form based on microcapsules with metronidazole. *Nauch. Vedom. Ser. Meditsina. Farmatsiya*. 2011. V. 99. N 4. P. 170-176 (in Russian).
20. **Saberi A.H., Fang Y., McClements D.J.** Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: Factors affecting particle size using spontaneous emulsification. *J. Colloid Interf. Sci.* 2013. 391. P. 95-102. DOI: 10.1016/j.jcis.2012.08.069.
21. **Mayer S., Weiss J., McClements D.J.** Vitamin E-enriched nanoemulsions formed by emulsion phase inversion: Factors influencing droplet size and stability. *J. Colloid Interf. Sci.* 2013. V. 402. P. 122-130. DOI: 10.1016/j.jcis.2013.04.016.
22. **Koroleva M.Yu., Nagovitsyna T.Yu., Bydanov D.A., Yurto E.V.** Direct nanoemulsions stabilized with mixtures of nonionic surfactants. *Butlerov. Soobshch.* 2014. V. 38. N 4. P. 119-125 (in Russian).
23. **Nail S.L., Jiang S., Chongprasert S., Knopp S.A.** Fundamentals of freeze-drying. *Pharm. Biotechnol.* 2002. N 14. P. 281-360. DOI: 10.1007/978-1-4615-0549-5_6.
24. **Gutnova T.S., Kompantsev D.V., Bugayov F.S., Shatalova T.A., Michnik L.A., Khadzhiyeva Z.D.** Development of the composition of vitamin D3 tablets and determination of their shelf life. *Health Educ. Millen.* 2019. V. 21. N 5. P. 27-32 (in Russian). DOI: 10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-5-27-32.
25. **Kartanova L.V.** Fundamentals of crystallography. Vladimir: Vladim. gos.un-t im. A. G. i N. G. Stoletovyh. 2015. 80 p. (in Russian).

Поступила в редакцию (Received) 15.03.2021

Принята к опубликованию (Accepted) 22.04.2021