

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*



Гордеева Дарья Сергеевна

**Разработка поликомплексных микро- и наноразмерных частиц на основе полимеров фармацевтического назначения для интраназальной доставки леводопы в мозг**

3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

**Научный руководитель:**  
кандидат фармацевтических наук, доцент  
Мустафин Руслан Ибрагимович

Казань – 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	17
1.1. Интраназальный путь введения в системах доставки лекарственных веществ в головной мозг .....	17
1.2. Мукоадгезивные системы доставки лекарственных средств.....	19
1.3. Мукуспронирующие системы доставки лекарственных средств .....	23
1.4. Микрочастицы в системах доставки лекарственных средств.....	25
1.5. Наноразмерные частицы в системах доставки лекарственных средств.....	30
1.6. Выводы по главе 1.....	33
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
2.1. Объекты исследования.....	36
2.2. Методы исследования .....	39
2.2.1. Получение модифицированного Eudragit® EPO .....	39
2.2.2. Инфракрасная спектроскопия .....	40
2.2.3. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса .....	40
2.2.4. Термогравиметрический анализ .....	41
2.2.5. Дифференциальная сканирующая калориметрия.....	41
2.2.6. Получение микрокапсул .....	41
2.2.7. Определение размеров микрокапсул.....	42
2.2.8. Расчет выхода, эффективности инкапсуляции и загрузочной ёмкости микрокапсул .....	43
2.2.9. Исследование высвобождения лекарственного средства из микрокапсул ...	43
2.2.10. Изучение мукоадгезивных свойств .....	44
2.2.11. Получение липосом.....	45
2.2.12. Определение диаметра и дзета-потенциала липосом.....	46
2.2.13. Расчет эффективности инкапсуляции и загрузочной ёмкости липосом .....	47
2.2.14. Исследование высвобождения лекарственного средства из липосом.....	47
2.2.15. Ультрафиолетовая спектрофотометрия .....	48
2.2.16. Исследование мукуспронирующих свойств липосом .....	49

2.2.17. Оценка противопаркинсонической активности.....	49
2.2.18. Статистическая обработка данных .....	51
2.2.19. Дизайн исследования .....	51
ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНОГО НОСИТЕЛЯ НА ОСНОВЕ EUDRAGIT® ЕРО И 4-БРОМФЕНИЛБОРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕГО ИССЛЕДОВАНИЕ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ДОСТАВКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ .....	
3.1. Разработка модифицированной формы Eudragit® ЕРО.....	53
3.2. Термический анализ модифицированной формы Eudragit® ЕРО .....	58
3.3. Оценка мукоадгезивных свойств модифицированной формы Eudragit® ЕРО .....	60
3.4. Технологическая схема получения модифицированной формы Eudragit® ЕРО .....	62
3.5. Выводы по главе 3 .....	65
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ МУКОАДГЕЗИВНОЙ СИСТЕМЫ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ПРИМЕНЕНИЕМ МИКРОЧАСТИЦ .....	
4.1. Получение микрокапсул методом ультразвукового электрораспыления и их характеристика .....	67
4.1.1. Получение простых микрокапсул и определение их размеров .....	67
4.1.2. Получение микрокапсул, покрытых Eudragit® ЕРО, и определение их размеров.....	70
4.2. Исследование мукоадгезивных свойств простых микрокапсул и микрокапсул, покрытых Eudragit® ЕРО .....	74
4.3. Расчет выхода, эффективности инкапсуляции и загрузочной ёмкости простых микрокапсул и микрокапсул, покрытых Eudragit® ЕРО.....	76
4.4. Исследование высвобождения леводопы из простых микрокапсул и микрокапсул, покрытых Eudragit® ЕРО .....	77
4.5. Выводы по главе 4 .....	79

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ МУКОАДГЕЗИВНОЙ СИСТЕМЫ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ПРИМЕНЕНИЕМ МИКРОКАПСУЛ, ПОКРЫТЫХ МОДИФИЦИРОВАННЫМ EUDRAGIT® EPO .....	80
5.1. Получение микрокапсул, покрытых модифицированным Eudragit® EPO, и определение их размеров .....	81
5.2. Исследование высвобождения леводопы из микрокапсул, покрытых модифицированным Eudragit® EPO .....	83
5.3. Технологическая схема получения микрокапсул .....	85
5.4. Оценка стабильности микрокапсул, покрытых модифицированным Eudragit® EPO .....	87
5.5. Выводы по главе 5 .....	89
ГЛАВА 6. ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МУКУСПРОНИКАЮЩИХ СИСТЕМАХ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ .....	91
6.1. Получение липосом методом гидратация липидной пленки и их характеристика .....	91
6.2. Исследование поведения традиционных и ПЭГилированных липосом на поверхности слизистой .....	93
6.3. Расчет эффективности инкапсуляции и загрузочной ёмкости традиционных и ПЭГилированных липосом.....	95
6.4. Исследование высвобождения леводопы из традиционных и ПЭГилированных липосом.....	96
6.5. Валидация методики количественного определения леводопы методом ультрафиолетовой спектрофотометрии .....	100
6.6. Технологическая схема получения ПЭГилированных липосом.....	105
6.7. Оценка стабильности суспензии ПЭГилированных липосом .....	108
6.8. Оценка противопаркинсонической активности традиционных и ПЭГилированных липосом, загруженных леводопой.....	110
6.9. Выводы по главе 6 .....	112

ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	114
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ .....	115
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	117
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ .....	118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	119
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	121
ПРИЛОЖЕНИЕ А.ПАТЕНТ .....	149
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. АКТЫ ВНЕДРЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНО- ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ.....	150
ПРИЛОЖЕНИЕ В. ПРОЕКТ НОРМАТИВНОГО ДОКУМЕНТА ПО КАЧЕСТВУ .....	153
БЛАГОДАРНОСТИ .....	159

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Основные способы введения лекарственных средств (ЛС) в терапии заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) – пероральный (таблетки, капсулы) и инъекционный (растворы для инъекций). Однако, биодоступность (БД) психотропных лекарственных препаратов (ЛП) зависит от многих факторов. Кроме действия ферментов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и эффекта первого прохождения через печень, ЛС сталкивается со сложной системой защиты ЦНС – гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Это уникальная и сложная сеть кровеносных сосудов, которая контролирует прохождение частиц (токсины, патогены, бактерии), в том числе и компонентов ЛС, из кровотока в ЦНС [75]. Поэтому ЛС, применяемое в терапии заболеваний головного мозга, должно отвечать нескольким критериям. Оно должно быть липофильным, но при этом обладать способностью растворяться в водных растворах, поскольку, в конечном итоге, оно попадет в интерстициальную жидкость мозга. При этом молекулярная масса (ММ) ЛП должна находиться в пределах 400-600 Да. И, наконец, такие свойства, как заряд, третичная структура и степень связывания с белками, также играют значительную роль в определении способности веществ пересекать ГЭБ [55]. Все эти факторы ограничивают список препаратов, применяемых в фармакотерапии заболеваний ЦНС.

Интересной областью исследований является разработка носителей для интраназальной системы доставки ЛС в головной мозг [39]. Носовая полость имеет сложную структуру. Вещество, введенное интраназально, через обонятельные луковицы поступает в головной мозг напрямую, минуя защитные механизмы организма. Однако, система мукоцилиарного клиренса приводит к снижению БД препаратов. ЛС не успевает проникнуть в обонятельную область, смывается и заглатывается в ЖКТ [22]. В связи с этим, перспективным направлением становится разработка и исследование носителей, обладающих мукоспроницающими или мукоадгезивными свойствами, для их интраназального

применения в терапии заболеваний ЦНС. В результате чего, БД препарата увеличивается, эффективность фармакотерапии повышается, фармакологические эффекты наступают быстро и расширяется список ЛП для лечения заболеваний ЦНС.

Леводопа – это основной ЛП, применяемый в фармакотерапии болезни Паркинсона, являющийся предшественником дофамина [119]. В отличие от дофамина леводопа способна проникать через ГЭБ. Однако, лишь 1-3% ЛС достигает головного мозга, поэтому с целью повышения БД леводопы в ЦНС могут быть использованы носители, обладающие мукоадгезивными и мукопроницающими свойствами, для интраназальных систем доставки.

### **Степень разработанности темы исследования**

Доставка ЛС интраназально для лечения заболеваний ЦНС – это новая и перспективная область исследований, которая активно развивается и решает проблемы фармакотерапии нарушений головного мозга [171, 180]. На российском рынке основная доля ЛС для интраназального применения представлена в виде следующих ЛФ: назальный спрей (55%) и назальные капли (33%) [2]. Одним из таких ЛП является отечественный ноотропный препарат Семакс, который достигает головного мозга через 4 минуты после интраназального введения [20]. На сегодняшний день существует много исследований, направленных на разработку новых систем доставки ЛС интраназально в головной мозг с применением микроразмерных и наноразмерных частиц. Мукоадгезивные микросферы на основе производных целлюлозы были предложены для доставки трамадола [79]. Подбор состава полимерных микрочастиц, обладающих улучшенными мукоадгезивными свойствами, был предложен для доставки ривастигмина в терапии болезни Альцгеймера [226]. Также имеются работы по интраназальной доставке противораковых препаратов в составе полимерных мицелл на основе поли(этиленгликоля)-поликапролактона, модифицированных проникающим в клетки пептидом [232] и нейропротекторов в составе сферических

микрочастиц на основе хитозана и метил- $\beta$ -циклодекстрина [215]. Наночастицы были получены с применением хитозана для доставки ротиготин для лечения болезни Паркинсона [170] и мидазолама [227]. Наноразмерные частицы на основе поли(молочная-ко-гликолевая кислоты) и хитозана были исследованы с целью интраназальной доставки ропинирола [67]. В литературе представлены работы по разработке нанолипидных частиц для интраназальной доставки Пиоглитазона для лечения Альцгеймера [93]. Павловым А.Н. проведено исследование по разработке состава и технологии получения назальных капель с пролонгированным высвобождением на основе наночастиц с полилактидгликолидами, содержащие леводопу [33]. Также российскими учеными был разработан состав назального спрея для экстренной терапии мигренозных атак [6].

Микрокапсулы (МК), с применением в качестве пленкообразующего материала альгината натрия, были изучены ранее для их использования в других системах доставки ЛС [48, 97, 210, 213]. ПЭГилированные липосомы показали свою эффективность при доставке в мочевой пузырь противоопухолевых препаратов и через роговицу глаза антибактериальных средств [131, 155]. Однако, ранее МК на основе альгината натрия, покрытые Eudragit<sup>®</sup> EPO (EPO) и его модифицированной формой, и ПЭГилированные липосомы не применялись для интраназальной доставки леводопы в мозг.

### **Цель и задачи исследования**

Цель исследования – разработка технологии получения поликомплексных микро- и наноразмерных частиц на основе полимеров фармацевтического назначения и изучение их физико-химических и биофармацевтических свойств как носителей леводопы для интраназальной доставки в мозг.

Задачи:

1. Провести анализ научных данных о разработках интраназальных систем доставки для лечения заболеваний головного мозга, мукоадгезивных и мукуспроникающих системах с участием микро- и наноразмерных частиц.

2. Разработать методику получения химически модифицированного Eudragit® ЕРО (ЕРО) с участием 4-бромфенилбороновой кислоты (4БФБК) – ВЕРО и изучить его физико-химические и мукоадгезивные свойства с целью оценки его перспективности использования в качестве носителя ЛС, обладающего улучшенными мукоадгезивными свойствами.

3. Разработать технологию получения микрочастиц – простых МК и МК, покрытых ЕРО, методом ультразвукового электрораспыления, подобрать их оптимальный состав и оценить физико-химические, мукоадгезивные и биофармацевтические свойства.

4. Разработать технологию получения МК, покрытых ВЕРО, методом ультразвукового электрораспыления, подобрать их оптимальный состав и оценить физико-химические, биофармацевтические и мукоадгезивные свойства.

5. Получить наноразмерные частицы – липосомы, функционализированные полиэтиленгликолем (ПЭГом), методом «гидратация липидной пленки» и оценить их физико-химические, мукопроникающие и биофармацевтические свойства, а также провести эксперименты *in vivo* по оценке угнетения каталептогенного состояния у крыс, вызванного внутрибрюшинным введением галоперидола.

6. Предложить оптимальные технологии производства и разработать спецификации полученных носителей.

### **Научная новизна**

Разработана методика получения химически модифицированного полимера ЕРО, производного поли(мет)акриловой кислоты, с применением 4БФБК, обладающего улучшенными мукоадгезивными свойствами – ВЕРО (Патент РФ «Способ получения носителя биологически активных соединений» № 2817985 от 23.04.2024 г. (Приоритет от 11.08.2023 г.)) (Приложение А). Получены методом ультразвукового электрораспыления и исследованы альгинатные МК, покрытые ЕРО и ВЕРО, обладающие мукоадгезивными свойствами для их применения в системах интраназальной доставки леводопы в головной мозг, подобран

оптимальный состав микрочастиц. Получены методом «гидратация липидной пленки» и изучены ПЭГилированные липосомы, обладающие улучшенными мукуспроницающими свойствами на основе липидов природного происхождения для их использования в системах доставки леводопы из носа в мозг.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость заключается в обзоре имеющихся научных данных о мукоадгезивных и мукуспроницающих систем интраназальной доставки ЛС для лечения нарушений ЦНС. Разработаны и научно-обоснованы подходы к получению и анализу интраназальной системы доставки леводопы для лечения болезни Паркинсона с применением микро- и наноразмерных частиц, которые внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России и работу молодежной научной лаборатории «Систем направленной доставки лекарственных средств» ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

Практическая значимость работы заключается в том, что разработана технология получения нового носителя – модифицированного ЕРО с применением 4БФБК с улучшенными мукоадгезивными свойствами – ВЕРО. Разработаны новые носители – МК, покрытые ЕРО и ВЕРО, обладающие мукоадгезивными свойствами, и ПЭГилированные липосомы, обладающие мукуспроницающими свойствами, которые представляют собой полупродукты ЛП, которые могут быть использованы в системах интраназальной доставки леводопы в головной мозг. Разработан проект нормативного документа по качеству на «Полимерный носитель биологически активных соединений на основе модифицированной формы катионного терполимера на основе производных метакриловой кислоты (диметиламиноэтилметакрилат, метилметакрилат и бутилметакрилат) с применением 4-бромфенилбороновой кислоты» для «ООО «ИнтерЛЕК», проведена наработка экспериментальной партии образца «Носитель биологически активных соединений» на основании Лабораторного регламента на производство полимерного носителя биологически активных соединений на основе

модифицированной формы Eudragit® EPO с применением 4-бромфенилбороновой кислоты на АО «Татхимфармпрепараты». Зарегистрирован Патент РФ «Способ получения носителя биологически активных соединений» № 2817985 от 23.04.2024 г. Результаты исследований опубликованы в виде научных статей, тезисов и докладов научных конференций.

### **Методология и методы исследования**

Методология работы основывается на физико-химических, фармако-технологических и фармакологических исследованиях при разработке модифицированной формы EPO, микро- и наноразмерных частиц. В работе использованы методы фармакопейного анализа, включенные в Государственную Фармакопею РФ XV издания (ГФ XV) и Фармакопею Евразийского экономического союза (ФЕАЭС) с учетом Руководства по производству готовых лекарственных форм лекарственных препаратов, приложение к Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии (ЕЭК) от 29 января 2019 г. N 3. В диссертационном исследовании использованы инструментальные и физико-химические методы: инфракрасная спектроскопия (ИК-спектроскопия), спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопия), модулированная дифференциально-сканирующая калориметрия (МДСК), ультрафиолетовая спектрофотометрия (УФ-спектрофотометрия), оптическая микроскопия, метод динамического рассеивания света (ДРС), тест растворение («Проточная ячейка»), тест диффузии («Вертикальная ячейка Франца»), а также тесты *ex vivo* и *in vivo*; математические методы анализа и обработки результатов (статистическая обработка).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Методика получения химически модифицированного ЕРО с применением 4БФБК, обладающий улучшенными мукоадгезивными свойствами, результаты физико-химических исследований и мукоадгезии.

2. Технология получения МК, покрытых ЕРО и ВЕРО, обладающих мукоадгезивными свойствами, полученных методом УЗ-электрораспыления. Результаты анализа состава, структурных особенностей и мукоадгезивных свойств МК, результаты исследования профиля высвобождения леводопы из микрочастиц.

3. Технология получения ПЭГилированных липосом, обладающих мукопроницающими свойствами, полученных методом «гидратации липидной пленки». Результаты физико-химического анализа и исследования мукопроницающих свойств липосом.

4. Результаты исследования профилей высвобождения и диффузии леводопы из ПЭГилированных липосом и оценки противопаркинсонической активности *in vivo* после интраназального введения суспензии липосом, нагруженных леводопой.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, а именно: пункту 3 – Исследование биофармацевтических аспектов в технологии получения лекарственных средств, их дизайн и изучение фармацевтических факторов, влияющих на биодоступность. Разработка и валидация биоаналитических методик. Исследование стабильности лекарственных средств.

## Степень достоверности и апробация результатов

Научные положения и выводы диссертационного исследования являются достоверными и обоснованными, что определяется воспроизводимостью результатов физико-химических (ИК-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия, УФ-спектрофотометрия, оптическая микроскопия, ДРС), фармацевтических (тест растворения и тест диффузии) и фармакологических (*ex vivo* и *in vivo*) методов анализа, а также большим количеством используемых источников информации. Методика количественного определения методом УФ-спектрофотометрии была валидирована. Кроме того, была проведена статистическая обработка полученных данных исследования и математическое моделирование кинетики высвобождения леводопы из наночастиц с применением программного обеспечения Microsoft Excel 2021 MSO (Version 2503 Build 16.0.18623.20116).

Основные результаты исследования были представлены и доложены на 9 конференциях и 3 конкурсах, где были отмечены призовыми местами и дипломами победителя: VIII – XII Международный молодежный научный медицинский форум «Белые цветы» (Казань, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025 г.г.), UK-Russia Conference «Advanced biomaterials to combat cancer» (Ланкастер, 2021 г.), XI Конгресс молодых ученых ИТМО, секция «Химия функциональных наноматериалов и систем» (Санкт-Петербург, 2022 г.), XXVIII Конкурс научно-исследовательских и научно-практических работ на соискание именных стипендий Мэра Казани среди студентов и аспирантов (Казань, 2022 г.), XIII Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2023 г.), Конкурс Всероссийская научная школа «Медицина молодая» (Москва, 2023 г.), Конкурс «Лучший молодой ученый» Республики Татарстан (Казань, 2024 г.), II Междисциплинарная всероссийская молодежная научная школа-конференция с международным участием «Молекулярный дизайн биологически активных веществ: биохимические и медицинские аспекты» (Казань, 2024 г.).

Апробация диссертации состоялась на заседании научной проблемной комиссии по химико-фармацевтическим наукам ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, протокол № 2 от 25 сентября 2024 г.

### **Личный вклад автора**

Автор принимал непосредственное участие в выборе темы диссертационной работы, постановки цели и задач исследования, лично провел обзор и анализ научной литературы по теме исследования. Автор лично занимался разработкой получения модифицированной формы ЕРО с применением 4БФБК, технологии получения микро- и наноразмерных носителей, подбором их оптимального состава и анализом полученных носителей, разработкой технологических схем и интерпретацией полученных результатов с применением статистической обработки. Часть экспериментальных исследований выполнена автором в ходе научной стажировки в Университете Рединга (Великобритания).

Результаты диссертационного исследования были доложены автором на международных и всероссийских научных и научно-практических конференциях и конгрессах и внедрены в практику научно-практических и образовательных организаций автором лично. Результаты исследования были отражены и описаны автором в научных статьях в рецензируемых изданиях, диссертации и автореферате.

### **Внедрение результатов исследования**

Полученные в диссертационной работе результаты физико-химической и биофармацевтической оценки модифицированного терполимера, МК и липосом включены в учебный процесс ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России и работу молодежной научной лаборатории «Систем направленной доставки лекарственных средств» ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (Приложение Б).

Практическая значимость исследования подтверждена актом наработки экспериментальной партии образца «Носитель биологически активных соединений» на основании Лабораторного регламента на производство полимерного носителя биологически активных соединений на основе модифицированной формы Eudragit® EPO с применением 4-бромфенилбороновой кислоты на АО «Татхимфармпрепараты» (Приложение Б). Разработан проект нормативного документа по качеству на «Полимерный носитель биологически активных соединений на основе модифицированной формы катионного терполимера на основе производных метакриловой кислоты (диметиламиноэтилметакрилат, метилметакрилат и бутилметакрилат) с применением 4-бромфенилбороновой кислоты» для ООО «ИнтерЛЕК» (Приложение В).

### **Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (№ гос. регистрации 0120.0805878). Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №20-65-46007 «Инновационные подходы к созданию лекарственных форм для трансмукозальной доставки веществ в мозг», руководитель – доц. Мустафин Р.И. (2020 – 2022 гг.), гранта РФФИ №23-15-00263 «Разработка поликомплексных систем доставки для создания инновационных лекарственных препаратов с модифицированным высвобождением», руководитель – доц. Мустафин Р.И. (2023 – 2025 гг.) и гранта некоммерческой организации «Благотворительный фонд поддержки молодых ученых-медиков» № 1 «Интраназальная система доставки леводопы для лечения болезни Паркинсона», руководитель – Гордеева Д.С. (2023 г.).

Также диссертационное исследование выполнено в рамках плана работ молодежной научной лаборатории «Систем направленной доставки лекарственных средств» (2022-2024 гг.).

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертационного исследования опубликовано 18 печатных работ, в том числе: 3 оригинальные научные статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus; 14 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций, 1 патент на изобретение.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, шести глав и выводов, изложенных на 159 странице машинописного текста, содержит 20 таблиц, 42 рисунка. Список литературы включает 243 источников, в том числе 197 на иностранных языках.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Интраназальный путь введения в системах доставки лекарственных веществ в головной мозг

Древние египтяне практиковали медицину высокопрофессиональными методами. Они обладали глубокими познаниями в анатомии и хирургии. Еще до нашей эры в Древнем Египте было установлено, что нос обеспечивает доступ воздуха в легкие. Если дыхание прекращается, то пациент умирает [101]. Врачи Древнего Египта знали о пользе растений, многие из них используются и в наши дни. Для лечения насморка, простуды, а также оказания системного действия применялись летучие масла для местного нанесения или путем ингаляций [222]. В средневековой Персии применялись различные назальные ЛФ, включающие одиннадцать типов, которые относятся к трем основным группам: порошки, растворы (капли) или жидкие и газообразные формы (паровые бани, ароматерапия) [160]. Утверждалось, что мишенью для этих ЛФ служили не только носовая полость и легкие, но и системные нарушения, в том числе, осложнения со стороны ЦНС.

На сегодняшний день интраназальный путь введения используется для оказания местного и системного действия. А в последние десятилетия особый интерес уделяется исследованиям по доставке ЛС из носа в головной мозг [1, 22].

Носовая полость имеет две симметричные полости, которые разделены носовой перегородкой и подразделяются на три области: преддверие, дыхательную и обонятельную области [125]. Общая площадь носа составляет 160 см<sup>2</sup>, а объем – 13 мл. Основные функции носа это: обоняние, нагрев и увлажнение вдыхаемого воздуха, а также защита организма от попадания чужеродных и патогенных частиц и микроорганизмов [105]. Передняя часть носа представлена преддверием, которое покрыто плоским эпителием, содержащим потовые и сальные железы, имеет

наименьшее количество кровеносных сосудов [194]. Здесь в основном происходит фильтрация воздуха и регулирование его температуры и влажности. Дыхательная область занимает наибольшую площадь поверхности в носовой полости и имеет разветвленную сосудистую сеть, поэтому степень проницаемости частиц высокая. Носовые раковины дыхательной области выстланы респираторным и мерцательным псевдомногослойным столбчатым эпителием [172, 207]. Бокаловидные клетки мерцательного эпителия отвечают за секрецию муцина (слизи), а реснички респираторных клеток – за удаление и движение слизи к глотке. Это система называется мукоцилиарный клиренс [169]. Вдобавок к этому, дыхательная область иннервируется глазными и верхнечелюстными ветвями тройничного нерва, который напрямую связан с головным мозгом [91]. Обонятельная область расположена в верхней части носовой полости и имеет общую площадь поверхности – 10 см<sup>2</sup> [96]. Обонятельная область обеспечивает прямой доступ веществ в головной мозг через обонятельные луковицы из обонятельного эпителия [51, 204]. Строение носовой полости представлено на Рисунке 1 [22].

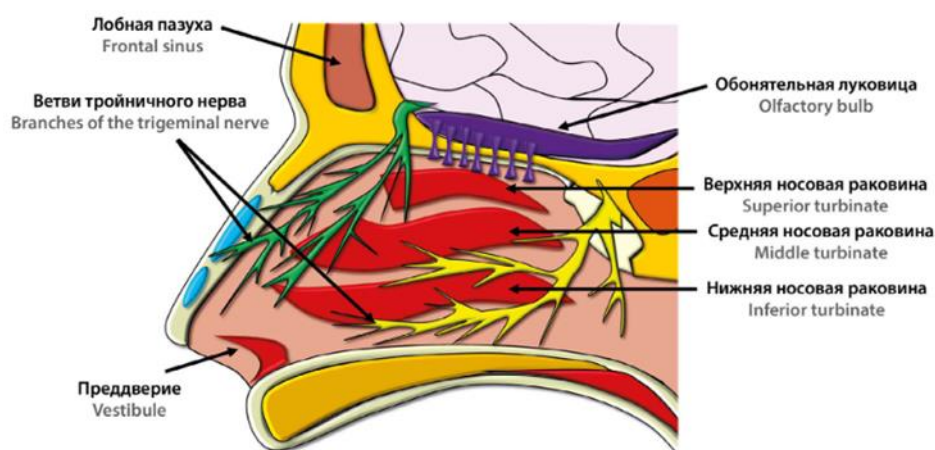


Рисунок 1 – Схематичное строение носовой полости [22]

Доставка ЛС из носа в мозг имеет свои сложности: ограниченный объем носовой полости, а значит и ограниченный объем ЛП, которое может быть введено, система мукоцилиарного клиренса, а также действие ферментов и механизмы

транспорта [104, 181]. На БД ЛП в органе-мишени будет оказывать влияние устройство для введения ЛС, молекулярная масса (ММ) ЛС и его растворимость [167].

В связи с этим, многообещающим направлением становится область разработки и исследования новых систем доставки ЛС из носа в мозг, обладающих повышенной вязкостью, мукоадгезивными свойствами или способностью к быстрому всасыванию [21, 238].

## 1.2. Мукоадгезивные системы доставки лекарственных средств

Способность материалов к адгезии представляет широкий интерес для фармацевтической промышленности ввиду их использования в качестве вспомогательных веществ для таргетной доставки, пролонгированного действия и повышения БД ЛС [212].

Биодгезия – это состояние, при котором два материала, один из которых имеет биологическую природу, удерживаются вместе в течение продолжительного периода времени межфазными силами. Если адгезия совершается к слизистой оболочке, то в таком случае говорят о мукоадгезии [98]. Слизистые оболочки — это влажные поверхности, выстилающие стенки различных полостей тела, состоящие из соединительнотканного слоя и эпителиального слоя, покрытого слизью. Основными компонентами слизи являются муциновые гликопротеины, липиды, неорганические соли и вода. Каждая единица муцина состоит из белковых цепочек (12–17%) и звеньев олигосахаридов (63%). Белки включают 70% серина, треонина и пролина, олигосахаридные остатки – *N*-ацетилгалактозамин, *N*-ацетилглюкозамин, галактозу, фукозу и *N*-ацетилнейрамовую кислоту (сиаловую кислоту) [134]. Большинство муцинов несут суммарный отрицательный заряд из-за присутствия карбоксилатных групп (сиаловой кислоты) и сульфатов сложных эфиров на концах некоторых олигосахаридов [243].

Существует несколько теорий, описывающих механизм адгезии к слизистой [47, 135, 186]. Электронная теория предполагает, что адгезия возникает за счет электростатического взаимодействия гликопротеина муцина и биоадгезивного материала. Теория смачивания предполагает тесный контакт и способность жидкого материала самопроизвольно растекаться на поверхности слизистой. Теория адсорбции объясняет биоадгезивную способность материалов возникновением вторичных сил, таких как водородные связи и Ван-дер-Ваальсово взаимодействие. Теория диффузии основана на взаимопроникновении муциновых нитей слизистой в пористую структуру полимерного субстрата. Механическая теория предполагает, что адгезия возникает в результате контакта жидкого материала с неровностями на шероховатой поверхности слизистой оболочки.

В адгезии материала к слизистой оболочке выделяют 2 стадии: стадия контакта, когда происходит тесный контакт между мукоадгезивным материалом и слизистой оболочкой, и стадия консолидации, когда происходят различные физико-химические взаимодействия для консолидации и укрепления мукоадгезии [72].

Мукоадгезивные системы доставки ЛС могут быть представлены в виде таблеток, пастилок, твердых вставок, пластин, пессариев, пленок, гелей, вязких растворов, суспензий микро- и наночастиц и спреев. Большинство этих ЛФ содержат полимерные наполнители, которые и играют важную роль в их мукоадгезивности. Некоторые мукоадгезивные полимеры могут не только увеличивать время пребывания ЛФ в месте введения, но также могут усиливать проницаемость ЛС через эпителий за счет модификации плотных контактов между клетками [53]. Мукоадгезивные свойства полимеров зависят от их структуры и наличия заряженных или неионогенных функциональных групп, способных взаимодействовать с поверхностями слизистой оболочки путем образования водородных связей. Таким образом, можно выделить основные свойства, которые оказывают влияние на способность полимеров к мукоадгезии: возможность образовывать сильные водородные связи за счет наличия функциональных групп (карбокисильные, гидроксильные, амино- и сульфатные группы), наличие

катионных и анионных зарядов, большая ММ полимера, гибкость полимерной цепи, а также свойства поверхностной энергии [117].

Катионные полимеры несут положительный заряд и обладают отличными мукоадгезивными свойствами, за счет электростатического взаимодействия они связываются с отрицательно заряженными группами гликопротеинов муцина. В фармации применяется катионный полисахарид природного происхождения – хитозан [214]. Аминогруппы хитозана образуют связи с карбоксильными группами липидов и жирных кислот, и, тем самым, улучшается всасывание ЛС на поверхности слизистой [228]. Хитозан обладает антимикробными и ранозаживляющими свойствами, он не растворим в воде, обладает способностью образовывать пленки. Хитозан может быть использован для контролируемой доставки ЛС для лечения заболеваний полости рта: кариес зубов и грибковые инфекции [65]. Существуют исследования по созданию химически модифицированных форм хитозана для улучшения его физико-химических, фармацевтических и фармакологических свойств [229]. Наночастицы на основе хитозана могут быть использованы для интраназальной доставки ЛС в мозг [90]. Проводились исследования по разработке хитозановых наночастиц для интраназальной доставки дигидрохлорида прамипексола в терапии болезни Паркинсона. Доказана их эффективность в сравнении с оральными таблетированными ЛФ и введением ЛС в виде раствора интраназально *in vivo* [196]. Хитозан также может быть использован для получения микрокапсул. Разработаны системы доставки микрочастиц на основе тиолированного конъюгата хитозана для назального применения инсулина [115]. В качестве примеров синтетических катионных полимеров, обладающих мукоадгезивными свойствами, можно выделить производные метакриловой кислоты – полиметакрилаты, за счет наличия третичных amino- и четвертичных аммониевых групп [64, 107, 153]. Анионные полимеры (производные поли(мет)акриловых кислот, карбоксиметилцеллюлоза, альгинат натрия и поли-[(малеиновая кислота)-ко-(винилметилэфир)]) проявляют мукоадгезивные свойства за счет способности протонированных карбоксильных групп образовывать водородные связи с муцином при кислых

значениях pH [149, 165]. Карбополы (карбомеры, производные редкосшитой полиакриловой кислоты) способны к гелеобразованию при изменении значений pH, что может быть использовано в различных системах доставки ЛС, например, в офтальмологии [120]. Неионогенные полимеры обладают слабыми мукоадгезивными свойствами, чем полиэлектролиты [126].

Увеличить мукоадгезивность высокомолекулярных соединений возможно путем их модификации, введением новых функциональных групп и конъюгацией с другими молекулами: малеимиды, акрилаты, катехолы и др. [59]. Например, получение тиомеров – введение свободных тиолов в основной цепи полимера. Тиольные группы способны образовывать дисульфидные связи с остатками цистеина в составе поверхности слизистой оболочки, тем самым обеспечивая мукоадгезивные свойства [57, 118, 129]. 1,2-цис-диола в составе производных бороновой кислоты, например, фенилбороновой кислоты (ФБК), могут взаимодействовать с остатками олигосахаридов слизистой, что придает молекуле мукоадгезивные свойства [112, 114]. Производные ФБК могут быть представлены в виде водорастворимых синтетических полимеров, гидрогелей, наночастиц, мицелл и применяются в различных системах доставки ЛС, анализа ЛС, разделения гликопротеинов и клеток [50, 99, 177, 208, 218]. ФБК соединения также активно применяются в разработке и исследовании мукоадгезивных систем доставки ЛС: вагинальная, интраназальная и окулярная [82, 124, 148, 160, 190, 191]. Наличие малеимидных групп в структуре наногелей, липосом или наночастиц обеспечивает мукоадгезивность за счет тиол-ен «клик» реакций с тиольными группами цистеина гликопротеинов слизистой путем образования ковалентных связей [130, 132, 155]. Акрилоилирование – это еще один способ модификации высокомолекулярных соединений с целью улучшения мукоадгезивных свойств. Акрилоилированные полимеры впервые были предложены Davidovich-Pinhas и Bianco-Peled, они также образуют сильные ковалентные связи с цистеиновыми остатками гликопротеинов на поверхности слизистой оболочки [76]. Например, акрилоилирование было проведено для катионного терполимера Eudragit® EPO, результаты *ex vivo* с

использованием изолированной слизистой носа овец показали значительные результаты мукоадгезии [193].

### 1.3. Мукуспроникающие системы доставки лекарственных средств

На поверхности слизистой лучшее распределение и более глубокое и быстрое проникновение ЛС возможно за счет применения мукуспроникающих систем и частиц [163]. Мукуспроникающие системы могут лучше проникать через слой геля мукуса слизистой оболочки и достигать эпителия, тем самым обеспечивая бóльшую БД ЛП в органе-мишени [86, 116]. Мукуспроникающие системы можно условно разделить на 2 группы: активные и пассивные [163]. Активные мукуспроникающие системы взаимодействуют с мукусом слизистой и посредством химических реакций изменяют свойства слизи или свои свойства, и в результате быстрее достигают слоя эпителия. Пассивные мукуспроникающие системы, напротив, не вступают во взаимодействия с мукусом, а пассивно продвигаются к эпителиальному слою за счет своих физико-химических свойств.

К пассивным мукуспроникающим системам можно отнести частицы, имитирующие вирусы. Вирусы – это частицы, которые наилучшим образом преодолевают слизистый барьер, они способны быстро диффундировать через мукус, аналогично физиологическому раствору [83]. В частности, через мукус эффективно проникают вирусы: полиомиелита, Норуолка, гепатита В, аденовирусы, ротавирусы и папилломы человека [116]. Поверхность вируса имеет высокую плотность положительного или отрицательного заряда, поэтому не может взаимодействовать с мукусом. Примером такой системы может служить комбинация хитозана и хондроитинсульфата, которую использовали для получения наночастиц с одинаковой плотностью положительных и отрицательных зарядов, имитирующих поверхность вируса [156]. Также мукуспроникающим свойством обладают некоторые полимерные соединения: полуксамеры и полиэтиленгликоль

(ПЭГ). Поллоксамеры (Pluronic<sup>®</sup>, Lutrol<sup>®</sup> и Synperonic<sup>®</sup>) – это неионогенные сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена, содержащие гидрофильные и гидрофобные фрагменты из полиоксиэтилена и полиоксипропилена, соответственно [102]. Покрытие частиц поли-(молочно-гликолевая кислоты) Pluronic<sup>®</sup> F-127 улучшило их диффузию на слизистой носа [84]. Было проведено исследование по улучшению мукуспроницающих свойств липосом, модифицированных Pluronic<sup>®</sup> F-127, на поверхности слизистой тонкого кишечника [173]. Наиболее часто используемым способом получения мукуспроницающих систем – их ПЭГилирование, а именно модификация молекулой ПЭГа [193]. ПЭГ – это биосовместимый полимер с очень низкой иммуногенностью и антигенностью и отсутствием токсичности [87]. Высокое содержание атомов кислорода в макромолекулах ПЭГ позволяет им связываться с несколькими молекулами воды. Подобный эффект влечет за собой образование «водяного облака» вокруг модифицированных молекул, что существенно увеличивает их гидродинамический радиус, в результате это улучшает проникновение через слизистую и обеспечивает защиту от протеолитических ферментов [30]. Имеются исследования по разработке частиц, модифицированных молекулой ПЭГа, на основе полимеров [152, 175], липосом [103, 145], носителей генов [127] и витаминов [52].

Активные мукуспроницающие системы, или муколитические, воздействуют на мукус и обладают способностью к его расщеплению. В состав микро- и наночастиц вводят вещества, разрушающие дисульфидные связи мукуса на поверхности слизистой [157]. Другой вариант создания активных мукуспроницающих систем – иммобилизация ферментов на поверхности микро- и наночастиц (бромелайн, папаин, проназа и трипсин), разрушающих амидные связи гликопротеинов муцина [80, 197]. Разрушение мукуса позволяет частицам быстрее проникать через слизистый слой и достигать эпителия.

#### 1.4. Микрочастицы в системах доставки лекарственных средств

Микрочастицы, микросферы и МК за счет своих структурных особенностей имеют ряд преимуществ и поэтому могут быть использованы в различных системах доставки ЛС [179]. Микрокапсулирование используется для снижения иммуногенности клеток животных, иммобилизации ферментов, в качестве носителей ЛС, пробиотических средств и витаминов, а также в качестве способа преодоления резистентности к антибактериальным препаратам [25, 35]. МК могут быть использованы в составе таблеток, суспензий и подкожных имплантов [38]. На Рисунке 2 представлены виды сферических и несферических микрочастиц [144]. Размер микрочастиц варьирует в диапазоне 1 – 1000  $\mu\text{м}$  [73]. Их преимущество заключается в том, что микрочастицы не проникают в интерстиций размером более 100 нм, транспортируемым лимфой, и, таким образом, действуют локально [241].

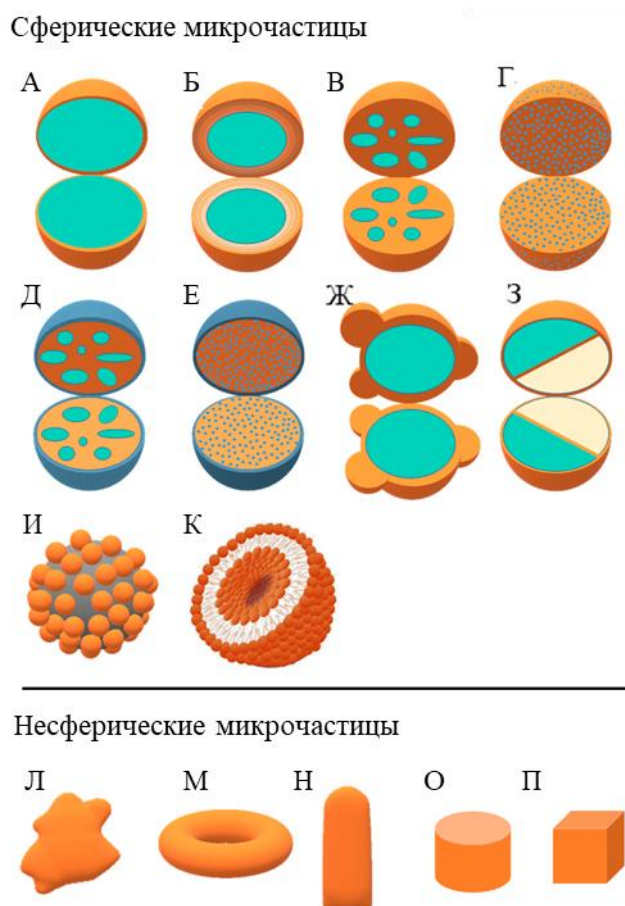


Рисунок 2 – Схематическое изображение различных типов микрочастиц: (А) моноядерная/однойдерная/ядро-оболочка микрочастица, (Б) многостенная микрочастица, (В) полиядерная/многоядерная микрочастица, (Г) матричная частица, (Д) полиядерное ядро с покрытием, (Е) матричная частица с покрытием, (Ж) пятнистая микрочастица, (З) двухкамерная микрокапсула, (И) коллойдосома, (К) гигантская липосома, (Л) микрочастица неправильной формы, (М) микрочастица торообразной формы, (Н) микрочастица в форме пули, (О) микротаблетка и (П) микрочастица кубической формы [144]

Для получения микрочастиц используются полимеры природного и синтетического происхождения [62, 113, 231]. Также в производстве микрочастиц применяются производные целлюлозы [59, 69, 150], другие полисахариды [36, 128, 142, 188]. Для сшивания и укрепления применяют соединения неполимерной и полимерной природы:  $\text{CaCl}_2$ , глутаровый альдегид и поли-L-лизин, соответственно, а также ряд других. Полимеры, применяемые в получении микрочастиц, можно условно разделить на 2 группы: природные и синтетические. К природным относят полисахариды и белки, а к синтетическим – поли(молочно-гликолевую кислоту),

полимолочную кислоту, полиэтиленгликольдиакрилат, а также некоторые виды полиэфиров. Среди полисахаридов часто используют альгинат, хитозан, производные эфиров целлюлозы или агарозу. Для создания микросфер с модифицированным высвобождением ЛС применяют фибрин, желатин, коллаген и бычий сывороточный альбумин. Преимуществом природных полимеров является хорошая биоразлагаемость, а продукты их разложения безопасны и нетоксичны для организма человека. Однако, из-за их природного происхождения сложно обеспечить постоянство параметров качества (таких как размер, механические свойства и др.) между партиями производимых частиц. Микрочастицы на основе синтетических полимеров характеризуются очень хорошими механическими свойствами, стабильностью и контролируемым высвобождением ЛС [200].

Существуют различные химические и физико-химические методы получения микрочастиц, которые представлены в таблице 1 [141, 144].

Таблица 1 – Методы получения микрочастиц [141]

Метод	Размер получаемых частиц, $\mu\text{м}$
<b>Химические</b>	
Межфазная полимеризация	0,1 – 500
Полимеризация <i>in situ</i>	1 – 1000
<b>Физико-химические</b>	
Капельный метод	10 – 5000
Испарение растворителя	0,1 – 5000
Распылительная сушка	1 – 100
Распылительная заморозка	1 – 100
«Напыление» в псевдосжиженном слое	100 – 5000
Коацервация	2 – 1200
Полимер-полимерная несовместимость	0,5 – 1000

Продолжение Таблицы 1

Инкапсуляция сверхкритической жидкостью	0,02 – 20
Инкапсуляция многослойным полиэлектролитом	
Фазовая инверсия	0,5 – 5
Метод горячего расплава	1 – 1000
Метод вращающегося диска	5 – 1500
Коэкструзия	250 – 2500
Послойная сборка	0,02 – 20
Золь-гель инкапсуляция	2 – 20

Высвобождение ЛС из микрочастиц зависит от технологии их получения и исходных компонентов [26]. Основные процессы, участвующие в процессе выхода активного компонента из состава микрочастицы – растворение, диффузия, осмос и эрозия [149]. В случае матричной системы высвобождение может происходить несколькими способами. Через поры среда растворения проникает внутрь матрикса, что вызывает набухание полимерных цепей, осмотическое давление возрастает, что приводит к эрозии микрочастицы и выходу ЛС [195]. На высвобождение ЛС из МК оказывает влияние природа ядра и оболочки. Например, в гидрофильном ядре МК при её попадании в среду растворения происходит возрастание осмотического давления, что приводит к микротрещинам в структуре оболочке и выходу ЛС [144, 203].

Микросферы и МК привлекают большой интерес с точки зрения применения их в различных системах доставки ЛС. Микросферы – это матричные системы, в которых ЛС равномерно и однородно диспергировано, растворено или суспендировано [242]. Обычно микросферы имеют плохую растворимость в воде, но обладают способностью к поглощению воды, в результате чего набухают и образуют гель [187]. Полимерный носитель матрикса защищает ЛС от действия

факторов окружающей среды (температура, влажность, свет, кислород воздуха) или организм от раздражающего действия ЛС на поверхности слизистой и т.д. [233, 242]. МК – это гетерогенные частицы, которые имеют ядро (резервуар) и оболочку (мембрану) [184]. Данный тип ядро-оболочка позволяет создавать системы с заданными свойствами. Ядро может быть жидким, твердым или газовым, а оболочка обычно твердая и может быть изготовлена из различных материалов [202]. Кроме того, ЛС может быть загружено в разные слои ядра или оболочки, чтобы они могли последовательно высвобождаться в организме [72, 192]. В МК можно инкапсулировать как гидрофобные, так и гидрофильные материалы [143].

Интраназальная доставка микрочастиц оказывает как местное, так и системное действие ЛС, обеспечивая быструю абсорбцию и быстрое начало действия [108, 154, 161, 236]. Интраназальное введение ЛС в составе микрочастиц для доставки в мозг в терапии заболеваний ЦНС увеличивает БД ЛП и повышает эффективность лечения. Микросферы, за счет гелеобразования, обеспечивают длительный контакт с поверхностью слизистой носа и увеличивают время абсорбции ЛС. Микросферы с использованием Pluronic<sup>®</sup> марок PF-127 и PF-68 увеличивают БД лоразепама за счет пролонгации высвобождения ЛС на поверхности назальной слизистой в терапии судорожных состояний и эпилептического статуса [232]. Были разработаны микросферы на основе этилцеллюлозы и хитозана для интраназальной доставки ривастигмина в терапии болезни Альцгеймера, которые показали хорошие результаты поведенческих тестов у крыс *in vivo* [226]. Хитозановые микросферы, загруженные метотрексатом, полученные методом распылительной сушки, показали отличные результаты по БД (118%) в сравнении с раствором метотрексата, введенного интраназально. После внутривенного введения метотрексата, ЛС в срезах мозга крыс обнаружено не было [140]. Мукоадгезивные микросферы на основе гидроксипропилметилцеллюлозы обеспечивают быструю доставку трамадола гидрохлорида в головной мозг при его интраназальном введении, что было доказано в радиовизуализирующем исследовании на кроликах [79]. Интраназальная доставка нейропротектора, дефероксамина мезилата, в составе микрочастиц хитозана и метил-β-

циклодекстрина обеспечивает концентрацию препарата в спинномозговой жидкости от  $3,83 \pm 0,68$  мкг/мл (микрочастицы хитозана) до  $14,37 \pm 1,69$  мкг/мл (микрочастицы метил- $\beta$ -циклодекстрина) через 30 мин после введения [215].

На фармацевтическом рынке можно встретить такие ЛП, содержащие МК, как, «Сустак» (продолгованная форма нитроглицерина), «Декапептил депо» (декапептил продолгованного действия), «Панкрелипаза» (иммобилизованные ферменты), «Пробинорм» (микрокапсулированные лакто- и бифидобактерии) [28].

### **1.5. Наноразмерные частицы в системах доставки лекарственных средств**

На сегодняшний день разработка и применение наночастиц в области медицины и фармации – это широкая область исследований [29, 32]. Нанотехнологии могут быть использованы в диагностике и терапии заболеваний, в системах контролируемой и модифицированной доставки ЛС [4, 147, 174, 190, 209]. Наночастицы имеют размер в диапазоне от 1 до 100 нм, и поэтому отлично захватываются клетками организма человека. Их получают на основе биоразлагаемых веществ: белков, нуклеиновых кислот, липидов или синтетических материалов. Использование наночастиц в системах доставки ЛС позволяет модулировать фармакокинетику, улучшать физико-химические свойства свободных ЛС, а также повышает стабильность и снижает токсичность ЛС [77]. В зависимости от метода получения, наночастицы обладают разными физико-химическими свойствами (размер, форма и заряд) [56]. Загрузочная ёмкость, % (ЗЁ, %) ЛС – один из основных параметров оценки наночастиц. ЗЁ, % – это соотношение ЛС к общей массе носителя. С одной стороны наночастицы должны вмещать достаточное количество ЛС для оказания фармакологического эффекта, с другой стороны, чем меньше частица, тем легче она проникает в ткани и клетки и преодолевает биологические барьеры [178]. Другой важный фактор, влияющий на биораспределение наночастиц в организме, это поверхностный заряд.

Положительно заряженные частицы способны взаимодействовать с отрицательно заряженными клеточными мембранами, тем самым обеспечивают лучшее проникновение в клетку [181, 237]. А нейтральные и отрицательно заряженные частицы сохраняются в лизосомах при интернализации, в то время как, положительно заряженные наночастицы способны локализовать перинуклеарный участок и выходить из лизосом [160]. Улучшить поглощение частиц клетками возможно путем модификации различными молекулами: ПЭГ, хитозан, дидецидиметиламмоний бромид и др. [58, 198].

Наночастицы находят широкое применение в системах доставки ЛС в ЦНС. Они обеспечивают перенос ЛС через ГЭБ за счет своего размера, реакционной способности, прочности, чувствительности, растворимости и других свойств [176]. Для доставки ЛС в составе наночастиц в ЦНС используются неинвазивные и инвазивные методы, а также и альтернативные пути. Неинвазивные методы задействуют эндогенные клеточные механизмы доставки ЛС через ГЭБ, в то время как, инвазивные методы предполагают введение наночастиц непосредственно в ткань головного мозга путем внутрижелудочковых, интратекальных или интерстициальных инъекций, а также методы, основанные на разрушении ГЭБ посредством использования осмотических, ультразвуковых, химических или магнитных методов [159]. Наиболее популярными наноносителями являются наночастицы на основе полимеров [168]. Полимерные наночастицы обладают высокой ЗЕ, %, обеспечивают химическую универсальность и простоту в функционализации поверхности различными молекулами [74]. На основе полимеров можно получить наночастицы [195], мицеллы [111], нанокапсулы [151] и дендримеры [166]. Для интраназальной доставки ЛС используются полимеры синтетического и природного происхождения: поли(капролактон), поли(молочная кислота), поли(молочно-гликолевая кислота), поли(этиленгликоль)-поли(молочно-со-гликолевая кислота) кислота), желатин, пуллулан, альгинат, гиалуронат натрия и человеческий сывороточный альбумин [224]. Среди полисахаридов можно выделить хитозан и его производные за счет мукопроницающих и мукоадгезивных свойств [201]. Доставка мукоадгезивных частиц основана на удержании частиц с

ЛС в носовой полости, за счет их взаимодействия с муцином слизистой, что приводит к пролонгации процесса высвобождения ЛС и повышению БД [152]. Хитозановые наночастицы показали отличные результаты эффективности по интраназальной доставке мидазолама, ропинирола гидрохлорида и ротиготина [67, 170, 227]. Для покрытия наночастиц также используются гелеобразующие *in situ* полимеры природного (хитозан, ксилан, гиалуроновая кислота, пектин и др.) и синтетического происхождения (полиоксамеры марок Р407 и Р188, этилгидроксиэтилцеллюлоза, карбополы и др.) [68, 219]. Они демонстрируют хороший переход золь-гель, который можно легко изменить путем образования комплекса с другими полимерами или посредством химической модификации [24, 63].

Для увеличения мукопроницающих свойств наночастиц применяется их модификация путем введения дополнительных молекул, поверхностно-активных веществ (ПАВ), таких как полисорбат 80 (Tween<sup>®</sup> 80) и полуксамер 407 (Pluronic<sup>®</sup> F127) [164]. ПАВ уменьшает взаимодействие с муцином и обеспечивает хорошую проницаемость в слизистую [206].

Липидные наночастицы получают на основе биоразлагаемых и биосовместимых липидов, они обеспечивают высокие показатели ЗЕ,%, БД, стабильности и защиты ЛС [176]. Они состоят из гидрофильной и липофильной фазы, стабилизированные ПАВ. Среди липидных наночастиц можно выделить липосомы [189], наноэмульсии [162], нанокapsулы [66], твердые липидные наночастицы [199], наноструктурированные липидные носители [93] и кубисомы [158]. В терапии заболеваний ЦНС для интраназальной доставки ЛС особый интерес демонстрируют липосомы. Это сферические везикулы, которые состоят из одного или нескольких липидных слоев, с гидрофильным содержимым [27, 122]. Для их получения используют различные методы: метод гидратации тонкой пленки, звуковой метод, метод высокого давления, метод растворения и удаления детергента и метод испарения с обращением фаз [31]. Эффективность ЛС оказалась выше при их интраназальном введении в составе липосом в сравнении с внутривенным введением: для трамадола [233], пентамидина [106] и ривастигмина [54].

Неорганические материалы, за счет своей химической активности и возможности химической или биологической модификации, также широко исследуются с целью доставки ЛС из носа в мозг. Неорганические наночастицы получают на основе серебра, золота, оксида железа, кремнезема, графена и т. д. [220]. Для доставки плохо растворимых соединений могут быть использованы нанокристаллы, это кристаллические наночастицы ЛС, стабилизированные слоем ПАВ [110, 137].

## 1.6. Выводы по главе 1

1. Интраназальный путь введения ЛС в терапии заболеваний ЦНС имеет ряд преимуществ: преодоление ГЭБ, отсутствие эффекта первого прохождения через печень и действия ферментов ЖКТ, высокая БД ЛС в ЦНС, быстрое наступление фармакологического эффекта. Однако, существуют и свои недостатки: система мукоцилиарного клиренса и большое количество муконазального секрета. В связи с этим создаются различные системы доставки ЛС: мукопроницающие, увеличивающие скорость проникновения ЛС в слизистую и его попадание в головной мозг, и, мукоадгезивные – пролонгирующие время пребывания ЛС на слизистой, что увеличивает его БД.

2. Среди мукоадгезивных систем применяются микроразмерные (микросферы и микрокапсулы) и наноразмерные частицы. Существует несколько теорий, описывающих механизм адгезии к слизистой: электронная теория, теория смачивания, теория адсорбции, теория диффузии и механическая теория. Мукоадгезивные свойства частиц зависят от их структуры и наличия заряженных или неионогенных функциональных групп, способных взаимодействовать с поверхностями слизистой оболочки путем образования водородных связей. Увеличить мукоадгезивность высокомолекулярных соединений возможно путем их

модификации, введением новых функциональных групп и конъюгацией с другими молекулами: малеимиды, акрилаты, катехолы и др.

3. Мукусупроницающие системы получают на основе наночастиц с применением полимеров, липидов или неорганических материалов, которые можно условно разделить на 2 группы: активные (взаимодействуют с мукусом слизистой и посредством химических реакций изменяют свойства слизи или свои свойства) и пассивные (пассивно продвигаются к эпителиальному слою за счет своих физико-химических свойств). Наиболее часто используемым способом получения мукусупроницающих систем – их ПЭГи́лирование, а именно модификация молекулой ПЭГа, что приводит к улучшению проникновения через слизистую и обеспечению защиты от протеолитических ферментов

4. Интраназальная доставка микрочастиц оказывает как местное, так и системное действие ЛС, обеспечивая быструю абсорбцию и быстрое начало действия. Интраназальное введение ЛС в составе микрочастиц для доставки в мозг в терапии заболеваний ЦНС увеличивает БД ЛП и повышает эффективность лечения. Размер микрочастиц варьирует в диапазоне 1 – 1000  $\mu\text{m}$ , а для их получения используются полимеры природного и синтетического происхождения, полисахариды и белки. Для сшивания и укрепления применяют соединения неполимерной и полимерной природы:  $\text{CaCl}_2$ , глутаровый альдегид и поли-L-лизин, соответственно, а также ряд других.

5. Наночастицы находят широкое применение в системах доставки ЛС в ЦНС. Они обеспечивают перенос ЛС через ГЭБ за счет своего размера, реакционной способности, прочности, чувствительности, растворимости и других свойств. Для интраназальной доставки ЛС используются полимеры синтетического и природного происхождения: поли(капролактон), поли(молочная кислота), поли(молочно-гликолевая кислота), поли(этиленгликоль)-поли(молочно-со-гликолевая кислота) кислота), желатин, пуллулан, альгинат, гиалуронат натрия и человеческий сывороточный альбумин], полисахариды, липидов. Увеличение мукусупроницающих свойств наночастиц достигается путем их модификации за счет введения дополнительных молекул, ПАВ, ПЭГ.

6. Таким образом, разработка и исследование новых мукоадгезивных и мукопроникающих систем доставки на основе микро- и наноразмерных частиц является перспективной областью исследований с целью доставки ЛС в мозг для лечения заболеваний ЦНС.

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объекты исследования

Для получения микро- и наноразмерных частиц, выступающих в качестве носителей леводопы, были использованы вещества, представленные в таблице 2.

Таблица 2 – Объекты исследования

Наименование	Производитель	Применение
<b>Eudragit® EPO</b>		
Катионный терполимер на основе производных метакриловой кислоты (диметиламиноэтилметакрилат, метилметакрилат и бутилметакрилат) с молярным соотношением мономерных звеньев 2:1:1 [78, 216]	Evonik Nutrition & Care GmbH, Германия	Используется для покрытия твердых дозированных форм с целью маскировки запаха и вкуса, защиты от деградации, улучшения растворимости.
<b>4-бромфенилбороновая кислота</b>		
(п-бромфенил)бороновая кислота	Thermo Fisher Scientific, США	Используется в органическом синтезе для получения производных с остатками ФБК.
<b>Альгинат натрия</b>		
Натриевая соль альгиновой кислоты	Panreac, ЕС	Природный полисахарид, источником которого являются бурые морские водоросли. Альгиновая кислота представляет собой смесь полисахаридов из D-маннуриновой кислоты и L-гулуриновой кислоты. Используется в качестве эмульгатора или желирующего агента.

Продолжение Таблицы 2

<b>L-альфа-фосфатидилхолин</b>		
[(2R)-3-гексадеканоиокси-2-[(9E,12E)-октадека-9,12-диеноил]оксипропил] 2-(триметилазанийил)этилфосфат.	Alfa Aesar, Великобритания	L-альфа-фосфатидилхолин (лецитин) (ФХ) используется в качестве эмульгатора и стабилизатора в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности. Лецитин принимают как ЛС, а также используют при производстве ЛС.
<b>Холестерин</b>		
3β-Гидрокси-5-холестен, 5-холестен-3β-ол.	Sigma-Aldrich, Великобритания	Холестерин (ХС) – это липид, составляющий около 20–25% структурных компонентов клеточных мембран. Он определяет текучесть и проницаемость мембраны для воды, ионов и протонов. Используется для производства стероидных гормонов и витамин D.
<b>[N-(карбонил метоксиполиэтиленгликоль-1000)-1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин, натриевая соль]</b>		
1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[карбокси(полиэтиленгликоль)-1000] (натриевая соль) (МПЭГ1000-ДФЭ)	Avanti Polar Lipids, США	Используется для получения липосом.
<b>[N-(карбонил метоксиполиэтиленгликоль-2000)-1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин, натриевая соль]</b>		
1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[карбокси(полиэтиленгликоль)-2000] (натриевая соль) (МПЭГ2000-ДФЭ).	Avanti Polar Lipids, США	Используется для получения липосом.

## Продолжение Таблицы 2

<b>[N-(карбонил метоксиполиэтиленгликоль-3000)-1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин, аммониевая соль]</b>		
1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-3000] (аммониевая соль) (МПЭГ3000-ДГФЭ).	Avanti Polar Lipids, США	Используется для получения липосом.
<b>[N-(карбонил метоксиполиэтиленгликоль-5000)-1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин, аммониевая соль]</b>		
1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-5000] (аммониевая соль) (МПЭГ5000-ДГФЭ).	Avanti Polar Lipids, США	Используется для получения липосом.
<b>Флуоресцеинат натрия</b>		
Натриевая соль флуоресцеина	Sigma-Aldrich, Великобритания	Используется в качестве красителя, растворы имеют яркую зеленую флуоресценцию. Применяется в офтальмологии для диагностической ангиографии и ангиоскопии.
<b>Pluronic® F127</b>		
2-[2-(2-гидроксиэтокси)пропокси]этанол.	Sigma-Aldrich, Великобритания	Неионогенный детергент. Используется в качестве эмульсификатора и солюбилизатора.
<b>Леводопа</b>		
3,4-дигидрокси-L-фенилаланин	Sigma-Aldrich, Великобритания	Противопаркинсоническое средство, предшественник дофамина. Леводопа проникает через ГЭБ, путем декарбоксилирования, под действием декарбоксилазы ароматических L-аминокислот, образует дофамин, что восполняет его дефицит в ЦНС. Леводопа стимулирует дофаминергические

Продолжение Таблицы 2

		рецепторы. Количество леводопы, которое достигает головного мозга, составляет 1 – 3%. Образовавшийся дофамин из леводопы на периферии не может преодолеть ГЭБ, что приводит к развитию побочных эффектов: ортостатическая гипотензия, тошнота, рвота и др.
--	--	--

## 2.2. Методы исследования

### 2.2.1. Получение модифицированного Eudragit® EPO

Для повышения мукоадгезивных свойств EPO было проведено получение модифицированного EPO с применением 4-бромфенилбороновой кислоты (4БФБК), в структуре которой имеются гидроксильные группы, обладающие адгезивными свойствами на поверхности слизистой [34]. Готовили растворы EPO и 4БФБК в тетрагидрофуране (ТГФ). Затем к раствору EPO капельно при постоянном перемешивании прибавляли раствор 4БФБК, содержащий триэтиламин (ТЭА). Получение проводили при температуре 50°C в течение 24 ч. Полученный раствор модифицированного EPO (BEPO) очищали от органического растворителя методом диализа с применением диализной мембраны ММО = 12-14 кДа (Medicell Int. Ltd., Великобритания). Диализ проводили в течение 2 суток против 7мМ HCl, затем 2 суток против деионизированной воды со сменой жидкости 3 раза в день. Полученный в ходе диализа осадок отделяли от раствора и проводили диализную очистку против 70% раствора этилового спирта, а затем

деионизированной воды. Полученные растворы замораживали при температуре -52°C и подвергали лиофильной сушке с применением сушилки Heto Power Dry LL 3000 (Thermo Electron Corporation, США) в течение 5 дней.

### **2.2.2. Инфракрасная спектроскопия**

ИК-спектроскопия ЕРО и ВЕРО проводилась на приборе Nicolet iS5 (Thermo Scientific, США) с приставкой нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Образцы измельчали до получения тонкоизмельченного порошка с помощью мельницы ShakIR (Pike Technologies, США) и размещали непосредственно на одиночный отражающий кристалл ZnSe и проводили сканирование в диапазоне спектра от 4000 до 400 см<sup>-1</sup>. Обработку полученных результатов проводили с применением программного обеспечения OMNIC spectra (Thermo Scientific, США).

### **2.2.3. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса**

<sup>1</sup>H-ЯМР спектроскопия ЕРО и ВЕРО проводилась на приборе DPX 400 МГц (Bruker, Германия). Готовили растворы образцов в дейтерированном хлороформе и дейтерированном растворе диметилсульфоксида (ДМСО). Затем полученные растворы помещали в 5 мм пробирки Норелла (Standard Series™ 400 МГц ЯМР).

#### **2.2.4. Термогравиметрический анализ**

Термогравиметрический анализ (ТГА) проводился на приборе Discovery TGA™ (TA Instruments, США). Для этого образцы массой 10 мг нагревали в алюминиевых тиглях от 30 до 500 °С со скоростью 10 °С/мин. Программное обеспечение TRIOS™ версии 3.1.5.3696 (TA Instruments, США) использовалось для обработки результатов ТГА.

#### **2.2.5. Дифференциальная сканирующая калориметрия**

Модулированную дифференциальную сканирующую калориметрию (мДСК) осуществляли на приборе Discovery DSC™ (TA Instruments, США), оборудованном системой охлаждения (RCS90). Исследование проводилось в атмосфере сухого азота марки 6.0 при скорости потока газа 50 мл/мин. Для этого образцы помещали в алюминиевые тигли Tzero® (TA Instruments, США). Для калибровки температурной шкалы мДСК в качестве стандартов использовали индий и н-октадекан. Используемые параметры модуляции: скорость нагрева 2 °С/мин, период 60 с. и амплитуда 0,636 °С. Программное обеспечение TRIOS™ версии 3.1.5.3696 (TA Instruments, США) использовалось для обработки результатов мДСК.

#### **2.2.6. Получение микрокапсул**

Микроразмерные частицы – микрокапсулы (МК) получали методом ультразвукового электрораспыления на приборе – инкапсулятор В-390 (BUCHI,

Швейцария) при помощи одинарной головки с форсункой диаметром 200 мкм (Рисунок 3). Затем полученные МК отфильтровывали под вакуумом, промывали деионизированной водой и высушивали лиофильно при  $-50^{\circ}\text{C}$  и 0,05 мБар в течение 48 ч. в сушилке FreeZone 1 L (Labconco, США) [235].

Для обеспечения мукоадгезивных свойств МК покрывали полимером ЕРО или ВЕРО. В структуре ЕРО присутствуют диметиламино группы, которые могут взаимодействовать с муцинами слизистой и адгезироваться на её поверхности. Использование ВЕРО приводит к увеличению адгезионных свойств микрочастиц за счет наличия гидроксильных групп. В качестве плёнкообразующего раствора использовали альгинат натрия. Кальция хлорид выступал в качестве сшивающего агента. Pluronic<sup>®</sup> F127 был предложен для использования в качестве эмульсификатора. Растворы альгината натрия и кальция хлорида готовили на деионизированной воде. Раствор ЕРО и ВЕРО получали его растворением в деионизированной воде с доведением рН до определённого значения с применением растворов 1н. NaOH и 1н. HCl. Для получения МК, загруженных ЛС, раствор альгината натрия готовили в водном растворе ЛС.

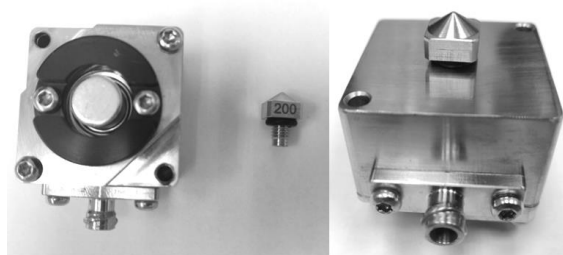


Рисунок 3 – Одинарная головка с форсункой диаметром 200 мкм для получения МК

### 2.2.7. Определение размеров микрокапсул

Была проведена микроскопия полученных МК с применением прямых микроскопов Primo Star (ZEISS, Германия) и Evident CX33 (Olympus, Япония), а также в УФ-свете с применением портативного источника ультрафиолетового

света (Jialitte F114, КНР) при помощи цифрового USB-микроскопа (OT INL40 1000X, КНР). Размеры МК оценивали с использованием программного обеспечения ImageJ 1.53e (ImageJ, США).

### **2.2.8. Расчет выхода, эффективности инкапсуляции и загрузочной ёмкости микрокапсул**

Для загрузки МК леводопой, плёнкообразующий раствор готовили в растворе ЛС. После фильтрации и промывки МК, анализировали фильтрат УФ-спектрофотометрически на количество леводопы, которое вышло в ретикуляционный раствор в процессе формирования МК и не инкапсулировалось. После чего осуществляли расчеты выхода, %, эффективности инкапсуляции (ЭИ,%) и загрузочной ёмкости (ЗЁ,%) МК.

### **2.2.9. Исследование высвобождения лекарственного средства из микрокапсул**

Высвобождение леводопы из простых МК и МК, покрытых ЕРО и ВЕРО, проводилось на приборе «Проточная ячейка» CE 7 Smart (Sotax AG, Швейцария), метод IV (ГФ РФ XV) [19], при температуре  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  в течение 3 ч. 0,05 г порошка лиофильно высушенных МК, загруженных леводопой, помещали в ячейку диаметром 22,6 мм вместе со стеклянными шариками диаметром 1 мм во избежание их всплывания в процессе эксперимента и обеспечения ламинарного потока среды растворения. В качестве среды растворения использовалась искусственная назальная жидкость (ИНЖ) (рН 5,8), скорость потока была подобрана наименьшей (2 мл/мин), с точки зрения максимального приближения к условиям передвижения секрета в назальной области. ИНЖ получали с

использованием 7,45 г NaCl, 1,29 г KCl и 0,24 г безводного CaCl<sub>2</sub> (pH 5,8) в 1000 мл деионизированной воды. Каждые 30 мин проводился отбор проб. Количество высвободившейся леводопы определялось УФ-спектрофотометрически на приборе Evolution™ 220 (Thermo Scientific, США).

### 2.2.10. Изучение мукоадгезивных свойств

Изучение мукоадгезивных свойств образцов проводилось по способности удержания на изолированной слизистой оболочке носовой перегородки овец [193]. Изолированную слизистую носа овцы получали путем диссекции носовой полости из голов овец. Головы овец получали из местной скотобойни менее, чем через 12 часов после убоя. Головы транспортировали в лабораторию в переносном холодильнике с температурным режимом 3-4 °С, с помощью ножниц извлекали носовую перегородку. Все ткани использовались в течение 24 часов после убоя животных. Изолированную ткань 1,5x1,0 см помещали на предметное стекло и промывали 1,0 мл искусственной ИЖ (pH 5,8).

Для изучения мукоадгезивных свойств МК, частицы нагружали флуоресцеинатом натрия. Высушенные 0,1 г. простых МК и МК, покрытых ЕРО, помещали на изолированную слизистую носа овцы и размещали в инкубаторе SI60 (Stuart, Великобритания) при температуре  $37,0 \pm 0,5$  °С. Затем с использованием шприцевого дозатора (Legato 110, KD Scientific Inc, США) в течение 1 часа проводили смыв с использованием ИЖ со скоростью 0,2 мл/мин и получали флуоресцентные изображения с использованием системы визуализации высокого разрешения CAMAG® TLC Visualizer 3 (CAMAG®, Швейцария). Каждый эксперимент повторяли 3 раза. Программное обеспечение ImageJ 1.53e (ImageJ, США) использовали для обработки полученных макроскопических изображений и построения графиков.

Для оценки мукоадгезивных свойств ЕРО и ВЕРО готовили растворы полимеров с флуоресцеинатом натрия. 10 мг полимера растворяли в 10 мл раствора флуоресцеината натрия (концентрация – 0,1 мг/мл), доводили рН растворов до значения 5,7 с применением растворов 1н. HCl и 1 н. NaOH, оставляли на ночь до полного растворения. 50 мкл раствора образца наносили на изолированную слизистую носа овцы и размещали в инкубаторе SI60 (Stuart, Великобритания) при температуре  $37,0 \pm 0,5$  °С. В течение 30 минут проводили смыв ИНЖ с использованием шприцевого дозатора (Legato 110, KD Scientific Inc, США) со скоростью 0,2 мл/мин и получали флуоресцентные изображения с использованием системы визуализации высокого разрешения SAMAG<sup>®</sup> TLC Visualizer 3 (SAMAG<sup>®</sup>, Швейцария). Каждый эксперимент повторяли 3 раза. Программное обеспечение ImageJ 1.53e (ImageJ, США) использовали для обработки полученных макроскопических изображений и построения графиков.

### 2.2.11. Получение липосом

Для получения наноразмерных частиц – липосом использовали метод «гидратация липидной пленки» [155]. С целью получения традиционных липосом и липосом, модифицированных молекулой ПЭГа (ПЭГилированных), обладающих мукуспроникающими свойствами, растворы ФХ (154,6 мг/мл), ХС (7,75 мг/мл) и МПЭГ-ДГФЭ с разной ММ ПЭГа (7,5 мг/мл) готовили в среде хлороформно-метанольной смеси в соотношении 2:1. Для получения липидной пленки смешивали растворы разных типов липидов в концентрациях, представленных в Таблице 3. Полученный раствор органического растворителя выпаривали в среде инертного газа – азота с помощью вакуум-роторного испарителя RV 10 control V auto (IKA<sup>®</sup> Werke GmbH, Германия).

Таблица 3 – Липидный состав традиционных и ПЭГилированных липосом

Тип липосом	ФХ (%)	ХС (%)	МПЭГ-ДГФЭ (%)
Традиционные	0,773	0,077	-
ПЭГилированные	0,773	0,077	0,075

Затем для удаления остатков органического растворителя полученную липидную пленку размещали на 12 часов в вакуум сушильный шкаф VDL 23 (BINDER GmbH, Германия). Следующий этап работы – гидратация липидной пленки в среде фосфатного буфера (ФБ) (pH 7,4) или раствора ЛС в 0,9% растворе натрия хлорида в течение 1 часа. Для образования липосом и получения суспензии проводили перемешивание в течение 30 минут на вортексе VORTEX Genius 3 (IKA® Werke GmbH, Германия). С целью уменьшения размеров частиц суспензию липосом обрабатывали ультразвуком в УЗ-бане Ultrasonic Water Bath - UB-505 (Thermoline Scientific, Австралия). Для удаления из раствора излишков липидов и частиц больших размеров, суспензию липосом центрифугировали с помощью центрифуги Eppendorf MiniSpin (Eppendorf AG, Германия) при скорости 14000 об/мин в течение 30 минут. Затем надосадочную жидкость фильтровали через шприцевой фильтр (0,45  $\mu\text{m}$ ) и полученную суспензию липосом помещали в лабораторный холодильник Paracels ХЛ-250 (Pozis, Россия) с температурным режимом от 2 до 8 °С.

### 2.2.12. Определение диаметра и дзета-потенциала липосом

Измерение среднего диаметра ( $d$ , нм), индекса полидисперсности ( $Pdi$ ) и дзета-потенциала ( $ZP$ , мВ) полученной суспензии липосом проводили методом динамического рассеивания света (ДРС) на приборе Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments, Великобритания). Для определения  $d$ , нм частиц и  $Pdi$  получали

разведение суспензии липосом в деионизированной воде (1:100). В одноразовую кювету из полистирола (Brand, Германия) помещали 1 мл полученного разведения при температуре 25°C. Каждое измерение состояло из 12 прогонов по 10 с. Величину дзета-потенциала измеряли с применением кювет со свернутыми капиллярными трубками DTS-1070 (Malvern Instruments, Великобритания). Каждое измерение проводили в трехкратной повторности.

### **2.2.13. Расчет эффективности инкапсуляции и загрузочной ёмкости липосом**

Для расчета ЭИ,% и ЗЁ,% 0,5 мл суспензии липосом, загруженных леводопой, помещали в центрифужные фильтры Amicon Ultra-0.5 Centrifugal Filter Unit (Merck KGaA, Германия) и центрифугировали 30 минут на приборе Eppendorf MiniSpin (Eppendorf AG, Германия) при скорости 10000 об/мин. Затем прибавляли 0,25 мл 0,9% NaCl и центрифугировали еще 30 минут при скорости 10000 об/мин. Данный этап повторяли дважды. Полученный фильтрат в разведении 1:10, содержащий свободное ЛС, (неинкапсулированное ЛС) анализировали УФ-спектрофотометрически на приборе Evolution™ 220 (Thermo Scientific, США). Все эксперименты были выполнены в 3-х кратной повторности.

### **2.2.14. Исследование высвобождения лекарственного средства из липосом**

Высвобождение леводопы из липосом было изучено с применением диффузионной ячейки Франца Phoenix™ diffusion cell (Teledyne Hanson, США) при температуре  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  в течение 3 ч [37]. 1 мл суспензии липосом, загруженных леводопой, помещали на диализную мембрану, толщиной в 0,1 мм (ММО = 12–14 кДа; Medicell Int. Ltd., Великобритания) или изолированную слизистую носа овцы,

толщиной в 0,2 мм. Перед экспериментом диализную мембрану предварительно оставляли на ночь в среде ИНЖ (рН 5,8). Изолированную слизистую носа овцы получали путем диссекции носовой полости из голов овец. Головы овец получали из местной скотобойни менее, чем через 12 часов после убоя. Головы транспортировали в лабораторию в переносном холодильнике с температурным режимом 3-4 °С, с помощью ножниц извлекали носовую перегородку. Затем скальпелем проводилось отделение слизистой (толщина контролировалась с помощью цифрового штангельциркуля), которая сразу же после извлечения использовалась для оценки высвобождения. Все ткани использовались в течение 24 часов после убоя животных. Высвобождение проводилось в среде ИНЖ (рН 5,8). Каждые 30 минут проводился отбор проб. Количество высвободившейся леводопы определялось УФ-спектрофотометрически на приборе Evolution™ 220 (Thermo Scientific, США).

### 2.2.15. Ультрафиолетовая спектрофотометрия

Количество леводопы в ходе расчета ЭИ,% и ЗЁ,% нано- и микроразмерных частиц, а также в исследовании высвобождения леводопы в ИНЖ определялось УФ-спектрофотометрически на приборе Evolution™ 220 (Thermo Scientific, США) при длинах волн 202 и 279 нм. Результаты количественно сравнивали с калибровочной кривой, полученной из стандартов леводопы 2, 4, 6, 8, 10 мкг/мл ( $r^2 = 0,9969$ ) и 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 мкг/мл ( $r^2 = 0,9992$ ).

### **2.2.16. Исследование мукуспроницающих свойств липосом**

Исследование мукуспроницающих свойств липосом проводилось по способности частиц проникать в слизистую ткань носовой перегородки овец [155]. Изолированную слизистую носа овцы получали путем диссекции носовой полости из голов овец. Головы овец получали из местной скотобойни менее, чем через 12 часов после убоя. Головы транспортировали в лабораторию в переносном холодильнике с температурным режимом 3-4 °С, с помощью ножниц извлекали носовую перегородку. Все ткани использовались в течение 24 часов после убоя животных. Изолированную ткань 1,5x1,0 см помещали на предметное стекло, промывали 1,0 мл искусственной ИЖ рН 5,8, наносили 20 мкл суспензии липосом, загруженных натрия флуоресцеинатом. Исследование проводилось в инкубаторе при температуре  $37,0 \pm 0,5$  °С. Через 0, 5, 15 и 30 мин слизистую помещали в среду для криомикротомии и замораживали при  $-40$  °С. Затем проводили поперечный срез на криостате Microm HM525 (Thermo Scientific, США), толщина среза – 100 мкм. Затем регистрировали флуоресцентное изображение среза с помощью мультиспектральной системы – камере билюминисцентного имиджинга UVP iBox Scientia (Analytik Jena GmbH, Германия, БиохимМак, Россия). Каждый эксперимент повторяли 3 раза. Программное обеспечение ImageJ 1.53e (ImageJ, США) использовалось для обработки полученных микроскопических изображений и построения графиков.

### **2.2.17. Оценка противопаркинсонической активности**

Леводопа – противопаркинсоническое ЛС, являющееся предшественником дофамина. Оценка противопаркинсонической активности проводилась по методике, основанной на угнетении дофаминергической передачи, в соответствии

с «Руководством по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов», утверждённым Решением Коллегии ЕЭК от 26.11.2019 г. №202 и ГОСТ Р 56701-2015 «Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств». [18, 40, 41]. Исследования на животных одобрены Локальным Этическим Комитетом Казанского государственного медицинского университета (протокол заседания № 4 от 23 апреля 2024 г.). Крысам вводили галоперидол (1 мг/кг) внутривентриально, что приводило к состоянию каталепсии. Затем интраназально с помощью специальной канюли в дозе 6 мг/кг животным вводили анализируемые образцы [23]. Положительный контроль – раствор леводопы в 0,9% растворе натрия хлорида. Отрицательный контроль – суспензия липосом, незагруженных ЛС. Испытуемая группа – суспензия липосом, загруженных леводопой.

Каталепсия – это состояние, в котором животное сохраняет искусственно созданную для него позу. Для этого животное располагают у горизонтального стержня, закрепленного на высоте 10 см диаметром 0,5 см так, чтобы оно опиралось на обе передние лапки («поза лектора»). Леводоба вызывает угнетение каталептогенного состояния. Затем регистрировали общее время, которое животное простоит в «позе лектора» в течение 3-х минут через 30, 60 и 120 минут после введения образцов. В каждой группе было по 6 животных<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Фармакологические исследования по оценке угнетения дофаминергической передачи у крыс проводились на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Казанского государственного медицинского университета под руководством зав. ЦНИЛа, д.м.н., профессора Семёной Ирины Ивановны.

### 2.2.18. Статистическая обработка данных

Статистический анализ проводился с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и двустороннего *t*-критерия Стьюдента в программном обеспечении Microsoft Excel 2021 MSO (Version 2503 Build), где  $p < 0,05$  считалось значимым. Все результаты представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение.

### 2.2.19. Дизайн исследования

Для обеспечения эффективности и безопасности новых систем доставки ЛС, которые в дальнейшем формируют качество ЛП, разрабатывается дизайн исследования, который составлен с учетом требований, представленных в руководствах по фармацевтической разработке (ICH Q8). Дизайн настоящего исследования представлен на Рисунке 4.

На подготовительном этапе был осуществлен анализ научной литературы и нормативно-правовой документации. На основе полученных данных была разработана методика получения модифицированной формы ЕРО – ВЕРО, технология получения МК, покрытых ЕРО и ВЕРО, и ПЭГилованных липосом, подобран оптимальный состав и выбраны методы их анализа. После проведения оценки физико-химических свойств мы перешли к экспериментам *ex vivo* с применением изолированной слизистой носовой перегородки овцы для анализа поведения полученных носителей на поверхности слизистой. Затем после оценки стабильности носителей следующим этапом стало проведение доклинических исследований по угнетению противопаркинсонической активности у крыс, вызванной внутрибрюшинным введением галоперидола. Заключительным этапом стало разработка технологической схемы получения каждого носителя и проекта

спецификации норм качества носителей для интраназальной доставки ЛС в мозг, обладающие мукоадгезивными и мукуспроникающими свойствами. В результате, нами были получены носители для интраназальной доставки – полупродукты, которые могут быть в дальнейшем использованы для производства ЛП, содержащие леводопу, для применения в терапии болезни Паркинсона.

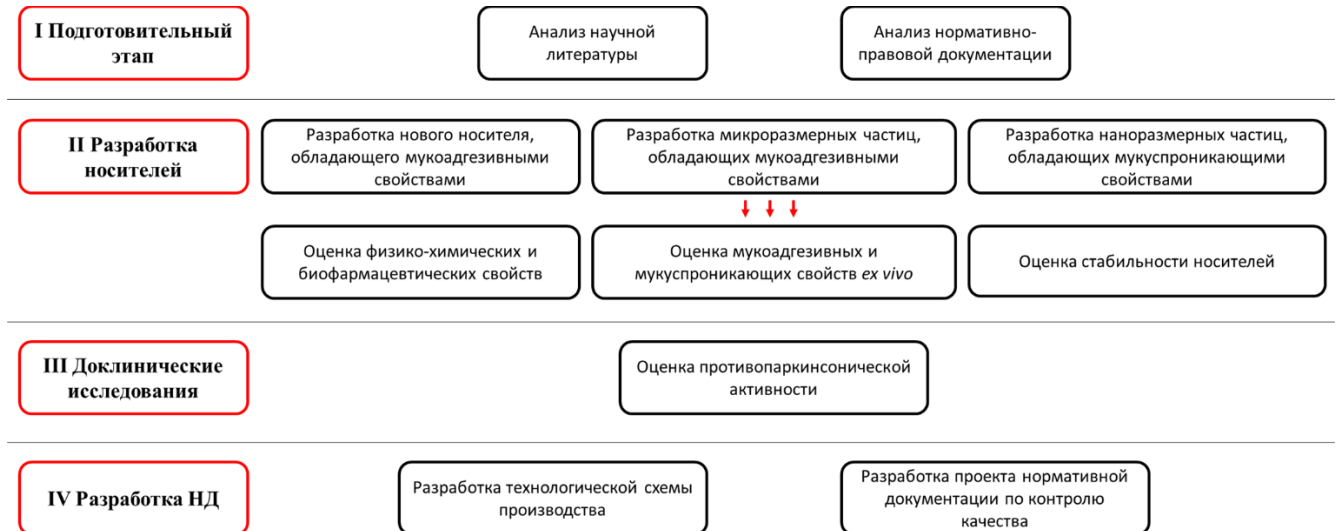


Рисунок 4 – Дизайн исследования

### ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНОГО НОСИТЕЛЯ НА ОСНОВЕ EUDRAGIT® EPO И 4- БРОМФЕНИЛБОРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕГО ИССЛЕДОВАНИЕ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ДОСТАВКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

#### 3.1. Разработка модифицированной формы Eudragit® EPO

EPO – тройной сополимер на основе метакрилатных мономеров обладает мукоадгезивными свойствами за счет наличия в своей структуре диметиламино групп. Предлагаемая химическая модификация его с помощью производного ФБК, ввиду наличия гидроксильных групп в её структуре, приводят к дополнительному взаимодействию с олигосахаридами муцина, обеспечивая усиление мукоадгезивных свойств EPO [17, 88].

Нами была разработана методика получения модифицированной формы EPO с применением 4БФБК (ВЕРО), которая включает в себя следующие этапы:

**Приготовление исходных растворов.** Приготовление раствора EPO: EPO отвешивают на аналитических весах и переносят в мерную колбу, прибавляют небольшое количество ТГФ до полного растворения EPO, доводят раствор до метки ТГФ, перемешивают. Приготовление раствора 4БФБК: 4БФБК отвешивают на аналитических весах и переносят в мерную колбу вместимостью, прибавляют небольшое количество ТГФ до полного растворения 4БФБК, прибавляют ТЭА для связывания выделяющегося HBr в ходе реакции, и доводят раствор до метки ТГФ, перемешивают.

**Получение ВЕРО.** Получение ВЕРО проводят под тягой в вытяжном шкафу в круглодонной колбе. Схематическое изображение установки представлено на Рисунке 5. Колбу устанавливают на нагревательной плитке с магнитной мешалкой, подключают обратный холодильник и термометр. Раствор EPO помещают в

круглодонную колбу. К раствору ЕРО капельно через капельную воронку прибавляют раствор 4БФБК при постоянном перемешивании и температуре 50<sup>0</sup>С. Затем полученный раствор оставляют на 24 ч. при постоянном перешивании.

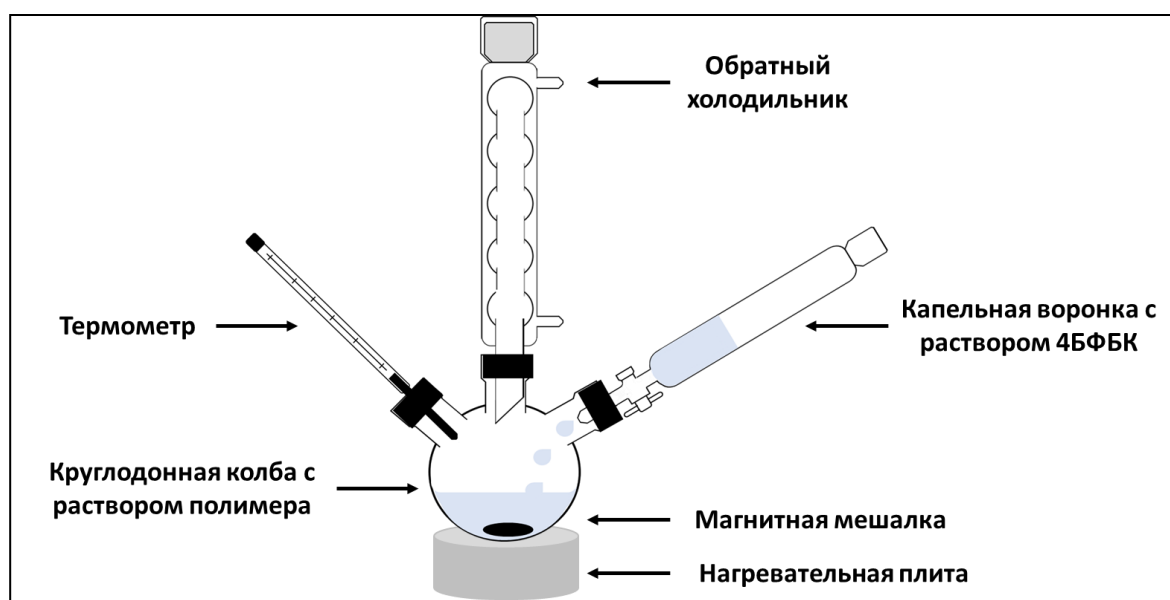


Рисунок 5 – Схема установки для получения ВЕРО

**Диализная очистка.** Полученный раствор переносят в диализную мембрану MWCO 12-14 kDa (Medicell Int. Ltd., Великобритания). Диализ проводится в темном месте при комнатной температуре. Проводят диализ против 7 мМ раствора хлористоводородной кислоты 24 ч. со сменой среды 3 раза. Затем проводят диализ против деионизированной воды 2 суток со сменой среды 3 раза. Затем проводят диализ против спирта этилового 70% 2 суток со сменой среды 3 раза. Затем проводят диализ против деионизированной воды 2 суток со сменой среды 3 раза. В результате диализа в диализной мембране выпадает осадок. Содержимое диализных мембран переносят в стакан.

**Фильтрация.** Проводится отделение осадка от растворов декантацией, а затем дополнительная фильтрация с применением стеклянной системы для вакуумной фильтрации.

**Лиофильная сушка.** Полученные растворы и осадок замораживают отдельно при -50<sup>0</sup>С в течение 24 ч. Затем замороженные образцы высушивают

лиофильно при  $-50^{\circ}\text{C}$  и 0,05 мБар в сушилке Heto Power Dry LL 3000 (Thermo Electron Corporation, США) в течение 5 дней. В результате лиофильной сушки образуется аморфный порошок, который не требует дополнительной обработки.

**Готовый продукт** представляет собой аморфный пористый порошок белого цвета с запахом Рисунке 6.



Рисунок 6 – Полученный порошок ВЕРО

В результате получения нами был получен химически модифицированный ЕРО с применением 4БФБК со степенью присоединения ФБК к диметиламино группам ЕРО – 25% (ВЕРО25) и 50% (ВЕРО50) (Рисунок 7). Выход ВЕРО25 составил 41%, ВЕРО50 – 31%. Материальный баланс получения ВЕРО25 и ВЕРО50 представлен в Таблице 4 и Таблице 5. Материальные потери в ходе производства могут быть обусловлены многостадийным процессом диализной очистки и стадией отделения осадка от раствора.

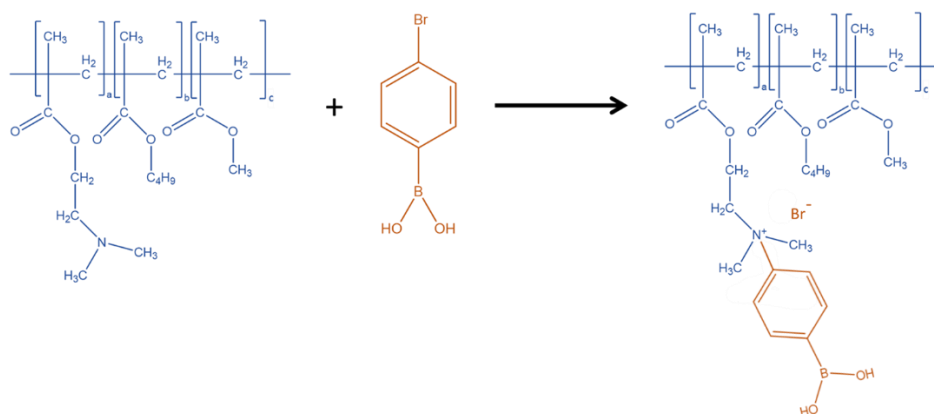


Рисунок 7 – Схема образования модифицированного Eudragit® EPO с применением 4-бромфенилборовой кислоты

Таблица 4 – Материальный баланс получения ВЕРО25

Израсходовано		Получено	
Наименование сырья и полупродуктов	Значение, г	Наименование конечного продукта, отходов и потерь	Значение, г
ЕРО	2,0000	<b>ВЕРО25</b>	1,3795
4БФБК	1,3900	<b>Потери и отходы</b>	
ТГФ	100,0000	ТГФ	100,0000
ТЭА	0,9700	ТЭА	0,9700
		Потери	2,0105
<b>Итого:</b>	<b>104,3600</b>	<b>Итого:</b>	<b>104,3600</b>

Таблица 5 – Материальный баланс получения ВЕРО50

Израсходовано		Получено	
Наименование сырья и полупродуктов	Значение, г	Наименование конечного продукта, отходов и потерь	Значение, г
ЕРО	2,0000	<b>ВЕРО25</b>	1,4751
4БФБК	2,7900	<b>Потери и отходы</b>	
ТГФ	100,0000	ТГФ	100,0000
ТЭА	1,9300	ТЭА	1,9300
		Потери	3,3149
<b>Итого:</b>	<b>106,7200</b>	<b>Итого:</b>	<b>104,3600</b>

Образование ВЕРО было подтверждено методами ИК- и  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопии. ИК-спектры были отдельно записаны для лиофильно высушенных осадков и растворов, образовавшихся в ходе диализной очистки (Рисунок 8). Характеристические полосы при 2820, 2822, 2870 и 2769  $\text{cm}^{-1}$  подтверждают наличие диметиламино групп, а при 963, 964, 989, 990 и 991  $\text{cm}^{-1}$  указывают на наличие четвертичных аммониевых групп в структуре ЕРО [85, 221]. Характеристические полосы в области 1605  $\text{cm}^{-1}$  соответствуют связям С-С ароматической системы, что указывает на присоединение ФБК к ЕРО [114].

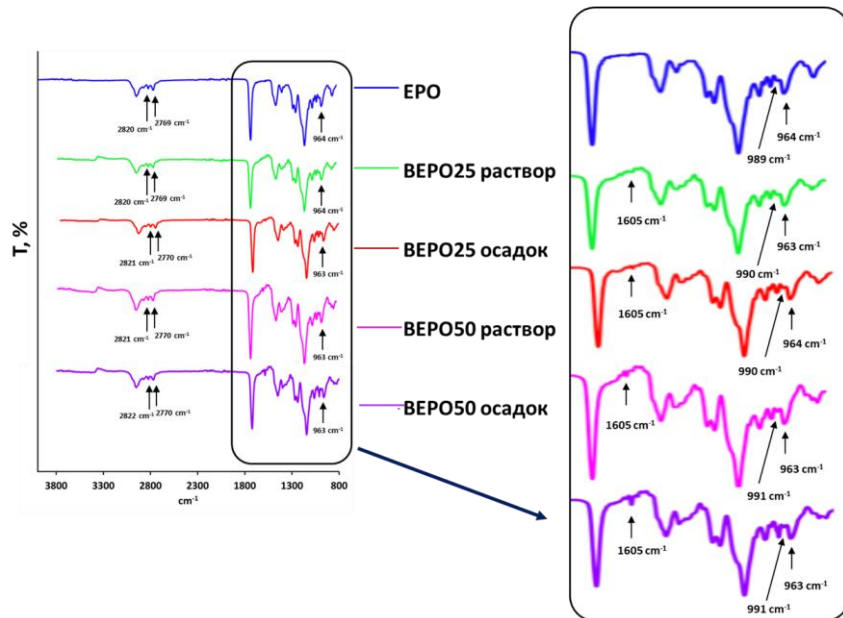


Рисунок 8 – ИК-спектры ЕРО, ВЕРО25 и ВЕРО50

На  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектрах ВЕРО можно наблюдать образование дополнительных пиков в диапазоне 7,8 и 7,5 ppm, которые отсутствуют на спектре ЕРО (Рисунок 9). Интенсивность пиков увеличивается с увеличением степени присоединения групп ФБК. Сигналы при 7,8 и 7,5 ppm относятся к атомам водорода в составе бензольного кольца, что свидетельствует о наличии ФБК в структуре ЕРО [114].

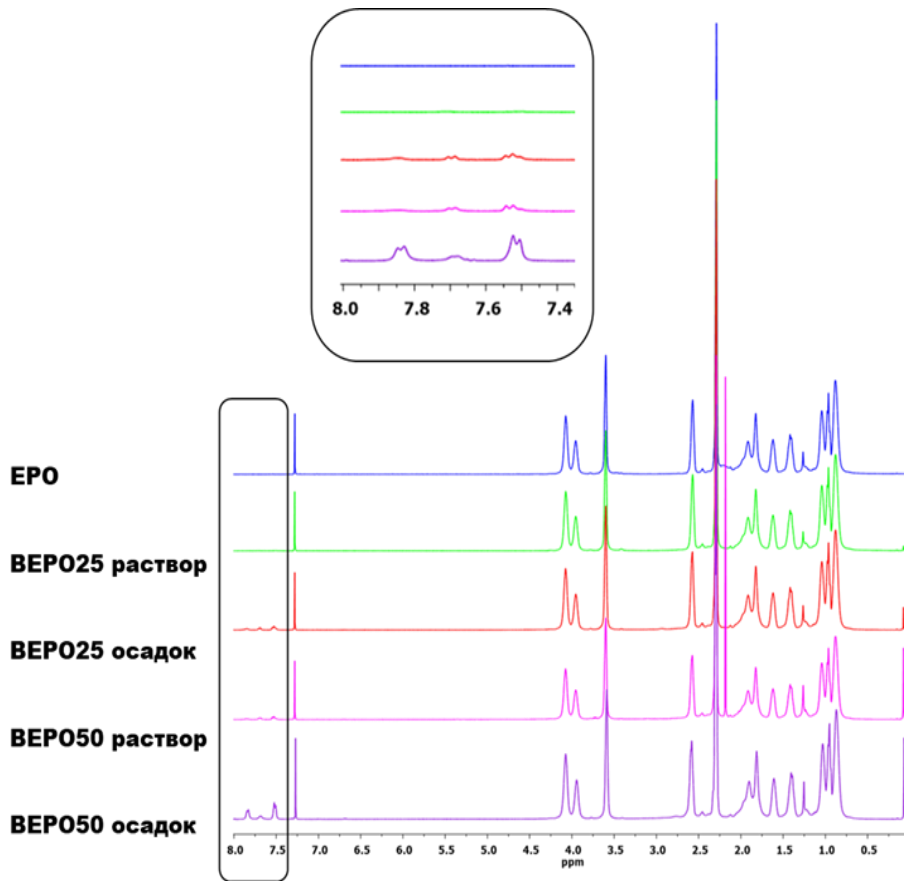


Рисунок 9 –  $^1\text{H}$ -ЯМР спектры ЕРО, ВЕРО25 и ВЕРО50 (400 МГц)

### 3.2. Термический анализ модифицированной формы Eudragit® ЕРО

В ходе термического анализа на термограмме ТГА исходного ЕРО первая потеря массы происходит при 264–311°C (27,7%), что возможно связано с образованием шестичленных циклических ангидридов [121]. Вторая потеря массы происходит при 402–453°C (69,6%), что соответствует дальнейшему и полному разложению ЕРО. На ТГА термограммах образцов ВЕРО25 и ВЕРО50 (Рисунок 10) первая потеря массы происходит при 261–312 °C (29,7%) и 247–308°C (30,8%), вторая – при 395 – 434°C (62,1%) и 403–443°C (62,7%), соответственно. Как видно, данные ТГА анализа образцов ВЕРО демонстрируют сопоставимые с исходным

ЕРО результаты, что свидетельствует о термической стабильности полученных модифицированных форм ЕРО.

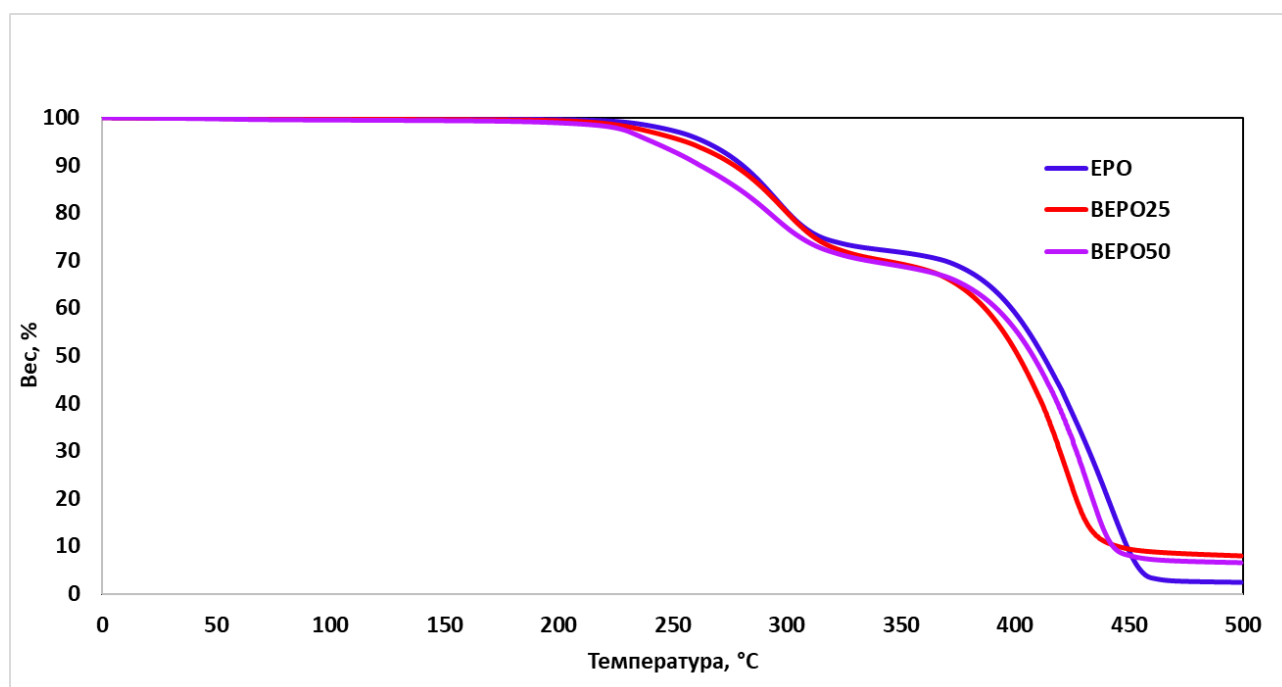


Рисунок 10 – ТГА термограммы ЕРО, ВЕРО25 и ВЕРО50

На мДСК термограмме исходного ЕРО наблюдалось наличие  $T_c$  при  $51,7 \pm 3,3$  °С, что согласуется с предыдущими работами [139]. В ходе модификации ЕРО 4БФБК происходит возрастание  $T_c$  для ВЕРО25  $52,7 \pm 2,1$  °С и ВЕРО50  $55,1 \pm 1,5$  °С, что, может быть связано с уменьшением содержания диметиламино групп в составе ЕРО и является результатом присоединения ФБК (Рисунок 11).

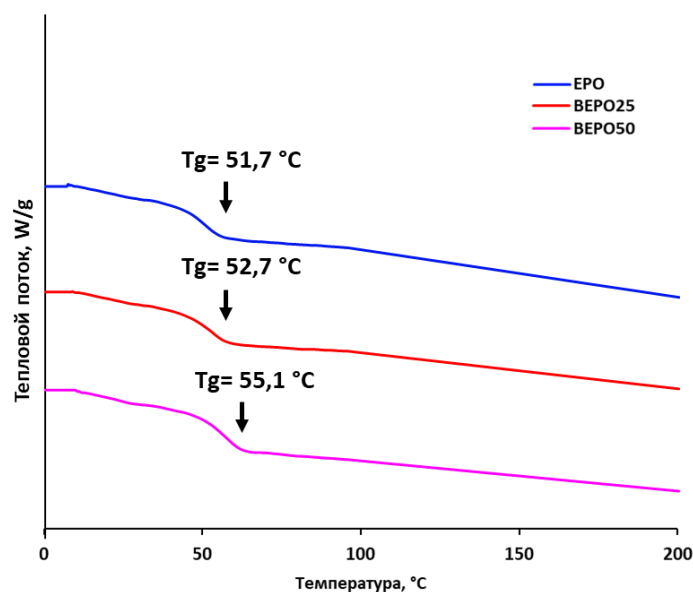


Рисунок 11 – мДСК термограммы EPO, BEPO25 и BEPO50

### 3.3. Оценка мукоадгезивных свойств модифицированной формы Eudragit® EPO

Ввиду разработки модифицированного полимерного носителя, обладающего улучшенными мукоадгезивными свойствами, нами была проведена оценка удерживаемости EPO и BEPO на поверхности изолированной слизистой носа овцы после её орошения ИНЖ. Данный метод находит широкое применение для изучения способности различных систем к адгезии на поверхности слизистых оболочек [46, 114, 130, 155, 225]. Для этого в анализируемый состав вводится флуоресцеинат натрия, который обладает яркой желто-зеленой флуоресценцией при длине волны от 520 нм до 530 нм. После нанесения растворов EPO и BEPO с флуоресцеинатом натрия на изолированную слизистую носа овцы и орошения её ИНЖ, получают флуоресцентные изображения в УФ-свете и проводят оценку удерживаемости полимеров на её поверхности. В ходе исследования мукоадгезивных свойств свободный EPO смывается ИНЖ в течение первых 5

минут эксперимента, в то время как, ВЕРО удерживается на поверхности слизистой в течение 30 минут. Флуоресцентные изображения слизистой с нанесенными ЕРО и ВЕРО в смеси с флуоресцеинатом натрия до и после орошения её ИНЖ представлены на Рисунке 12, а полученные результаты обработки флуоресцентных фотографий представлены на Рисунке 13.

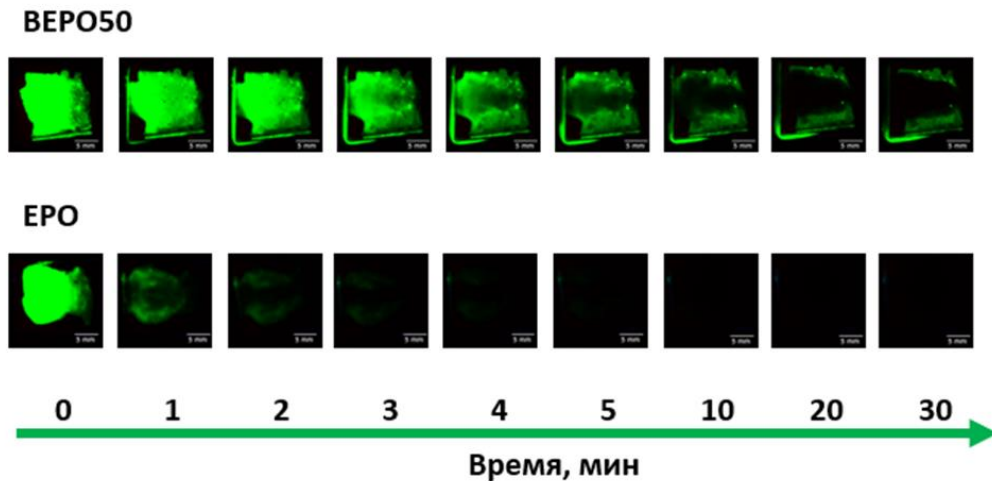


Рисунок 12 – Флуоресцентные изображения слизистой оболочки носа овцы с нанесенными растворами ЕРО и ВЕРО50 (1 мг/мл) с флуоресцеинатом натрия (0,1 мг/мл) после орошения ИНЖ. Масштаб – 500  $\mu$ m

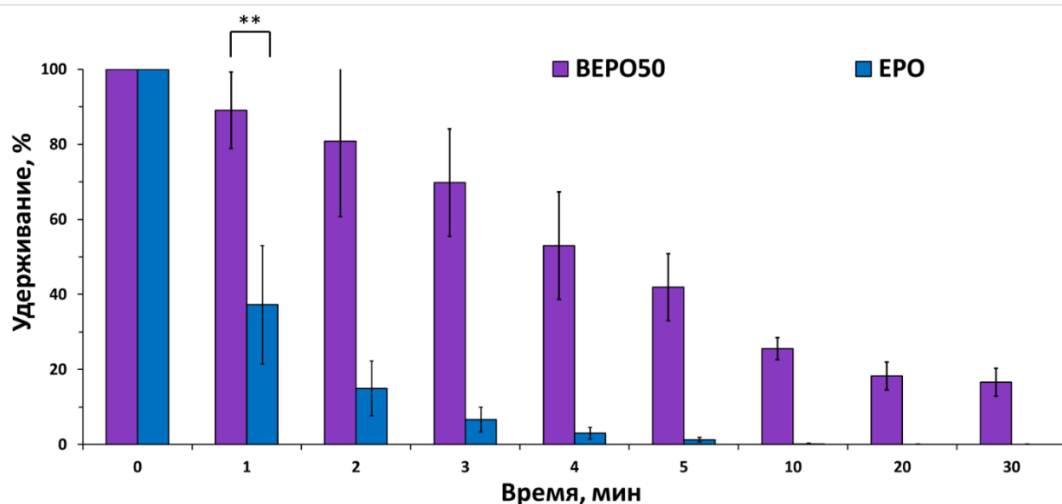


Рисунок 13 – Удерживаемость растворов 1 мг/мл ЕРО и ВЕРО50 с раствором флуоресцеината натрия 0,1 мг/мл на слизистой оболочке носа овцы, после орошения ИНЖ ( $pH = 5,8$ ,  $n = 3$ , среднее значение  $\pm CO$ , «\*\*» означает  $p < 0,005$ )

Гидроксильные группы в составе ФБК образуют ковалентные связи с остатками олигосахаридов слизистой, что и придает ВЕРО мукоадгезивные свойства [217]. В результате, можно сделать вывод, что ВЕРО может быть использован в качестве вспомогательного вещества для покрытия твердых дозированного лекарственных форм (таблеток, капсул), микрочастиц (микрокапсул) и наночастиц (липосом) для повышения их мукоадгезивных свойств на поверхности слизистой с целью увеличения времени пребывания ЛС в органе-мишени и, как следствие, увеличения биодоступности ЛП.

### **3.4. Технологическая схема получения модифицированной формы Eudragit® EPO**

На основе проведенных исследований нами предложена технологическая схема получения модифицированной формы EPO с применением 4БФБК, изображенная на Рисунке 14. Основное оборудование, используемое для получения ВЕРО: вытяжной шкаф, круглодонная колба вместимостью 250 мл, обратный холодильник, капельная воронка вместимостью 100 мл, нагревательная плита с магнитной мешалкой, термометр, диализная мембрана (MWCO 12-14 kDa), стеклянная система для вакуумной фильтрации, лиофильная сушилка.

Технологический процесс состоит из вспомогательных работ (ВР), технологических процессов (ТП), упаковки, маркировки и отгрузки (УМО) полупродукта. Особенностью ТП 2 является последовательность смешивания растворов. Раствор 4БФБК прибавляют к раствору EPO. Во время процесса получения должна поддерживаться температура в 50°C, требуется защита от света. В ходе ТП 3 растворы ВЕРО подвергаются диализной очистке со сменой растворителей и заменой жидкости 3 раза.

На основании технологической схемы были выделены контрольные точки технологического процесса (Таблица 6) [45].

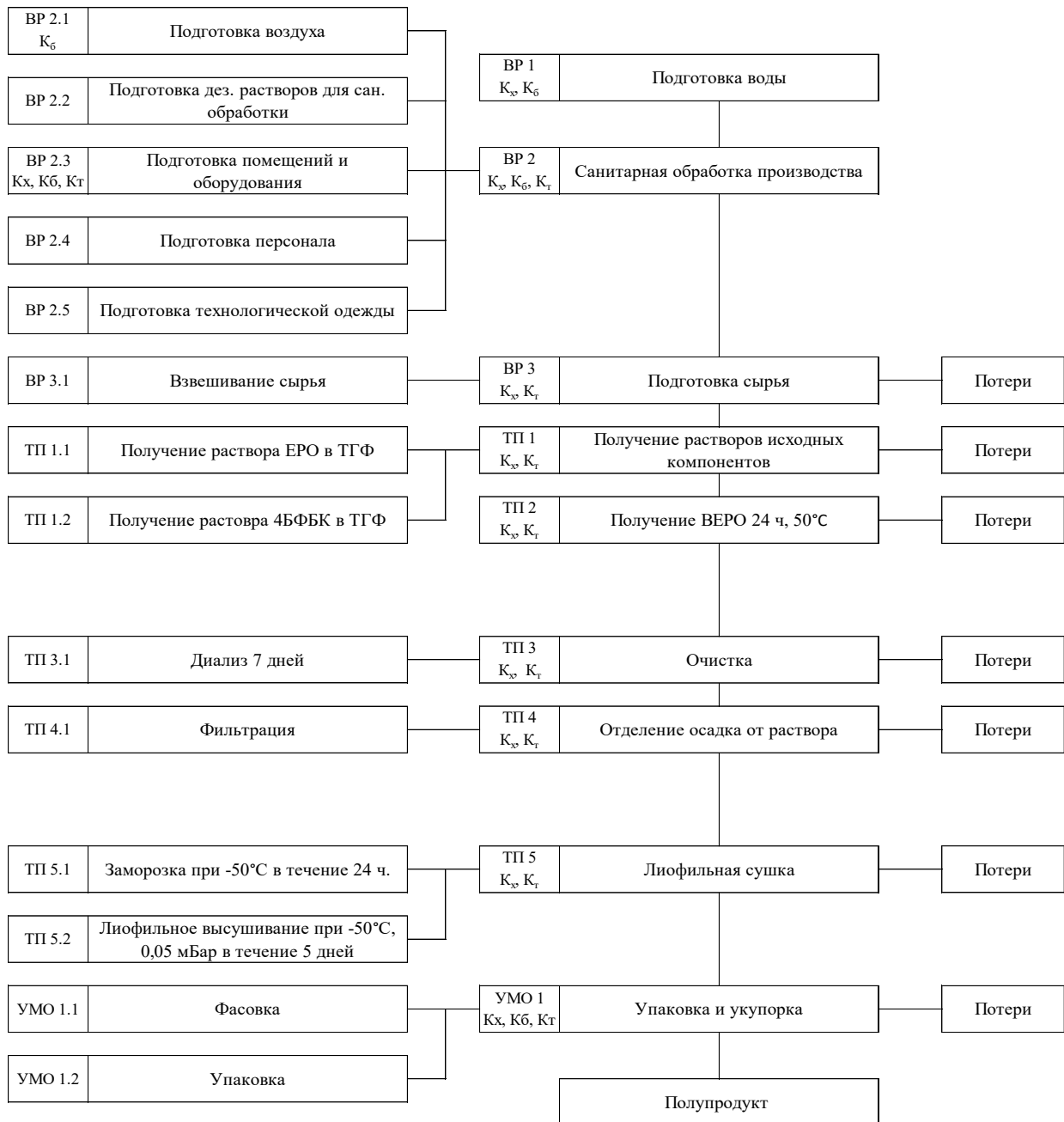


Рисунок 14 – Технологическая схема получения модифицированной формы ЕРО с применением 4БФБК (где ВР – вспомогательные работы, ТП – технологический процесс, УМО – упаковка, маркировка, отгрузка, К<sub>х</sub>, К<sub>т</sub>, К<sub>б</sub> – контроль химический, технологический, биологический)

Таблица 6 – Оценка рисков основных стадий технологического процесса

<b>Стадия производственного процесса</b>	<b>Критерии технологического процесса</b>	<b>Оценка риска</b>	<b>Последствия</b>
ТП 2. Получение ВЕРО 24 ч, 50°C	Последовательность смешивания растворов; Время; Температура	Высокий	Отсутствие взаимодействия ЕРО и 4БФБК, как следствие, отсутствие образование ВЕРО; Низкий процент замещения диметиламино групп, как следствие, снижение мукоадгезивных свойств
ТП 3. Очистка	Время очистки; Смена жидкости 3 раза в сутки; Материал и размер пор диализной мембраны	Высокий	Неполнота очистки
ТП 5. Лиофильная сушка	Время заморозки; Температура; Давление; Время высушивания	Высокий	Ухудшение физических свойств, как следствие, невозможность использования для покрытия частиц

Разработана спецификация ВЕРО – носителя на основе модифицированной формы ЕРО с применением 4БФБК, представленная в Таблице 7.

Таблица 7 – Спецификация ВЕРО

<b>Показатели качества</b>	<b>Нормы</b>	<b>Ссылки на методы испытаний</b>
Описание	Аморфный порошок белого цвета без запаха	Визуальный Органолептический ГФ РФ ОФС.1.1.0001
Идентификация	ИК-спектр лиофильно высушенного порошка ВЕРО должен иметь полосы при	ИК-спектроскопия ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0002; ФЕАЭС, 2.1.2.34.

Продолжение Таблицы 7

	2820, 2822, 2870, 2769, 963, 964, 989, 990, 991 и 1620 см <sup>-1</sup>  ЯМР-спектр лиофильно высушенного порошка ВЕРО должен иметь пики в диапазоне 7,8 и 7,5 ppm	ЯМР-спектроскопия ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0007; ФЕАЭС, 2.1.2.45.
Примеси свободных полимеров	Не более 0,15 %	мДСК анализ ГФ РФ ОФС.1.2.1.2.0010; ФЕАЭС, 2.1.2.46.
Микробиологическая чистота	Категория 2	ГФ РФ ОФС.1.2.4.0002; ФЕАЭС, 2.3.1.2
Упаковка	Флаконы из темного стекла с навинчивающейся крышкой	
Маркировка	В соответствии с НД	
Условия хранения	В сухом, защищенном от света месте, при температуре от 15 – 25 °С	

### 3.5. Выводы по главе 3

1. Разработана методика получения химически модифицированного терполимера – ВЕРО25 и ВЕРО50, обладающего улучшенными мукоадгезивными свойствами за счет наличия в структуре 4БФБК гидроксильных групп, с замещением диметиламиногрупп ЕРО на 25% и 50%, выход которых составил 41% и 31% соответственно. Методами ИК- и ЯМР-спектроскопии было подтверждено образование химически модифицированного ЕРО. На ИК-спектрах характеристические полосы в области 1605 см<sup>-1</sup> соответствуют связям С-С ароматической системы, что указывают на присоединение ФБК к ЕРО. На <sup>1</sup>H-ЯМР-спектрах ВЕРО сигналы при 7,8 и 7,5 ppm относятся к атомам водорода в составе бензольного кольца.

2. Методом ТГА была доказана термическая стабильность ВЕРО. Полное разложение ВЕРО25 и ВЕРО50 происходит при 395–434°C (62,1%) и 403–443°C (62,7%), соответственно. В ходе мДСК исследования было установлено, что происходит возрастание T<sub>c</sub> для ВЕРО25 52,7±2,1 °С и ВЕРО50 55,1±1,5 °С, что,

может быть связано с уменьшением содержания диметиламиногрупп в составе ЕРО и является результатом присоединения ФБК.

3. В ходе исследования мукоадгезивных свойств с применением изолированной слизистой носа овцы свободный ЕРО смывается ИНЖ в течение первых 5 минут эксперимента, в то время как, ВЕРО удерживается на поверхности слизистой в течение 30 минут. Гидроксильные группы в составе ФБК образуют ковалентные связи с остатками олигосахаридов слизистой, что и придает ВЕРО мукоадгезивные свойства.

4. Была предложена технологическая схема и разработана спецификация носителя на основе модифицированной формы ЕРО с применением 4БФБК – ВЕРО.

## **ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ МУКОАДГЕЗИВНОЙ СИСТЕМЫ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ПРИМЕНЕНИЕМ МИКРОЧАСТИЦ**

### **4.1. Получение микрокапсул методом ультразвукового электрораспыления и их характеристика**

Для разработки интраназальной доставки ЛС, применяемых в терапии заболеваний ЦНС, в качестве микроразмерных частиц нами были выбраны МК [10]. Методом ультразвукового электрораспыления было получено 2 типа МК – простые, которые выступали в качестве отрицательного контроля, и МК, покрытые полимером ЕРО, обладающим мукоадгезивными свойствами. В структуре ЕРО присутствуют диметиламино группы, которые способны образовывать водородные связи с муцинами слизистой [153], а также за счет частичного положительного заряда обеспечивают электростатическое взаимодействие с негативно заряженными муцинами слизистой [59, 89]. Наличие ЕРО на поверхности МК способствует адгезии частиц на поверхности слизистой носа, что в свою очередь, приводит к повышению БД ЛП и повышению эффективности фармакотерапии [11].

#### **4.1.1. Получение простых микрокапсул и определение их размеров**

В ходе получения МК методом ультразвукового электрораспыления физико-химические свойства и размеры получаемого продукта будут зависеть, во-первых, от природы и свойств исходных компонентов, а, во-вторых, от параметров прибора: давление (мбар), частота (Гц) и напряжение (В). Давление должно обеспечивать образование ламинарной струи пленкообразующего раствора, действие

ультразвука приводит к образованию стабильной вертикальной цепочки капель одинакового размера, а напряжение создаваемого электрического поля приводит к распылу на капли меньшего размера (Рисунок 15).



Рисунок 15 – Процесс образования МК

Пленкообразующий раствор (альгинат натрия) подавался из сосуда под давлением 130 – 150 мбар. Струя раствора альгината натрия подвергалась действию ультразвука с частотой 800 Гц, разбиваясь на капли, которые затем попадали в электрическое поле с напряжением 1100 В, распыляясь в ретикуляционный раствор при постоянном перемешивании 800 об/мин с образованием МК.

Нами был подобран оптимальный состав для получения простых МК: 1,0% альгинат натрия (пленкообразующий раствор) / 0,5%  $\text{CaCl}_2$  (ретикуляционный раствор). В случае использования альгината натрия большей концентрации поток пленкообразующего раствора останавливается, из-за высокой вязкости раствора форсунка забивается. Концентрация альгината натрия ниже 1,0% не достаточна для образования МК. 1,0% раствор альгината натрия под давлением обеспечивает стабильную струю жидкости и хороший распыл с образованием частиц преимущественно одного размера [14].

После лиофильного высушивания простые МК представляли собой кристаллический порошок белого цвета (Рисунок 16).



Рисунок 16 – Простые МК состава 1,0% альгинат натрия / 0,5%  $\text{CaCl}_2$  после лиофильного высушивания

Полученные микрочастицы были проанализированы методом оптической микроскопии на микроскопе Primo Star (ZEISS, Германия) до и после высушивания. Результаты микроскопии простых МК представлены на Рисунке 17. До высушивания МК круглой формы, в растворе также имеются деформированные МК. После высушивания, ввиду удаления жидкости, МК теряют свою первоначальную форму. При этом МК не слипаются, а неровная поверхность может обеспечивать лучшее сцепление на поверхности слизистой.

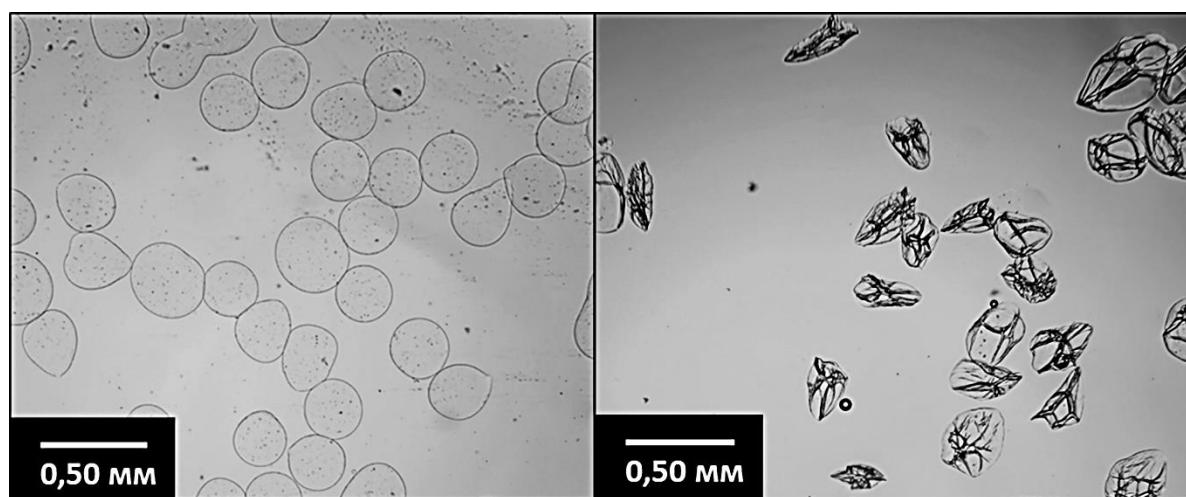


Рисунок 17 – Микроскопия простых МК до и после лиофильного высушивания

С целью детального изучения МК и определения их размеров микроскопию проводили в УФ-свете. Для это в раствор альгината натрия прибавляли флуоресцеинат натрия (Рисунок 18). Средний диаметр МК составил  $0,365 \pm 0,018$  мм ( $n = 5$ ).

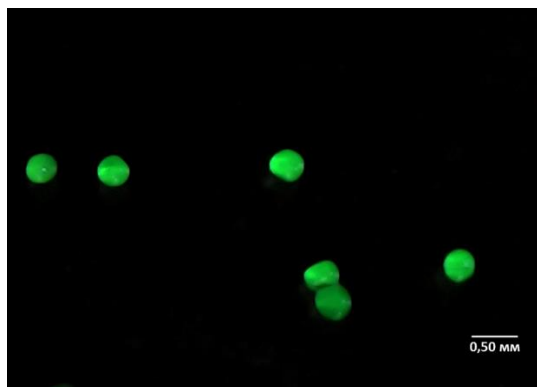


Рисунок 18 – Простые МК, загруженные флуоресцеинатом натрия, в УФ-свете

#### **4.1.2. Получение микрокапсул, покрытых Eudragit® EPO, и определение их размеров**

Для получения МК, покрытых EPO, также был использован метод ультразвукового электрораспыления. Ранее нами было установлено, что оптимальной концентрацией альгината натрия для обеспечения ламинарной струи жидкости является 1,0%. Для рециркуляционного раствора были предложены разные составы, представленные в Таблице 8.

Таблица 8 – Составы МК, покрытых ЕРО

<b>МК, покрытые ЕРО</b>			
<b>Плёнкообразующий раствор</b>	<b>Ретикуляционный раствор</b>		
Альгинат натрия – 1%	ЕРО (рН 1,2) – 0,5%	Кальция хлорид – 0,5%	–
Альгинат натрия – 1%	ЕРО (рН 1,2) – 0,1%	–	–
Альгинат натрия – 1%	ЕРО (рН 1,2) – 0,1%	Кальция хлорид – 0,5%	–
Альгинат натрия – 1%	ЕРО (рН 1,2) – 0,5%	–	Pluronic® F127 – 1%
Альгинат натрия – 1%	ЕРО (рН 1,2) – 0,5%	Кальция хлорид – 0,5%	Pluronic® F127 – 1%
Альгинат натрия – 1%	ЕРО (рН 6,0) – 0,5%	Кальция хлорид – 0,5%	–

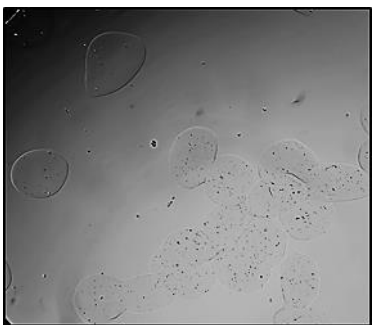
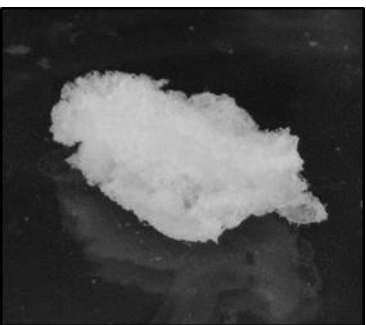
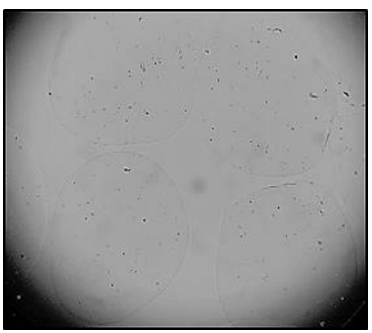
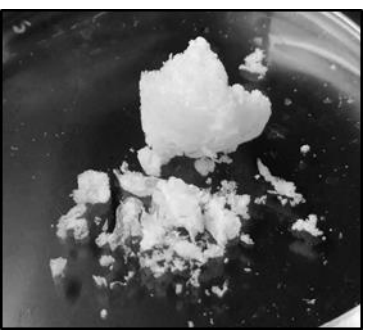
Затем провели микроскопический анализ полученных МК до и после лиофильного высушивания. Микрочастицы до высушивания имели сферическую форму, частицы в растворе находились отдельно друг от друга. Однако, после высушивания МК агрегировали и слипались, образуя жесткий конгломерат.

ЕРО – гидрофобный катионный терполимер, который растворим при низких значениях рН. В кислой среде диметиламино группы ЕРО протонируются, что приводит к излишнему пенообразованию при перемешивании, что, в последствии, способствует слипанию МК. Промывка деионизированной водой, в данном случае, является необходимым этапом, с целью удаления излишнего количества ЕРО. Однако, лиофильное высушивание приводит к образованию единой твердой массы. Введение кальция хлорида в ретикуляционный раствор не устраняет слипание. Мы предположили, что уменьшение концентрации ЕРО уменьшит пенообразование,

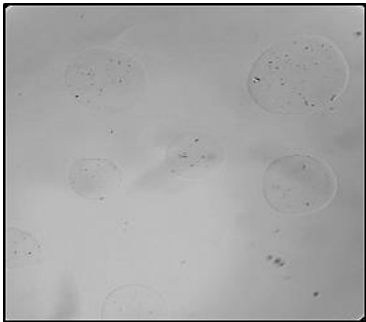

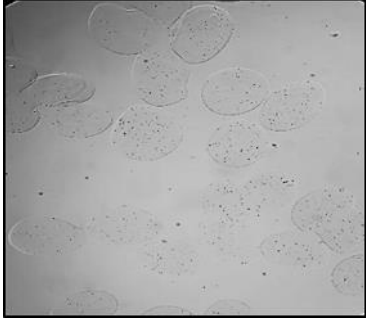

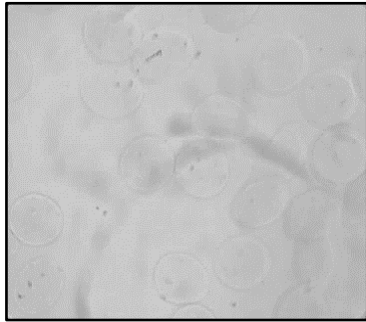

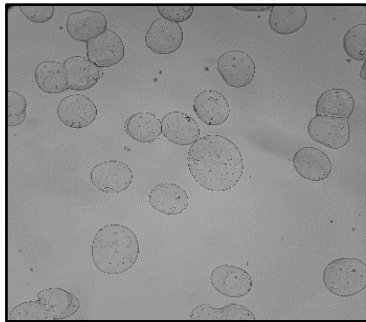
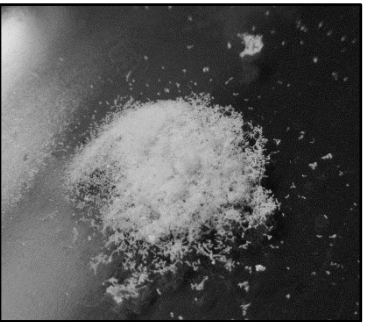
однако, в таком случае, после лиофильного высушивания снова образовывался конгломерат. Было предложено дополнительно ввести Pluronic® F127 (эмульсификатор), что также не привело к образованию продукта с желаемыми свойствами. В результате, мы пришли к выводу, что необходимо снизить степень протонирования ЕРО путем изменения рН раствора до значения 6,0.

В результате исследования, нами был подобран оптимальный состав МК, покрытых ЕРО: 1,0% Альгинат натрия (пленкообразующий раствор) / 0,5% CaCl<sub>2</sub> + 0,5% ЕРО с рН 6,0 (ретикуляционный раствор) [12]. Микрочастицы после лиофильного высушивания представляют собой порошок белого цвета без запаха. Микроскопические фотографии до и макроскопические фотографии после лиофильного высушивания МК различного состава представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Микроскопические и макроскопические фотографии до и после лиофильного высушивания МК, покрытых ЕРО, различного состава

Пленкообразующий раствор/ Ретикуляционный раствор	Микроскопия до лиофильного высушивания	Макроскопия после лиофильного высушивания
1,0% Альгинат натрия / 0,5% ЕРО (рН 1,2)		
1,0% Альгинат натрия / 0,5% CaCl <sub>2</sub> + 0,5% ЕРО (рН 1,2)		

## Продолжение Таблицы 9

<p>1,0% Альгинат натрия / 0,5% CaCl<sub>2</sub> + 0,1% EPO (pH 1,2)</p>		
<p>1,0% Альгинат натрия / 0,5% EPO (pH 1,2) + 1,0% Pluronic® F127</p>		
<p>1,0% Альгинат натрия / 0,5% CaCl<sub>2</sub> + 0,5% EPO (pH 1,2) + 1,0% Pluronic® F127</p>		
<p>1,0% Альгинат натрия / 0,5% CaCl<sub>2</sub> + 0,5% EPO (pH 6,0)</p>		

С целью детального изучения МК, покрытых EPO, и подтверждения наличия полимера на поверхности частиц нами был использован флуоресцентно меченный

ЕРО (FEPO) (Рисунок 19) [193]. Флуоресцентное свечение оболочки частиц в УФ-свете подтверждает наличие ЕРО на поверхности МК. Диаметр МК, покрытых ЕРО, составляет  $0,426 \pm 0,017$  мкм.

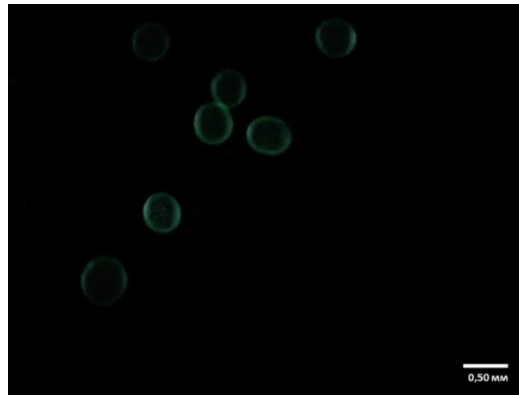


Рисунок 19 – Микрокапсулы, покрытые FEPO, в УФ свете

#### 4.2. Исследование мукоадгезивных свойств простых микрокапсул и микрокапсул, покрытых Eudragit® EPO

Ввиду разработки интраназальной системы доставки ЛС, обладающей мукоадгезивными свойствами, мы провели оценку удерживаемости простых МК (отрицательный контроль) и МК, покрытых ЕРО, загруженных флуоресцеинатом натрия, на поверхности изолированной слизистой носа овцы в УФ-свете. В ходе данного исследования было доказано, что наличие ЕРО на поверхности МК способствует задержке микрочастиц на поверхности слизистой. Флуоресцентные изображения слизистой представлены на Рисунке 20. Уже через 5 минут после орошения ИНЖ наблюдается значительная разница между образцами удерживаемости частиц на поверхности слизистой. Через 10 минут эксперимента простые МК почти полностью смываются ИНЖ, в то время как, МК, покрытые ЕРО, остаются на слизистой носа через 1 ч. (Рисунок 21). В результате, можно сделать вывод, что МК, покрытые ЕРО, обладают мукоадгезивными свойствами, за счет наличия диметиламино групп, которые связываются с отрицательно-

заряженными фрагментами муцинов слизистой, тем самым могут обеспечивать задержку ЛС на слизистой носа и повышению БД ЛП.

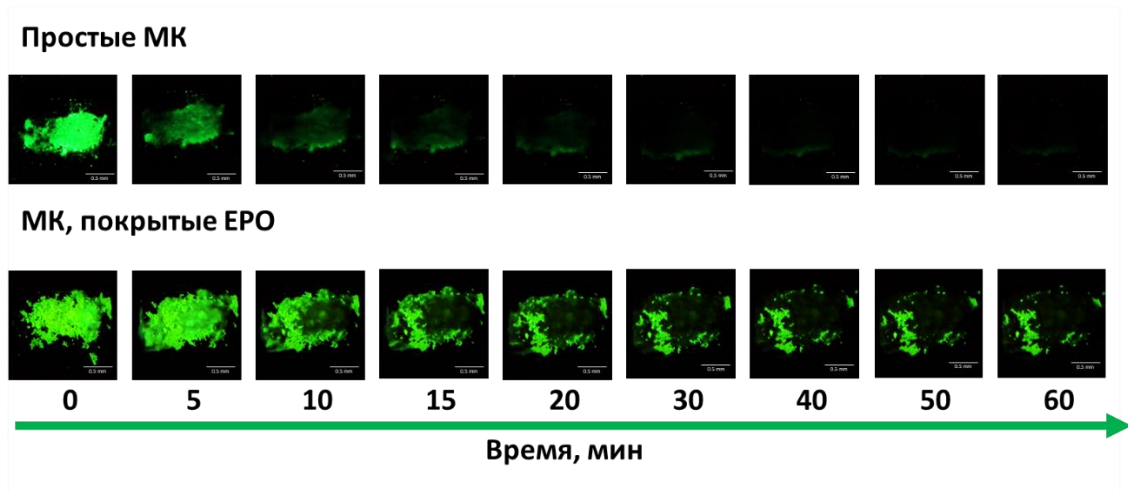


Рисунок 20 – Флуоресцентные изображения, демонстрирующие удерживаемость простых микрокапсул и микрокапсул, покрытых ЕРО, загруженных флуоресцеинатом натрия в концентрации 0,1 мг/мл на слизистой оболочке носа овцы после орошения ИНЖ. Масштаб – 500 мкм

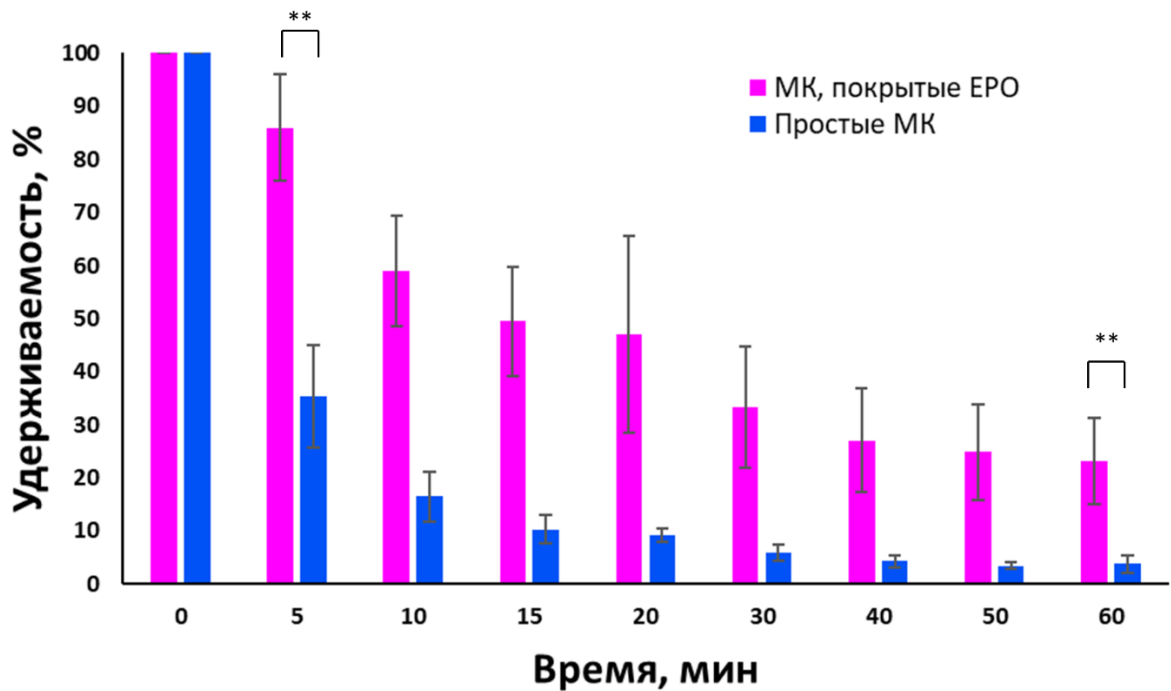


Рисунок 21 – Удерживаемость простых микрокапсул и микрокапсул, покрытых ЕРО, загруженных флуоресцеинатом натрия 0,1 мг/мл на изолированной слизистой оболочке носа овцы, после орошения ИНЖ (рН = 5,8). Удерживаемость, % представлено, как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение ( $n = 3$ ). Достоверные различия: \*\* –  $p < 0,005$

### 4.3. Расчет выхода, эффективности инкапсуляции и загрузочной ёмкости простых микрокапсул и микрокапсул, покрытых Eudragit® EPO

Нами была осуществлена загрузка МК ЛС – леводопой и проведена оценка выхода, %, ЭИ,% и ЗЁ,%. Для получения МК, загруженных леводопой, пленкообразующий раствор альгината натрия готовили в водном растворе ЛС (1 мг/мл).

Расчёт выхода (%) готового продукта, порошка лиофильно высушенных МК, проводился по формуле:

$$\text{Выход, \%} = \frac{M_{\text{МК}}}{M_{\text{исходных компонентов}}} * 100\%, \text{ где}$$

$M_{\text{МК}}$  – масса МК после лиофильного высушивания,

$M_{\text{исходных компонентов}}$  – масса сухих исходных веществ.

ЭИ,% характеризует процент ЛВ, инкапсулированного в частицу, или связанное с её поверхностью, по отношению к исходному количеству ЛС. ЗЁ,% определяет процентное количество ЛВ относительно массы частицы [133].

Расчет ЭИ,% и ЗЁ,% МК леводопой проводился по формулам:

$$\text{ЭИ, \%} = \frac{M (\text{инкапсулированное ЛС})}{M (\text{исходное ЛС})} * 100\%$$

$$\text{ЗЁ, \%} = \frac{M (\text{инкапсулированное ЛС})}{M (\text{сухие МК})} * 100\%$$

$$M (\text{инкапсулированное ЛС}) = M (\text{исходное ЛС}) - M (\text{неинкапсулированное ЛС}),$$

где:

$M_{\text{исходное ЛС}}$  – исходное количество ЛС,

$M_{\text{неинкапсулированное ЛС}}$  – количество ЛС в ретикуляционном растворе, не инкапсулированного в МК, после фильтрации,

Результаты данных показателей для простых МК и МК, покрытых ЕРО, леводопой представлены в Таблице 10. Выход, % простых МК и МК, покрытых ЕРО, составил 31 и 19% соответственно, что связано с материальными потерями в ходе получения частиц. ЭИ,% продемонстрировала отличные результаты и выше 90%. ЗЁ,% МК, покрытых ЕРО, больше, чем у простых МК.

Таблица 10 – Выход, %, ЭИ,% и ЗЁ,% простых микрокапсул и микрокапсул, покрытых ЕРО. Результаты представлены, как выход,%, ЭИ,% и ЗЁ,% ± стандартное отклонение ( $n = 3$ )

МК	Выход, %	ЭИ, %	ЗЁ, %
Простые МК	$30,8 \pm 2,3$	$94,3 \pm 0,9$	$18,2 \pm 2,9$
МК, покрытые ЕРО	$19,4 \pm 6,2$	$95,5 \pm 0,8$	$33,6 \pm 9,9$

#### 4.4. Исследование высвобождения леводопы из простых микрокапсул и микрокапсул, покрытых Eudragit® ЕРО

Изучение высвобождения леводопы из простых МК и МК, покрытых ЕРО, проводилось по методу IV «Проточная ячейка» (ГФ РФ XV) на приборе CE 7 Smart (Sotax AG, Швейцария). Результаты представлены на Рисунке 22.

Уже через 30 мин эксперимента выход леводопы из МК, покрытых ЕРО, составил  $100 \pm 13\%$ , что может быть связано с разрушением МК в ходе анализа и стремительным высвобождением ЛС. В то время как, высвобождение леводопы из простых МК в среду ИНЖ составило не более  $60 \pm 6\%$  за тот же интервал времени эксперимента.

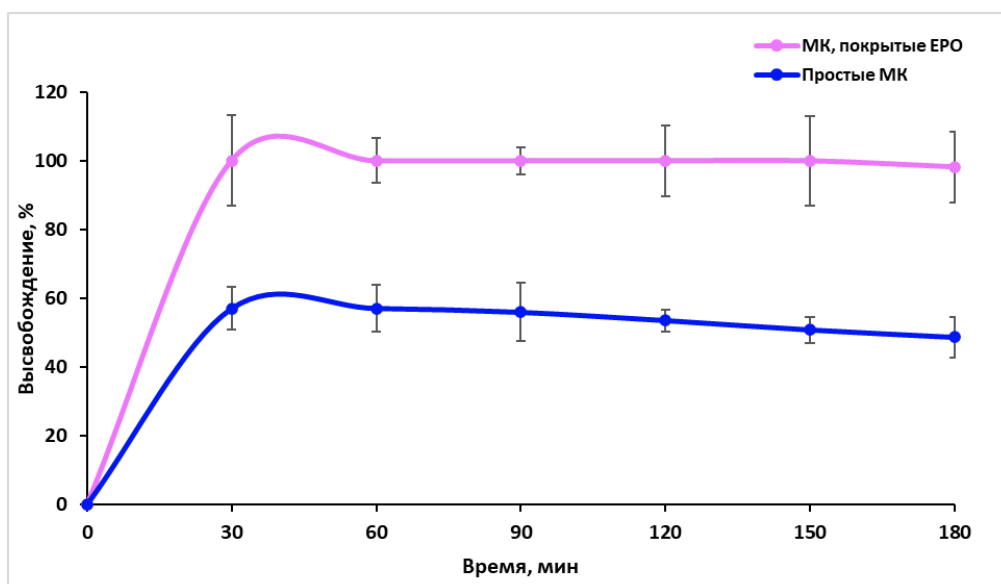


Рисунок 22 – Высвобождение леводопы из простых МК и МК, покрытых ЕРО, в среде ИНЖ (рН 5,8) на приборе «Проточная ячейка» в течение 3 ч. Высвобождение, % представлено как среднее  $\pm$  стандартное отклонение ( $n = 3$ )

Дополнительно была проведена микроскопия лиофильно высушенных МК до и после исследования высвобождения на микроскопе Evident CX33 (Olympus, Япония). Анализ МК, покрытых ЕРО, показал, что после высвобождения большая часть микрочастиц разрушена, тогда как, микроскопия простых МК показала сохранение целостности частиц (Рисунок 23)

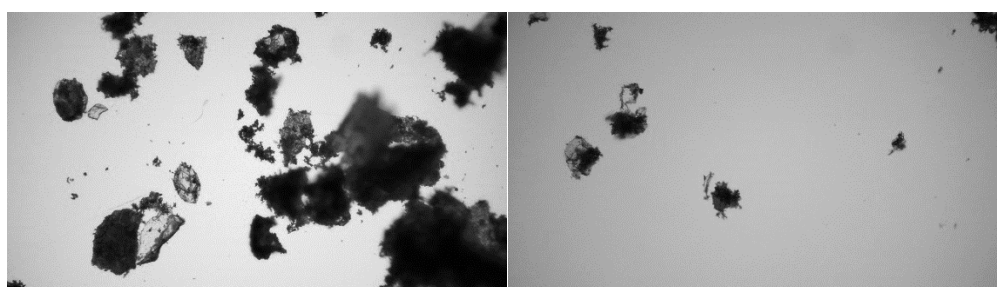


Рисунок 23 – Микроскопия простых МК (слева) и МК, покрытых ЕРО, (справа) после 30 минут в среде ИНЖ (рН 5,8)

Таким образом, покрытие противоположно-заряженным терполимером ЕРО альгинатных МК приводит к, с одной стороны к увеличению длительности удерживания на поверхности слизистой, а с другой – к немедленному

высвобождению включенного ЛС, что и должно обеспечивать увеличение БД леводопы.

#### 4.5. Выводы по главе 4

1. Методом УЗ-электрораспыления была разработана методика получения простых МК и МК, покрытых ЕРО. Был подобран их оптимальный состав. Методом оптической микроскопии установлено, что до высушивания МК круглой формы, в растворе также имеются деформированные МК. После высушивания, ввиду удаления жидкости, МК теряют свою первоначальную форму. Средний простой диаметр МК составил  $0,365 \pm 0,018$  мм, МК, покрытых ЕРО –  $0,426 \pm 0,017$  мм. Выход простых МК составил  $30,8 \pm 2,3$ ; МК, покрытых ЕРО –  $19,4 \pm 6,2$ , что связано с материальными потерями в ходе получения частиц.

2. В ходе исследования мукоадгезивных свойств было доказано, что наличие ЕРО на поверхности МК способствует задержке микрочастиц на поверхности слизистой, за счет того, что диметиламино группы связываются с муцинами слизистой и обеспечивают задержку частиц. Уже через 5 минут после орошения ИНЖ наблюдается значительная разница между образцами удерживаемости частиц на поверхности слизистой. Через 10 минут эксперимента простые МК почти полностью смываются ИНЖ, в то время как, МК, покрытые ЕРО, остаются на слизистой носа через 1 ч.

3. Результаты ЭИ,% простых МК леводопой –  $94,3 \pm 0,9$ ; МК, покрытых ЕРО –  $95,5 \pm 0,8$ . ЗЕ,% простых МК леводопой –  $18,2 \pm 2,9$ ; МК, покрытых ЕРО –  $33,6 \pm 9,9$ , что указывает на перспективность использования МК в качестве носителей леводопы.

4. Выход леводопы из МК, покрытых ЕРО, в среду ИНЖ через 30 мин эксперимента составил  $100 \pm 13,1\%$ , в то время как, высвобождение леводопы из простых МК – не более  $60 \pm 6,1\%$ .

## ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ МУКОАДГЕЗИВНОЙ СИСТЕМЫ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ПРИМЕНЕНИЕМ МИКРОКАПСУЛ, ПОКРЫТЫХ МОДИФИЦИРОВАННЫМ EUDRAGIT® EPO

Как известно существует несколько теорий, объясняющих механизм адгезии полимеров на поверхности слизистой [47, 136, 186]. А в процессе мукоадгезии выделяют 2 этапа [72]. В первую очередь происходит контакт материала со слизистой, который определяет силу и время дальнейшего взаимодействия.

МК обладают улучшенными мукоадгезивными свойствами на первой стадии адгезии, в отличие от раствора ЛС, за счет их структуры. После лиофильного высушивания микрочастицы неправильной формы с шероховатой оболочкой устанавливают улучшенный контакт с поверхностью слизистых оболочек. Покрытие МК EPO обеспечивает дальнейшее уже электростатическое взаимодействие, за счет связывания диметиламино групп полимера с отрицательно заряженными группами гликопротеинов слизистой [153]. В формировании МК лежит свойство альгината натрия взаимодействовать с ионами кальция с образованием сети типа «яичной коробки», когда ионы натрия заменяются на ионы кальция, и молекулы альгината связываются крест-накрест и антипараллельны двум другим [213]. Свободные карбоксильные группы D-маннуроной и L-гулууроной кислот альгината кальция обеспечивают взаимодействие с диметиламино группами EPO (Рисунок 24).

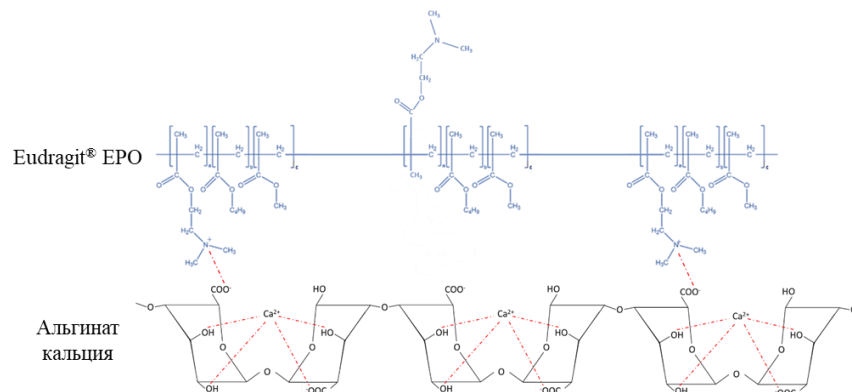


Рисунок 24 – Схема взаимодействия EPO с альгинатом кальция

Модификация ЕРО молекулой 4БФБК привела к улучшению мукоадгезивных свойств полимера с образованием его модифицированной формы ВЕРО (Глава 3). В результате адгезия полимера на поверхности слизистой на втором этапе обеспечивается, во-первых, образованием комплекса гидроксильных групп в составе ФБК с диольными группами, присутствующими в сиаловых кислотах муцина, при физиологическом рН, а во вторых, дополнительным электростатическим взаимодействием диметиламино групп терполимера с отрицательно заряженными группами гликопротеинов слизистой [114]. Покрытие МК ВЕРО еще больше усилит мукоадгезивные свойства микрокапсул, что повысит БД ЛС при интраназальном введении (Рисунок 25).

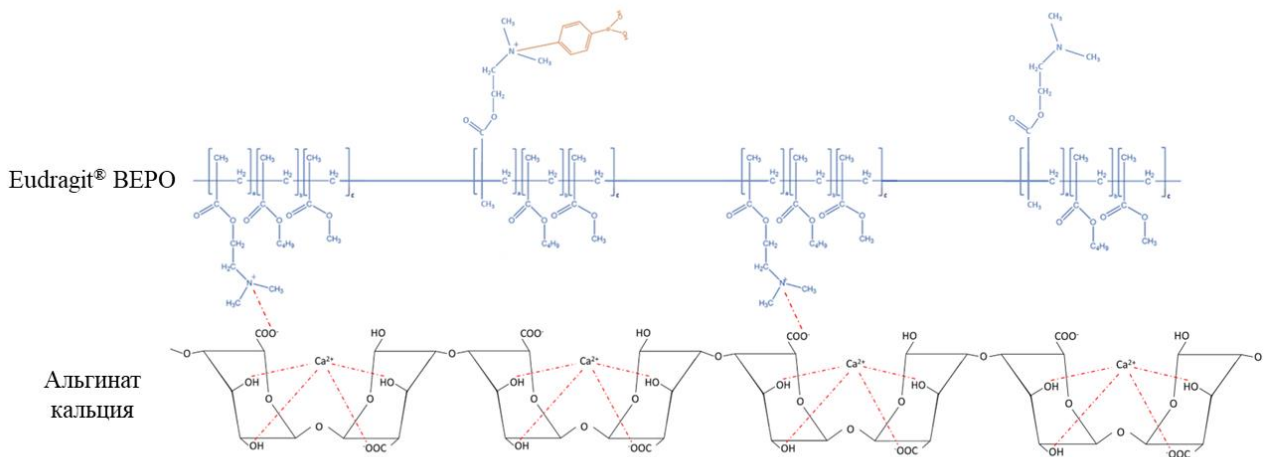


Рисунок 25 – Схема взаимодействия ВЕРО с альгинатом кальция

### 5.1. Получение микрокапсул, покрытых модифицированным Eudragit® ЕРО, и определение их размеров

МК, покрытые ВЕРО50, были получены методом ультразвукового электрораспыления. Оптимальный состав микрокапсул: 1,0% Альгинат натрия (пленкообразующий раствор) / 0,5% CaCl<sub>2</sub> + 0,5% ВЕРО50 с рН 5,0

(ретикуляционный раствор). В отличие от получения растворов ЕРО, раствор ВЕРО получали доведением значения рН не до 6,0, а до 5,0 ед. рН, так как при повышении значений  $\text{pH} > 5,0$ , происходит помутнение растворов ВЕРО, с последующим образованием осадка нерастворенного терполимера. МК были проанализированы под микроскопом Evident CX33 с цифровой камерой, высокого разрешения (Olympus, Япония) до и после лиофильного высушивания. Для обработки изображений использовали программное обеспечение ImageView™ (версия x64, 4.11.22376.20230402). В ходе получения МК, оказалось, что покрытые ВЕРО частицы, в отличие от МК на основе ЕРО, склонны к адгезии, с образованием небольших агрегатов, состоящих из нескольких частиц. Результаты микроскопии представлены на Рисунке 26. МК сферической формы, преимущественно одного размера, диаметр –  $0,087 \pm 0,008$  мкм ( $n = 5$ ). После лиофильного высушивания МК теряют свою первоначальную форму, схлопываются, уменьшаясь в размерах и изменяют сферическую форму на анизодиаметрическую.

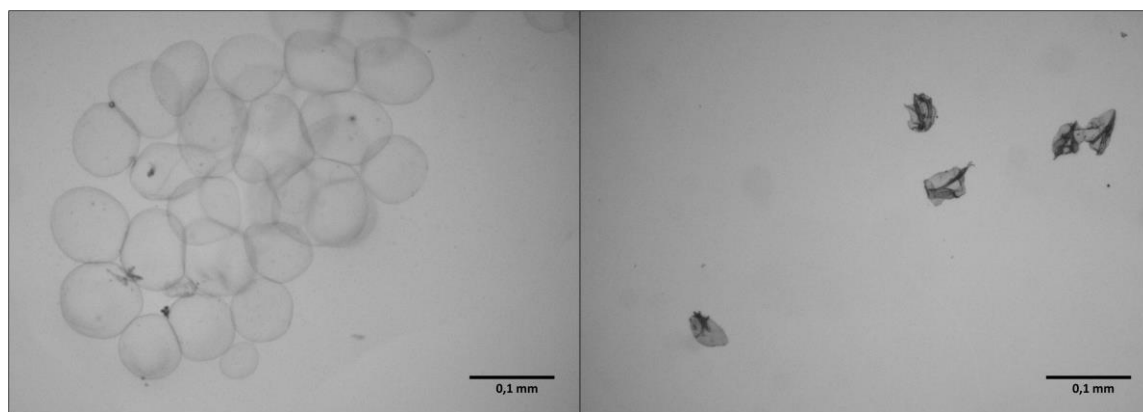


Рисунок 26 – Микроскопия МК, покрытых ВЕРО50, до и после лиофильного высушивания

## 5.2. Исследование высвобождения леводопы из микрокапсул, покрытых модифицированным Eudragit® EPO

Изучение высвобождения леводопы из МК, покрытых ВЕРО, проводилось по методу IV «Проточная ячейка» (ГФ РФ XV) на приборе CE 7 Smart (Sotax AG, Швейцария). Мы провели сравнительный анализ высвобождения леводопы из МК, покрытых ВЕРО, и МК, покрытых EPO, и оценили влияние остатков ФБК на поверхности МК на биофармацевтические параметры частиц. Результаты представлены на Рисунке 27. МК, покрытые ВЕРО, обеспечивают полный выход ЛС в ИНЖ через 30 минут эксперимента  $100 \pm 23\%$ , аналогично МК, покрытых EPO.

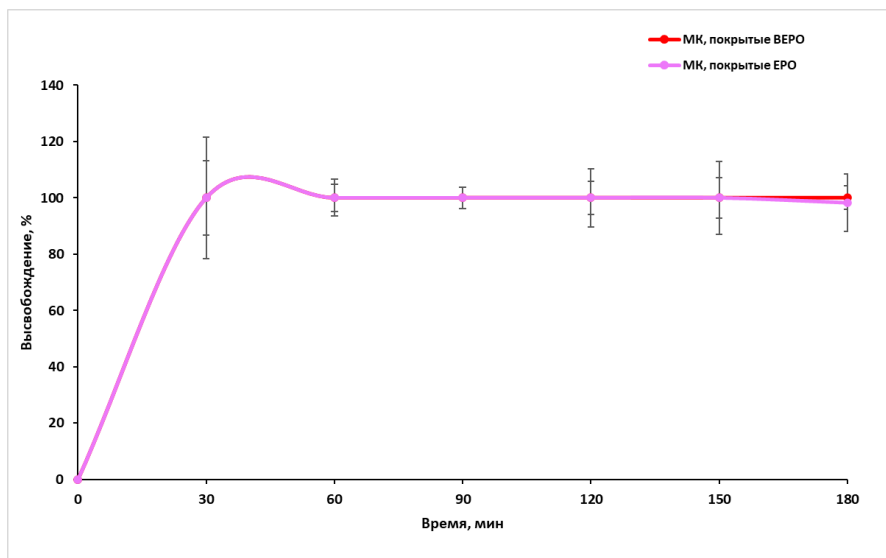


Рисунок 27 – Высвобождение леводопы из МК, покрытых EPO, и МК, покрытых ВЕРО, в среде ИНЖ (pH 5,8) на приборе «Проточная ячейка» в течение 3 ч. Высвобождение, % представлено как среднее  $\pm$  стандартное отклонение ( $n = 3$ )

После исследования высвобождения в среде ИНЖ (pH 5,8) в течение 3 ч микрочастицы были проанализированы методом оптической микроскопии (Рисунок 28). В ходе анализа МК набухают, деформируются и впоследствии разрушаются с выходом ЛС.

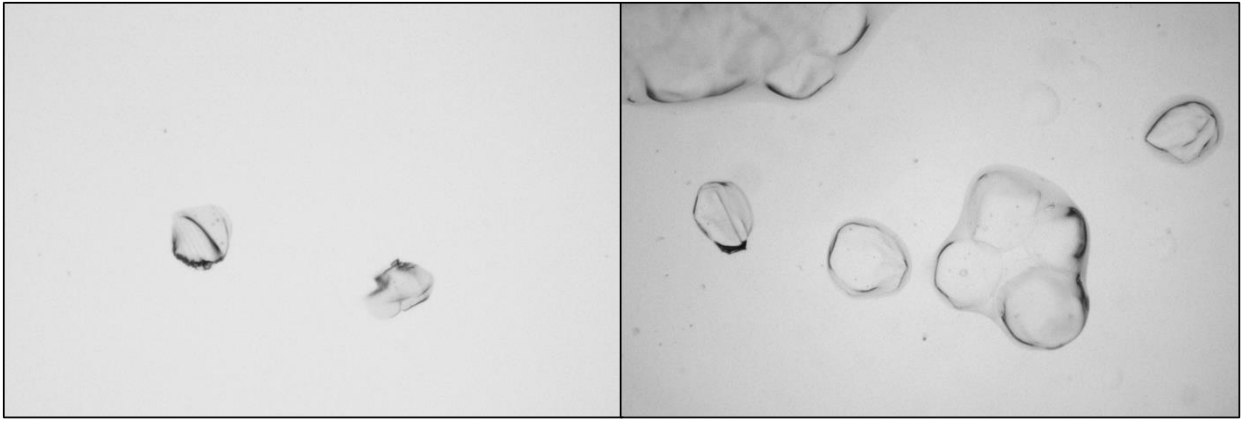


Рисунок 28 – Микроскопия МК, покрытых ЕРО, (слева) и МК, покрытых ВЕРО, (справа) после 3 ч. в среде ИНЖ (рН 5,8)

На Рисунке 29 представлена схема высвобождения ЛС из МК. Сначала образуется контакт лиофильно высушенных МК с изолированной поверхностью слизистой носа. Следующая стадия мукоадгезии – взаимодействие функциональных групп полимера с муцинами слизистой. Затем частицы начинают постепенно набухать за счет диффузии муконазального секрета внутрь МК, что приводит к увеличению их размеров, с последующим разрывом оболочки, разрушением структуры альгинатного каркаса ядра и выходом ЛС.

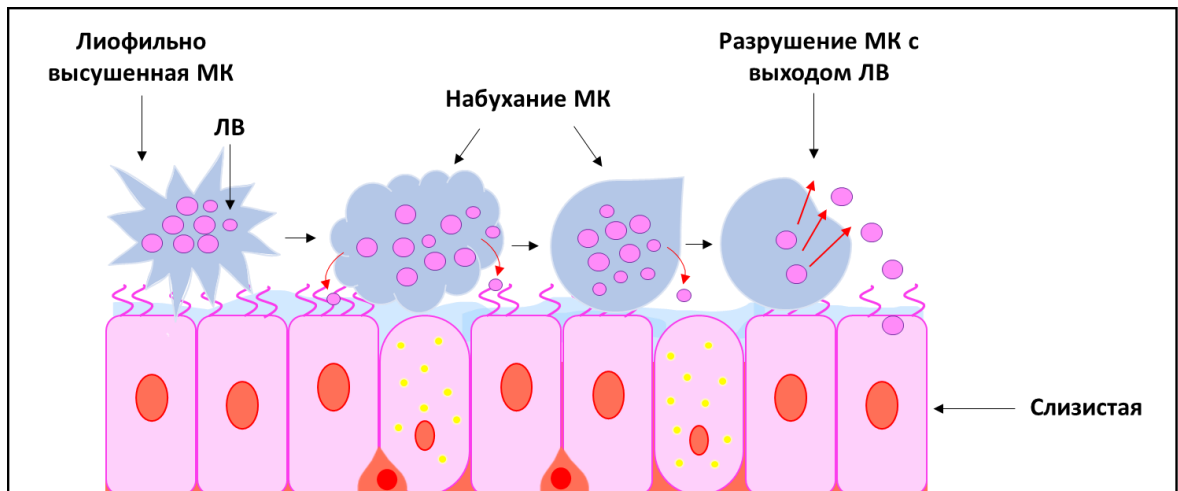


Рисунок 29 – Схема высвобождения ЛС из лиофильно высушенных МК на поверхности слизистой

### 5.3. Технологическая схема получения микрокапсул

На основе проведенных исследований нами предложена технологическая схема получения МК, покрытых ВЕРО, изображенная на Рисунке 30.

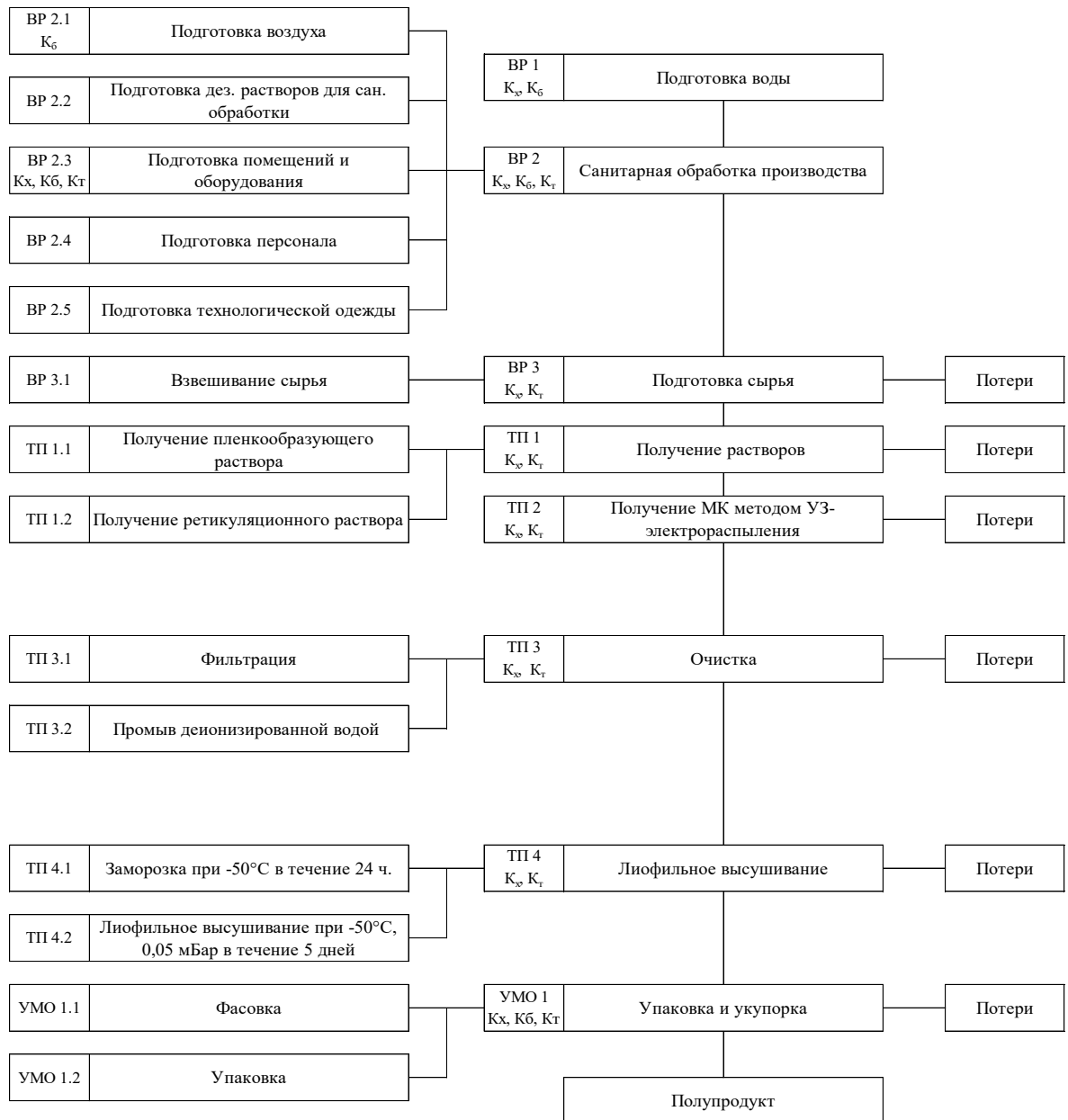


Рисунок 30 – Технологическая схема получения микрокапсул, покрытых ВЕРО (где ВР – вспомогательные работы, ТП – технологический процесс, УМО – упаковка, маркировка, отгрузка, К<sub>х</sub>, К<sub>т</sub>, К<sub>б</sub> – контроль химический, технологический, биологический)

Основное оборудование, используемое для получения МК, покрытых ВЕРО: инкапсулятор, стеклянная система для вакуумной фильтрации, лиофильная сушилка. Технологический процесс состоит из вспомогательных работ (ВР), технологических процессов (ТП), упаковки, маркировки и отгрузки (УМО) полупродукта. Основным технологическим процессом является ТП 2, от параметров прибора зависят физико-химические свойства МК, а также качества конечного продукта. ТП 3 является обязательным этапом, промыв готовых МК деионизированной водой удаляет излишки ВЕРО на поверхности частиц и препятствует их слипанию с образованием твердого конгломерата в ходе лиофильного высушивания. На основании технологической схемы были выделены контрольные точки технологического процесса (Таблица 11).

Таблица 11 – Оценка рисков основных стадий технологического процесса

<b>Стадия производственного процесса</b>	<b>Критерии технологического процесса</b>	<b>Оценка риска</b>	<b>Последствия</b>
ТП 2. Получение МК методом УЗ-электрораспыления	Параметры прибор: частота УЗ (Гц); давление потока (мБар); напряжение электрического поля (В).	Высокий	Отсутствие образования МК; Увеличение размеров образующихся МК; Слипание МК.
ТП 3. Очистка	Промывка полученных МК деионизированной водой	Высокий	Избыточное количества ВЕРО между частицами, как следствие, образование конгломерата
ТП 4. Лиофильная сушка	Время заморозки; Температура; Давление; Время высушивания	Высокий	Ухудшение физических свойств, как следствие, снижение качества конечного продукта

Разработана спецификация МК, покрытых ВЕРО, представленная в Таблице 12.

Таблица 12 – Спецификация МК, покрытых ВЕРО, загруженных леводопой

<b>Показатели качества</b>	<b>Нормы</b>	<b>Ссылки на методы испытаний</b>
Описание	Кристаллический порошок белого цвета без запаха	Визуальный Органолептический ГФ РФ ОФС.1.1.0001
Размер сухих частиц	0,044 ± 0,007 мм	Оптическая микроскопия ГФ РФ ОФС.1.2.1.0009; ФЕАЭС, 2.1.9.13.
Количественное определение леводопы	Высвобождение леводопы 100 от заявленного содержания ± 23% через 30 минут в среду ИНЖ	Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0003; ФЕАЭС, 2.1.2.24
Микробиологическая чистота	Категория 2	ГФ РФ ОФС.1.2.4.0002; ФЕАЭС, 2.3.1.2
Упаковка	Флаконы из темного стекла с навинчивающейся крышкой	
Маркировка	В соответствии с НД	
Условия хранения	В сухом, защищенном от света месте, при температуре от 15 – 25 °С	

#### **5.4. Оценка стабильности микрокапсул, покрытых модифицированным Eudragit® EPO**

Согласно разработанной спецификации, была проведена оценка стабильности МК, покрытых ВЕРО, в соответствие с ГФ РФ ОФС.1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» и ФЕАЭС, 2.3.17.0 «Стабильность лекарственных средств». Исследования проводилось согласно требованиям по долгосрочному хранению ЛС, предназначенных для хранения в

сухом, защищенном от света месте, при температуре от 15 – 25 °С через 3 и 6 месяцев после получения (Таблица 13) [43].

Таблица 13 – Оценка стабильности суспензии ПЭГилированных липосом

Показатели качества	Нормы	Результат
<b>Нулевая точка</b>		
Описание	Кристаллический порошок белого цвета без запаха	Визуальный Органолептический ГФ РФ ОФС.1.1.0001
Размер сухих частиц	0,044 ± 0,01 мм	Оптическая микроскопия ГФ РФ ОФС.1.2.1.0009; ФЕАЭС, 2.1.9.13.
Количественное определение леводопы	Высвобождение леводопы 100 от заявленного содержания ± 23% через 30 минут в среду ИНЖ	Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0003; ФЕАЭС, 2.1.2.24
<b>3 месяца</b>		
Описание	Кристаллический порошок белого цвета без запаха	Визуальный Органолептический ГФ РФ ОФС.1.1.0001
Размер сухих частиц	0,045 ± 0,007 мм	Оптическая микроскопия ГФ РФ ОФС.1.2.1.0009; ФЕАЭС, 2.1.9.13.
Количественное определение леводопы	Высвобождение леводопы 100 от заявленного содержания ± 20% через 30 минут в среду ИНЖ	Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0003; ФЕАЭС, 2.1.2.24
<b>6 месяцев</b>		
Описание	Кристаллический порошок белого цвета без запаха	Визуальный Органолептический ГФ РФ ОФС.1.1.0001
Размер сухих частиц	0,049 ± 0,009 мм	Оптическая микроскопия ГФ РФ ОФС.1.2.1.0009; ФЕАЭС, 2.1.9.13.

Продолжение Таблицы 13

Количественное определение леводопы	Высвобождение леводопы 100 от заявленного содержания $\pm 20\%$ через 30 минут в среде ИНЖ	Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0003; ФЕАЭС, 2.1.2.24
-------------------------------------	--	---

По результатам оценки стабильности МК, покрытых ВЕРО, было выявлено, что система соответствует нормам по всем показателям в течение 6-ти месяцев. В ходе хранения в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 15 – 25 °С МК не слеживаются, размер частиц не изменяется. При этом МК обеспечивают полный выход леводопы через 30 минут нахождения в ИНЖ.

### 5.5. Выводы по главе 5

1. Были получены МК, покрытые ВЕРО, методом УЗ-электрораспыления. Подобран их оптимальный состав. МК, покрытые ВЕРО, имеют, практически в 5 раз, меньший размер частиц ( $0,087 \pm 0,008$  мкм), чем МК, покрытые ЕРО ( $0,426 \pm 0,017$  мкм), что является большим преимуществом при интраназальной доставке ЛС. Мы предполагаем, что уменьшение размеров частиц может быть связано с изменением значений рН исходного раствора терполимера при его получении с 6,0 до 5,0 ед. рН. Уменьшение значения рН раствора приводит к увеличению плотности заряда диметиламино групп ЕРО, что ведет к увеличению его реакционной способности. Это, в свою очередь, может приводить к контракции структуры ядра МК ввиду уменьшения плотности заряда ионизированных карбоксильных групп на цепочках D-маннуроносовой и L-гулууроносовой кислот, снижению гидратации альгинатного каркаса, что и приводит к уменьшению их размеров. Кроме того, образование межмакромолекулярных ионных связей между свободными карбоксильными группами, расположенными на поверхности альгинатного ядра МК и противоположно-заряженными диметиламино группами ВЕРО, формирующих их оболочку, могут, как известно, вызывать контракцию

гидрогелевых частиц (в нашем случае, состоящих из альгината кальция) за счет давления на гидратный слой ядра образующейся пленки интерполиэлектролитного комплекса (ИПЭК). Последнее сопровождается контракцией частиц в силу снижения гидратированности их поверхностей, их гидрофобизацией, благодаря образованию пленки ИПЭК и уменьшением толщины гидратной оболочки вокруг альгинатного каркаса МК.

2. Наличие ФБК на поверхности микрочастиц усиливает мукоадгезивные свойства, но при этом не влияет на скорость и степень выхода леводопы из МК, что согласуется с другими работами по модификации частиц молекулами ФБК [124]. Выход леводопы из МК, покрытых ВЕРО, в среду ИНЖ через 30 мин эксперимента составил  $100 \pm 23\%$ . Покрытие противоположно-заряженным терполимером ЕРО альгинатных МК приводит, с одной стороны к увеличению длительности удерживания на поверхности слизистой, а с другой – к немедленному высвобождению включенного ЛВ, что и должно обеспечивать увеличение БД леводопы.

3. Предложена технологическая схема и разработана спецификация носителя в виде МК, покрытых ВЕРО. Доказана стабильность МК, покрытых ВЕРО, в течение 6-ти месяцев.

## ГЛАВА 6. ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МУКУСПРОНИКАЮЩИХ СИСТЕМАХ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

### 6.1. Получение липосом методом гидратация липидной пленки и их характеристика

Для создания мукусепроницающей системы интраназальной доставки ЛС в мозг в терапии заболеваний ЦНС в качестве наноносителей мы выбрали липосомы [95]. Они состоят из липидов природного происхождения, поэтому обладают хорошей биосовместимостью [8]. При контакте липосомы с клеточной мембраной происходит обмен липидами и выход содержимого в клетку [133]. Ввиду большого количество выделяемого муконазального секрета в носовой полости большая часть липосом не успевает высвободить ЛС, смывается и заглатывается в ЖКТ. Мы решили провести их модификацию ПЭГом для улучшения их мукусепроницающих свойств, который за счет формирования «dense brush» («плотная кисть») конфигурации, усиливает проникновение веществ в слизистую [230]. Ранее была доказана безопасность ПЭГилированных липосом, а также их способность снижать токсическое действие ЛП, циркулирующих в крови [60, 193]. Методом «гидратация липидной пленки» было получено 5 видов липосом: немодифицированные (традиционные) липосомы и липосомы, модифицированные молекулой ПЭГа (ПЭГилированные) с разной ММ ПЭГа: 1000 Да (ПЭГилированные<sub>1000</sub>), 2000 Да (ПЭГилированные<sub>2000</sub>), 3000 Да (ПЭГилированные<sub>3000</sub>) и 5000 Да (ПЭГилированные<sub>5000</sub>). Готовая суспензия традиционных и ПЭГилированных липосом представляла собой опалесцирующий раствор слегка желтоватого цвета без запаха [7, 9, 15].

Оценку физико-химических свойств полученных наночастиц проводили методом ДРС: диаметр ( $d$ , нм), индекс полидисперсности ( $Pdi$ ) и дзета-потенциал ( $ZP$ , мВ). Полученные результаты представлены в Таблице 14.

Таблица 14 – Результаты ДРС суспензии липосом через сутки после получения

Образец	Диаметр ( $d$ , нм)	Индекс полидисперсности ( $Pdi$ )	Дзета-потенциал ( $ZP$ , мВ)
Традиционные липосомы	$81 \pm 1$	0,150	$-47 \pm 2$
ПЭГилированные <sup>1000</sup> липосомы	$86 \pm 1$	0,209	$-47 \pm 1$
ПЭГилированные <sup>2000</sup> липосомы	$89 \pm 1$	0,211	$-41 \pm 1$
ПЭГилированные <sup>3000</sup> липосомы	$91 \pm 1$	0,193	$-36 \pm 1$
ПЭГилированные <sup>5000</sup> липосомы	$87 \pm 1$	0,223	$-29 \pm 2$

Диаметр липосом варьирует от 81 до  $91 \pm 1$  нм, индекс полидисперсности не превышает 0,300, что свидетельствует о том, что система монодисперсна и в растворе присутствуют частицы преимущественно одного размера [13, 182]. Дзета-потенциал – отрицательный, что дает возможность дополнительно взаимодействовать с положительно заряженными группами аминокислотных остатков (серина, тирозина и пролина) в составе белковых фрагментов муцина на поверхности слизистой носа. Наличие ПЭГа не оказывает большого влияния на оцениваемые физико-химические характеристики полученных липосом. Интенсивность распределения липосом представлена на Рисунке 31.

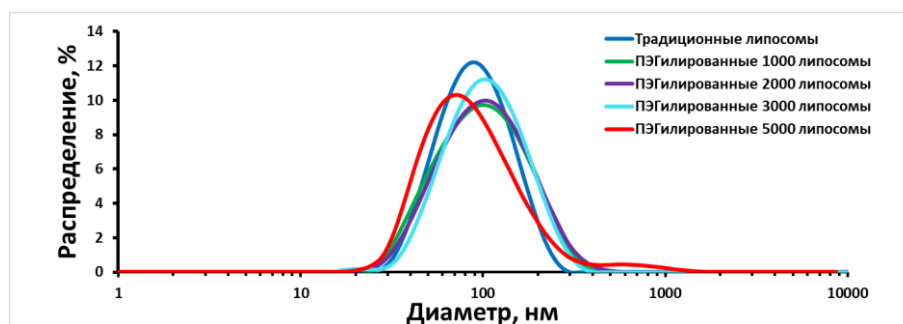


Рисунок 31 – Интенсивность распределения липосом через сутки после получения

## 6.2. Исследование поведения традиционных и ПЭГилированных липосом на поверхности слизистой

С целью разработки интраназальной системы доставки ЛС мы провели исследование поведения липосом на поверхности изолированной слизистой носа овцы [16].

Проницаемость традиционных и ПЭГилированных липосом, загруженных флуоресцеинатом натрия, на поверхности поперечных срезов изолированной слизистой носа овец через разные промежутки времени представлены на Рисунке 32. Мукопроницающие свойства ПЭГилированных липосом изучали в сравнении с традиционными липосомами (Рисунок 33). В начале эксперимента не было статистически значимой разницы между функционализированными липосомами, но ПЭГилированные липосомы проникают быстрее, чем традиционные липосомы ( $p < 0,0001$ ). На 5-й минуте лучшие показатели проницаемости продемонстрировали ПЭГилированные липосомы с ММ 2000 и 3000 Да. На 15-й минуте проницаемость ПЭГилированных<sub>3000</sub> и ПЭГилированных<sub>5000</sub> липосом происходит лучше, чем других типов наночастиц. Через 30 минут можно отметить, что ПЭГилированные<sub>5000</sub> липосомы проникают глубже в изолированную слизистую носа овцы ввиду большой ММ ПЭГа.

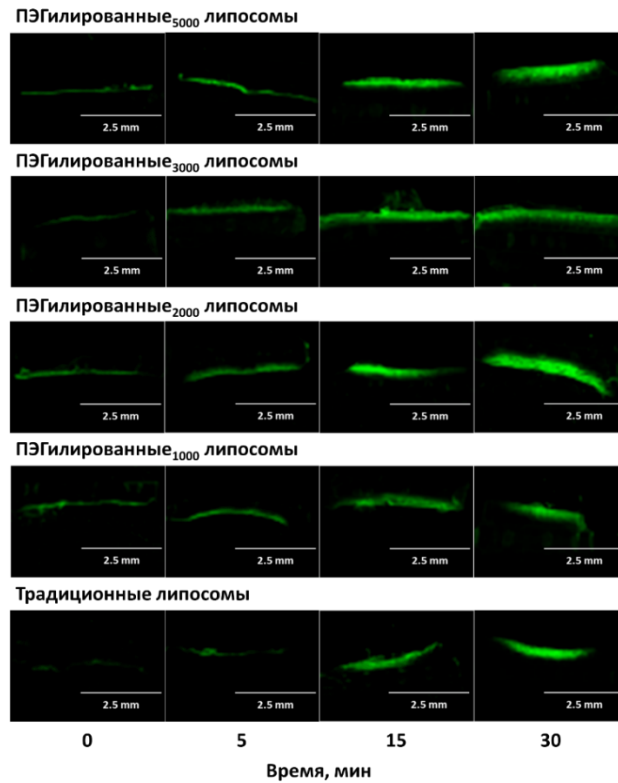


Рисунок 32 – Флуоресцентные изображения поперечных срезов изолированной слизистой носа овец с нанесенной суспензией традиционных и ПЭГилированных липосом (ММ ПЭГа = 1000, 2000, 3000 и 5000 Да), загруженных флуоресцеинатом натрия, через разные промежутки времени. Масштаб – 2500  $\mu$ м

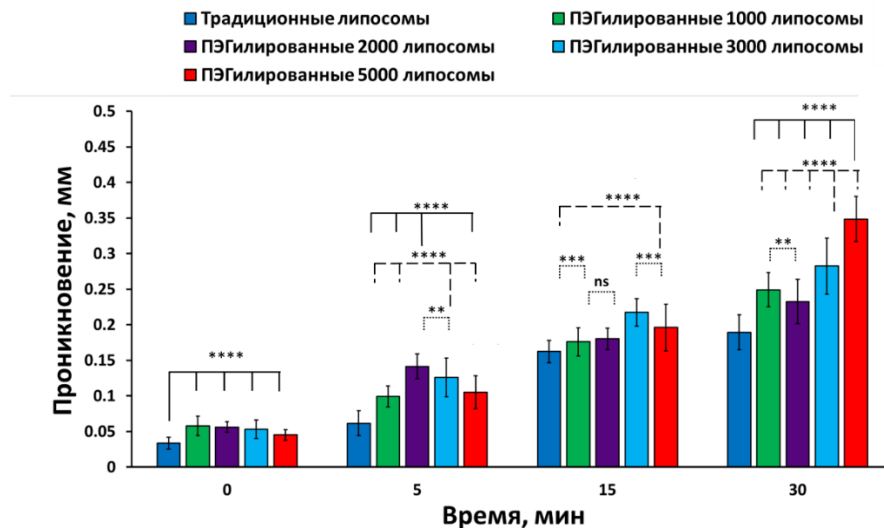


Рисунок 33 – Результаты исследования мукуспроницающих свойств традиционных и ПЭГилированных липосом (ММ ПЭГа = 1000, 2000, 3000 и 5000 Да), загруженных флуоресцеинатом натрия, в слизистую оболочку носа овец. Проникновение в слизистую оболочку представлено, как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение ( $n = 3$ ). Достоверные различия: \*\*\*\* –  $p < 0,0001$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \* –  $p < 0,05$ ; *ns* — нет статистически значимой разницы

### 6.3. Расчет эффективности инкапсуляции и загрузочной ёмкости традиционных и ПЭГилированных липосом

ЭИ,% и ЗЁ,% являются важными показателями, характеризующими эффективность и безопасность наносистем [135]. Их оценка обязательный этап получения наночастиц. ЭИ,% характеризует процент ЛС, инкапсулированного в частицы, или связанное с её поверхностью, по отношению к исходному количеству ЛС [239]. ЗЁ,% определяет процентное количество ЛС относительно массы наночастиц [133].

Расчет ЭИ,% производился по формуле:

$$\text{ЭИ, \%} = \frac{M_{\text{исходное ЛС}} - (M_{\text{свободное ЛС}} + M_{\text{осажденное ЛС}})}{M_{\text{исходное ЛС}} - M_{\text{осажденное ЛС}}} * 100\%, \text{ где:}$$

$M_{\text{исходное ЛС}}$  – исходное количество ЛС,

$M_{\text{свободное ЛС}}$  – количество свободного ЛС, не инкапсулированного в липосомы,

$M_{\text{осажденное ЛС}}$  – количество ЛС, осажденного на последнем этапе приготовления липосом (центрифугирование).

В этом случае мы рассчитываем количество инкапсулированного ЛС следующим образом:

$$M_{\text{инкапсулированное ЛС}} = M_{\text{исходное ЛС}} - M_{\text{свободное ЛС}}$$

ЗЁ,% представляет собой количество ЛС, загруженного на единицу массы наночастицы [131]. Расчет ЗЁ,% производился по формуле:

$$\text{ЗЁ, \%} = \frac{M_{\text{исходное ЛС}} - (M_{\text{свободное ЛС}} + M_{\text{осажденное ЛС}})}{M_{\text{исходные липиды}} - M_{\text{осажденные липиды}}} * 100\%, \text{ где:}$$

$M_{\text{исходное ЛС}}$  – исходное количество ЛС,

$M_{\text{свободное ЛС}}$  – количество свободного ЛС, не инкапсулированного в липосомы,

$M_{\text{осажденное ЛС}}$  – количество ЛС, осажденного на последнем этапе приготовления липосом (центрифугирование),

$M_{\text{осажденные липиды}}$  – количество липидов, осажденное на последнем этапе приготовления липосом (центрифугирование),

$M_{\text{исходные липиды}}$  – исходное количество липидов, использованных для получения липосом.

Результаты, полученные в ходе расчетов ЭИ,% и ЗЁ,% липосом, загруженных леводопой, представлены в Таблице 15. Больших различий ЭИ,% и ЗЁ,% разных типов липосом не наблюдается. ЭИ,% варьирует в пределах от 80,3 до 87,1%. Показатели ЭИ,% ПЭГилированных липосом выше, чем у традиционных. Наилучший показатель наблюдается у ПЭГилированных липосом с ММ ПЭГа 5000 Да – 87,1%. ЗЁ,% составила от 9,2 до 10,6%, при этом наивысший показатель также отмечается у ПЭГилированных<sub>5000</sub> липосом. Это указывает, что большая часть ЛС, введенного в суспензию, находится в составе наночастиц.

Таблица 15 – ЭИ,% и ЗЁ,% традиционных и ПЭГилированных липосом. Результаты представлены, как ЭИ,% и ЗЁ,%  $\pm$  стандартное отклонение ( $n=3$ )

Образец	Эффективность инкапсуляции, %	Загрузочная ёмкость, %
Традиционные липосомы	80,3 $\pm$ 0,4	9,7 $\pm$ 0,1
ПЭГилированные <sub>1000</sub> липосомы	85,5 $\pm$ 1,3	9,4 $\pm$ 0,3
ПЭГилированные <sub>2000</sub> липосомы	82,7 $\pm$ 0,3	9,2 $\pm$ 0,1
ПЭГилированные <sub>5000</sub> липосомы	87,1 $\pm$ 0,5	10,6 $\pm$ 0,4

#### 6.4. Исследование высвобождения леводопы из традиционных и ПЭГилированных липосом

Исследование высвобождения леводопы из суспензии липосом проводилось на вертикальной диффузионной ячейке Франца по способности ЛС проникать через мембрану в среду растворения ИНЖ. В качестве мембраны использовали диализную мембрану (ММО = 12–14 кДа; Medicell Int. Ltd., Великобритания), толщиной 0,1 мм. Диффузию леводопы из суспензии традиционных и

ПЭГилированных липосом оценивали в сравнении с раствором свободного ЛС той же концентрации. Результаты представлены на Рисунке 34. Заметных различий высвобождения леводопы из разных типов липосом не наблюдается. Диффузия раствора леводопы в ИНЖ через диализную мембрану в течение 3-х ч. демонстрирует аналогичные результаты, что и ЛС в составе суспензии липосом ( $6,7 \pm 0,1\%$ ). Максимальный выход леводопы составил  $9,9 \pm 1,3\%$  из ПЭГилированных<sub>2000</sub> липосом. Мы предполагаем, что в данном случае происходит проникновение только не инкапсулированного (свободного) ЛС.

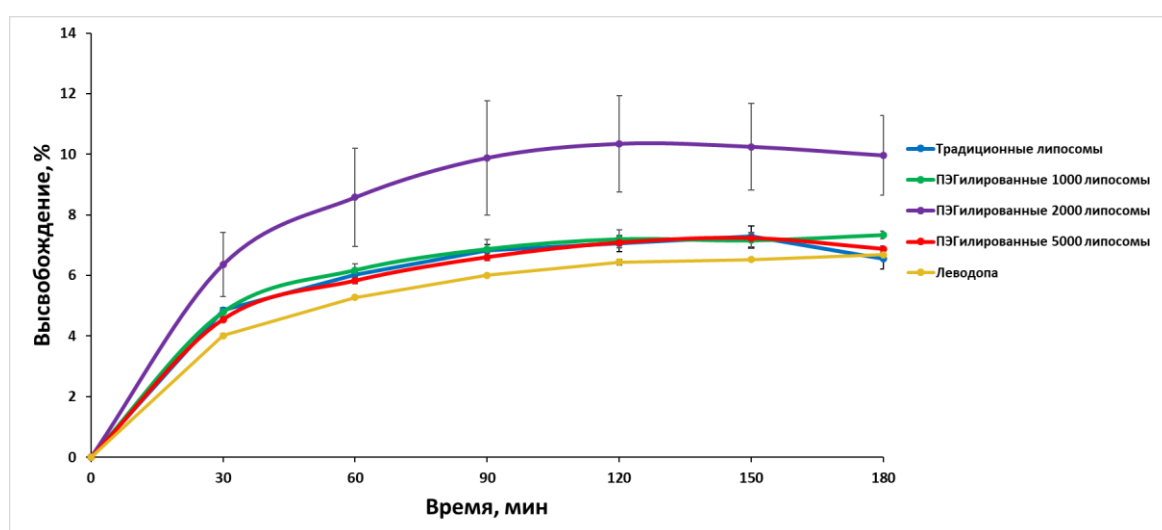


Рисунок 34 – Высвобождение леводопы из традиционных и ПЭГилированных липосом в среду ИНЖ через диализную мембрану в течение 3 ч. Высвобождение, % представлено как среднее  $\pm$  стандартное отклонение ( $n = 3$ )

На Рисунке 35 представлена схема выхода ЛС из разных типов липосом в ходе контакта с диализной мембраной в среду ИНЖ.

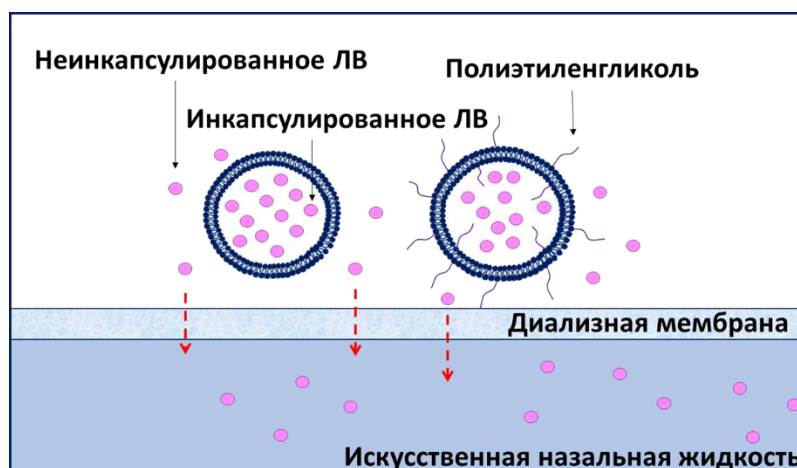


Рисунок 35 – Схема выхода ЛС из традиционных и ПЭГилированных липосом в среду ИНЖ (pH 5,8) при контакте с диализной мембраной

В составе липосомы гидрофильный раствор леводопы покрыт фосфолипидным слоем, который защищает содержимое ЛС от водной среды организма. Со временем бислой разрушается, и происходит выход ЛС. В ходе контакта липосомы с клеточной мембраной, происходит разрушение фосфолипидной стенки липосомы, и выход содержимого в клетку. Проведенное нами исследование высвобождения леводопы из суспензии традиционных и ПЭГилированных липосом на вертикальной диффузионной ячейке Франца через изолированную слизистую носа овцы с толщиной 0,2 мм, также показало увеличение концентрации ЛС в среде ИНЖ до  $17,5 \pm 1,5\%$  (Рисунок 36). При этом диффузия раствора леводопы показала аналогичный результат  $6,7 \pm 0,2\%$ . Наибольший выход ЛС наблюдался из ПЭГилированных<sub>5000</sub> липосом, что может быть связано с наибольшей ММ ПЭГа в составе липосомы. Как известно, ПЭГ усиливает проницаемость веществ в клетку [193].

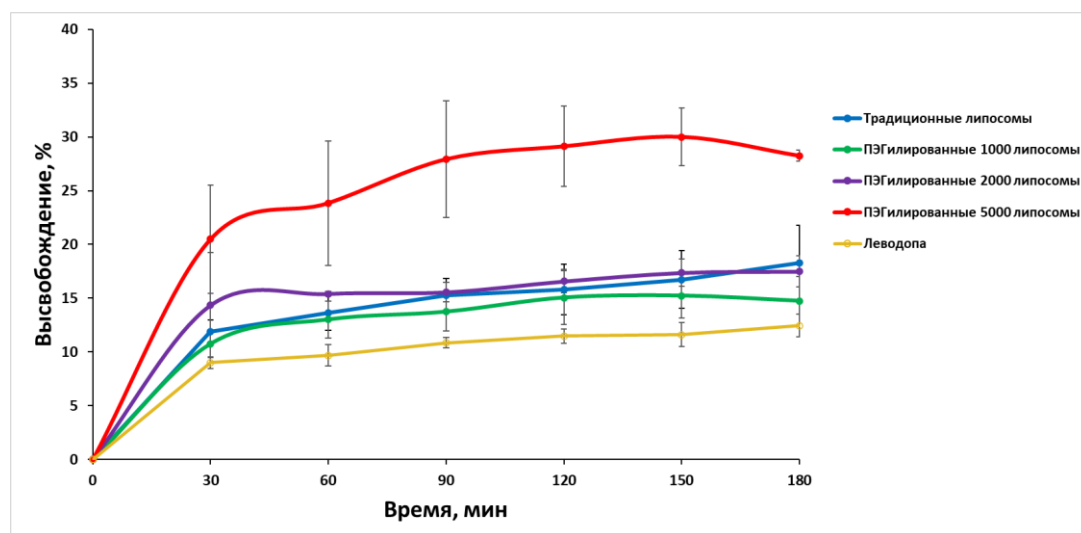


Рисунок 36 – Высвобождение леводопы из традиционных и ПЭГилированных липосом в среду ИНЖ через изолированную слизистую носа овцы в течение 3 ч. Высвобождение, % представлено как среднее  $\pm$  стандартное отклонение ( $n = 3$ )

На рисунке 37 представлена схема выхода ЛС из разных типов липосом в ходе контакта с изолированной слизистой носа овцы в среду ИНЖ.

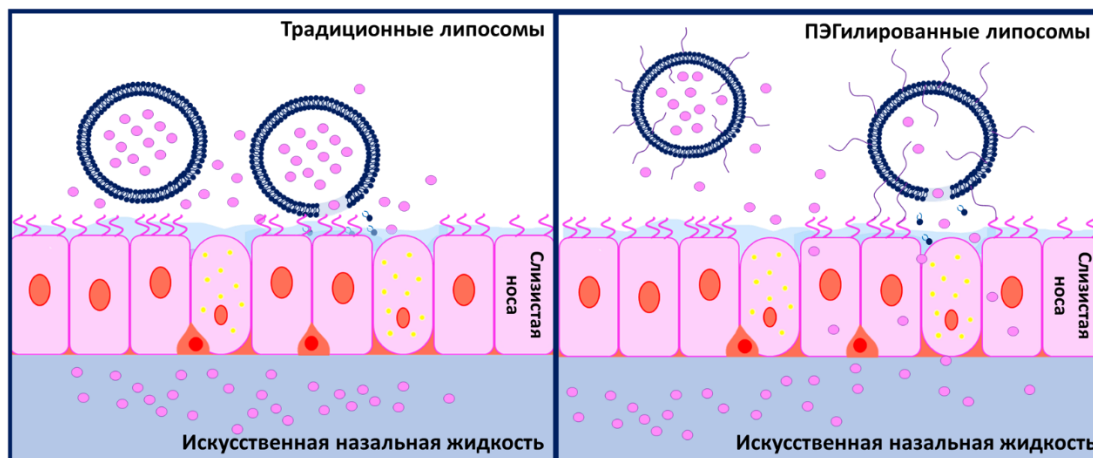


Рисунок 37 – Схема выхода ЛС из традиционных и ПЭГилированных липосом в среду ИНЖ (pH 5,8) при контакте с изолированной слизистой носа овцы

Профиль высвобождения леводопы не соответствует моделям нулевого и первого порядка. В этой связи, данные по высвобождению были проанализированы в соответствии с моделью Корсмейера-Пеппаса в уравнении (1) с тем, чтобы выявить механизмы, лежащие в основе высвобождения леводопы из полученных липосомальных составов [185, 222].

$$Q_t = A * t^n, (1)$$

где  $Q_t$  – скорость действия препарата во времени,

$A$  — константа наночастиц, учитывающая особенности геометрической структуры,

$t$  — время высвобождения,

$n$  — показатель степени высвобождения, указывающий механизм скорости высвобождения.

Модель Корсмейера-Пеппаса может использоваться для описания и анализа высвобождения ЛС из наночастиц или в случае комбинации более чем одного типа механизма высвобождения. Высвобождение леводопы из липосом, согласно значению показателя степени высвобождения  $n \leq 0,45$ , соответствует механизму транспорта по закону диффузии Фика.

### **6.5. Валидация методики количественного определения леводопы методом ультрафиолетовой спектрофотометрии**

Валидация аналитической методики контроля количественного определения методом УФ-спектрофотометрии была статистически обработана с применением ПО Microsoft Excel и выполнялась в соответствии с требованиями Решения Коллегии ЕЭК от 17 июля 2018 г. № 113, ГФ РФ, ФЕАЭС по следующим характеристикам: специфичность, линейность, прецизионность и правильность [5, 19, 42, 44]

Была получена серия разведений раствора леводопы, для этого готовили исходный стандартный раствор леводопы с концентрацией 1 мг/мл. 1 мг отмеривали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 70 мл 0,9% раствора NaCl и перемешивали до полного растворения ЛС, затем доводили растворителем до метки (Раствор А). Серию стандартных растворов для построения калибровочной кривой готовили путем разбавления раствора А средой растворения

– ИНЖ. Количественное определение проводили УФ-спектрофотометрически при длине волны 279 нм.

Для подтверждения специфичности методики были сняты спектры 0,9% раствора NaCl, который использовали в качестве растворителя, а также спектр среды растворения – ИНЖ. Спектры приедены на Рисунке 38 и Рисунке 39. Согласно полученным результатам, на спектрах отсутствуют поглощение в диапазоне, которое советует максимуму поглощения леводопы в стандартном растворе.

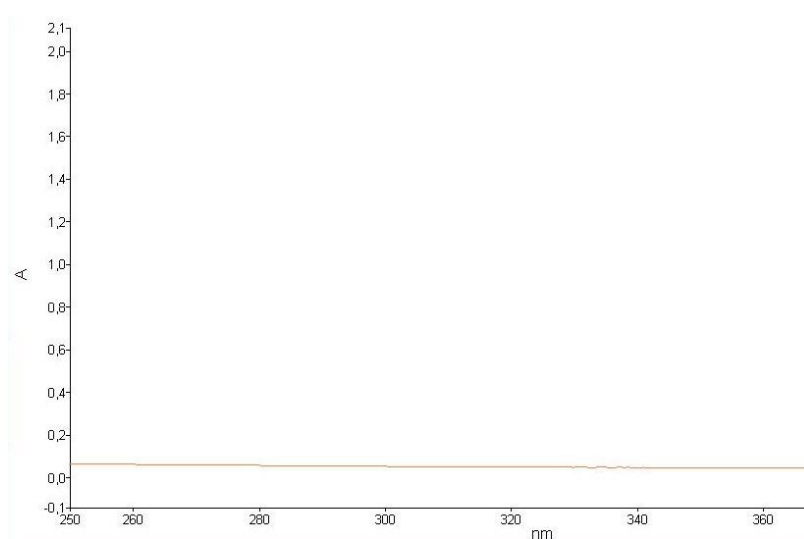


Рисунок 38 – Спектр 0,9% раствора NaCl

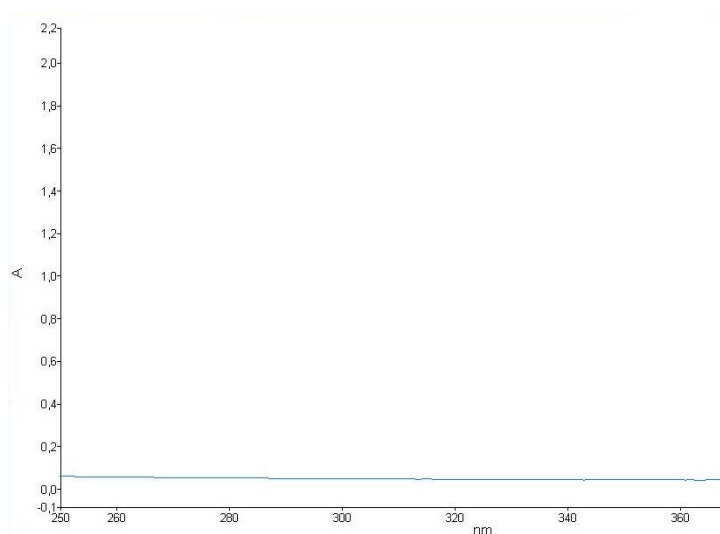


Рисунок 39 – Спектр среды растворения – ИНЖ

Для определения линейности было проведено измерение оптической плотности 7 стандартных растворов леводопы с известной концентрацией (10, 20, 30, 40, 50, 60 и 70 мкг/мл) и построен калибровочный график (Рисунок 40). Коэффициент корреляции ( $R^2$ ) составил 0,9992, что превышает значение 0,99.

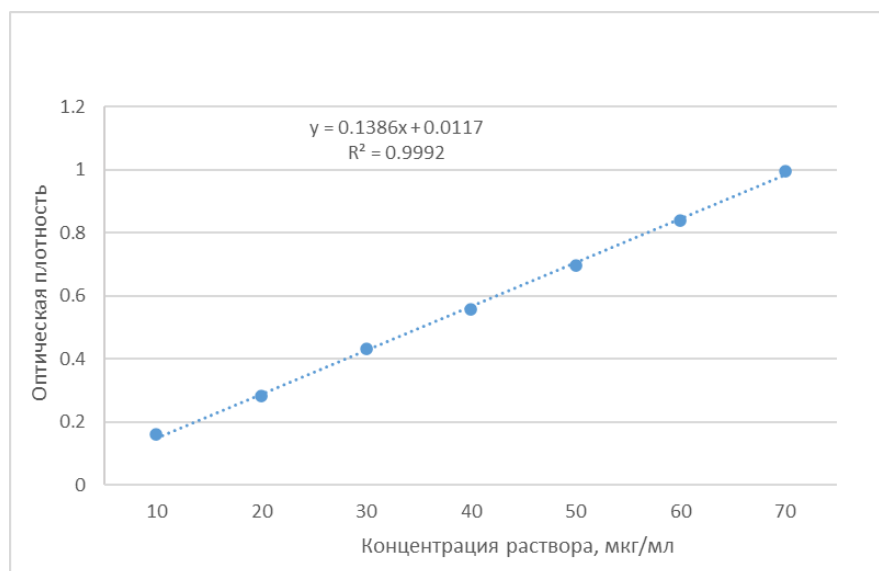


Рисунок 40 – Калибровочный график зависимости оптической плотности леводопы от концентрации в растворе

Для оценки прецизионности было проведено измерение оптической плотности 3-х концентраций стандартного раствора 10, 30 и 70 мкг/мл (нижнего, среднего и верхнего уровня) 5 раз, рассчитано среднее значение и относительное стандартное отклонение (RSD,%). Результаты приведены в Таблице 16. RSD, % составил менее 2,00%, что указывает на повторяемость (сходимость) аналитической методики.

Таблица 16 – Результаты для оценки прецизионности (сходимости) аналитической методики

<b>С<sub>факт</sub>, мкг/мл</b>	<b>С<sub>практ</sub>, мкг/мл</b>	<b>Среднее значение (n=5) С<sub>практ</sub>, мкг/мл</b>	<b>RSD, % n=5</b>
10	10,99	10,95	<b>0,36</b>
	10,99		
	10,92		
	10,92		
	10,92		
30	29,82	29,82	<b>0,17</b>
	29,89		
	29,82		
	29,75		
	29,82		
70	71,74	71,78	<b>0,06</b>
	71,74		
	71,81		
	71,81		
	71,81		

Измерение оптической плотности стандартных образцов с концентрацией 10, 30 и 70 мкг/мл было выполнено двумя химиками. Каждый раствор измеряли на УФ-спектрофотометре 5 раз (Таблица 17). Относительное стандартное отклонение не превышает 2,00%, что указывает на внутрилабораторную (промежуточную) прецизионность.

Таблица 17 – Результаты для оценки внутрилабораторной (промежуточная) прецизионности аналитической методики

<b>С<sub>факт</sub>, МКГ/МЛ</b>	<b>С<sub>практ</sub>, МКГ/МЛ</b>	<b>Среднее значение (n=10) С<sub>практ</sub>, МКГ/МЛ</b>	<b>RSD, % n=10</b>
10	10,99	10,95	<b>0,34</b>
	10,99		
	10,92		
	10,92		
	10,92		
	10,99		
	10,92		
	10,92		
	10,92		
	10,99		
30	29,82	29,81	<b>0,14</b>
	29,89		
	29,82		
	29,75		
	29,82		
	29,82		
	29,82		
	29,82		
	29,75		
	29,82		
70	71,74	71,78	<b>0,06</b>
	71,74		
	71,81		
	71,81		
	71,81		

Продолжение Таблицы 17

	71,81		
	71,81		
	71,81		
	71,88		
	71,88		

Было установлено, что аналитическая методика количественного определения леводопы методом УФ-спектрофотометрии соответствует критериям специфичность, линейность и прецизионность. В результате, можно сделать вывод, что методика отвечает показателю правильности.

#### **6.6. Технологическая схема получения ПЭГилированных липосом**

На основе проведенных исследований нами предложена технологическая схема получения ПЭГилированных липосом, изображенная на рисунке 41. Основное оборудование, используемое для получения ПЭГилированных липосом: вакуум сушильный шкаф, вортекс, УЗ-баня, центрифуга. Технологический процесс состоит из вспомогательных работ (ВР), технологических процессов (ТП), упаковки, маркировки и отгрузки (УМО) полупродукта.

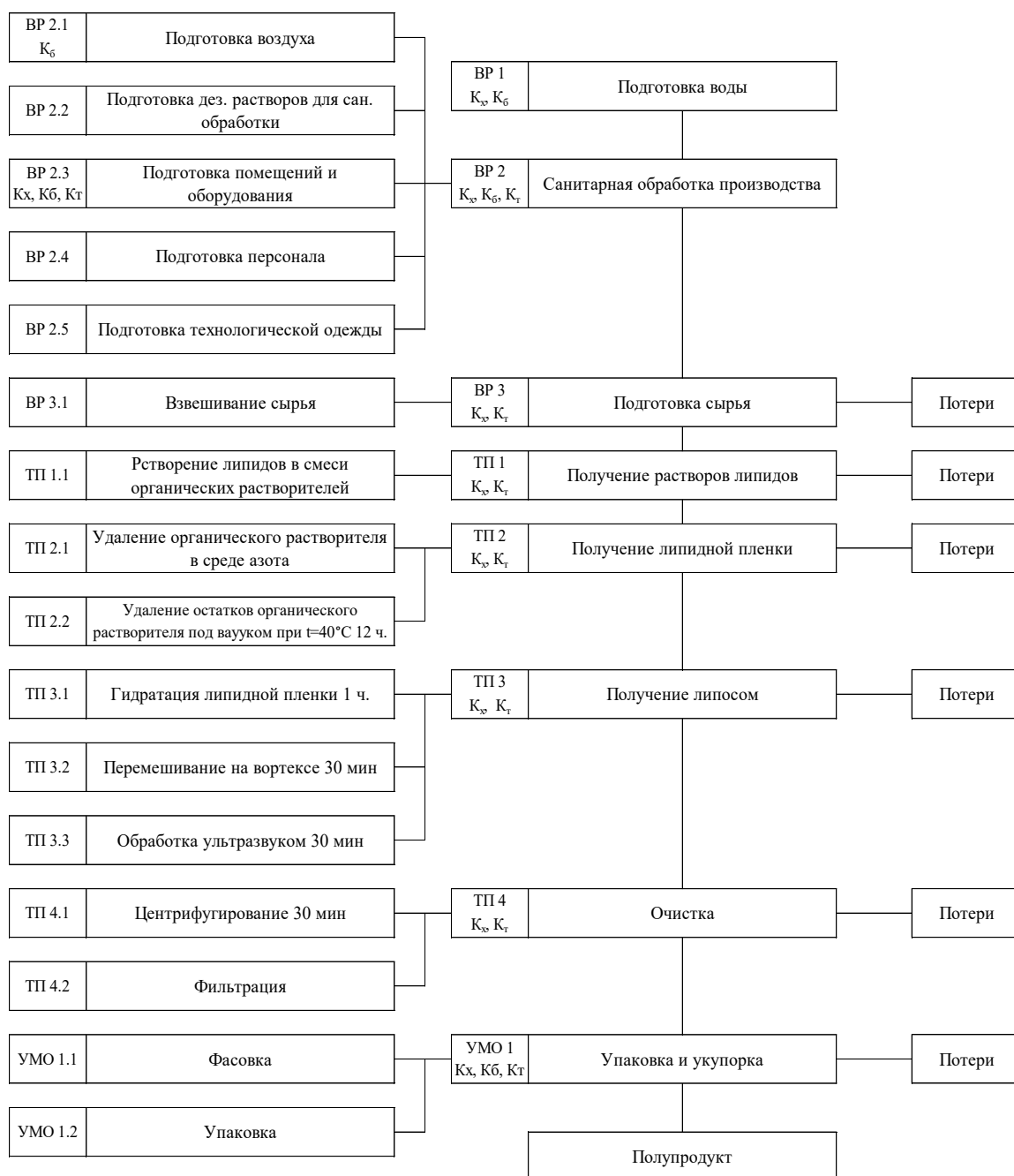


Рисунок 41 – Технологическая схема получения ПЭГилированных липосом (где ВР – вспомогательные работы, ТП – технологический процесс, УМО – упаковка, маркировка, отгрузка, К<sub>х</sub>, К<sub>т</sub>, К<sub>б</sub> – контроль химический, технологический, биологический)

Особенностью ТП 2 является полное удаление растворителей с целью получения тонкой липидной пленки на дне пробирки. Во время ТП 3 требуется соблюдение всех временных отрезков каждой технологической стадии: гидратация липидной пленки должна длиться не менее 1 ч., перемешивание на вортексе – не

менее 30 минут, обработка ультразвуком – не менее 30 минут. ТП 4 также является важным этапом в получении суспензии ПЭГилированных липосом: центрифугирование проводят при скорости 14000 об/мин в течение 30 минут, а фильтрация осуществляется через мембранный фильтр 0,45  $\mu\text{м}$  для получения суспензии с размером частиц преимущественного одного диаметра.

На основании технологической схемы были выделены контрольные точки технологического процесса (Таблица 18).

Таблица 18 – Оценка рисков основных стадий технологического процесса

Стадия производственного процесса	Критерии технологического процесса	Оценка риска	Последствия
ТП 2. Получение липидной пленки	Скорость потока азота; Высушивание (температурный режим, давление)	Высокий	Изменение физико-химических свойств липосом, как следствие, образование частиц разных размеров с низкой ЗЕ,%, снижение мукуспроникающих свойств
ТП 3. Получение липосом	Время гидратации липидной пленки; Время вортекса; Время обработки УЗ.	Высокий	Изменение физико-химических свойств липосом, как следствие, образование частиц разных размеров с низкой ЗЕ,%, снижение мукуспроникающих свойств
ТП 4. Очистка	Скорость и время центрифугирования; Диаметр пор мембранного фильтра	Высокий	Наличие в суспензии частиц разного размера, как следствие, разная загрузка ЛС, быстрая седиментация крупных частиц

Разработана спецификация ПЭГилированных липосом, представленная в Таблице 19.

Таблица 19 – Спецификация ПЭГилированных липосом, загруженных леводопой

<b>Показатели качества</b>	<b>Нормы</b>	<b>Ссылки на методы испытаний</b>
Описание	Опалесцирующий раствор слегка желтоватого цвета без запаха	Визуальный Органолептический ГФ РФ ОФС.1.1.0001
Размер частиц	От 80 до 100 нм	Метод динамического рассеивания света
рН суспензии	От 5,0 до 7,5	Потенциометрический ГФ РФ ОФС.1.2.1.0004
Дзета-потенциал	Отрицательный	Метод динамического рассеивания света ГФ РФ ОФС.1.1.1.0005
Микробиологическая чистота	Категория 2	ГФ РФ ОФС.1.2.4.0002; ФЕАЭС, 2.3.1.2
Упаковка	Флаконы из темного стекла с навинчивающейся крышкой	
Маркировка	В соответствии с НД	
Условия хранения	В защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8 °С	

### **6.7. Оценка стабильности суспензии ПЭГилированных липосом**

Согласно разработанной спецификации, была проведена оценка стабильности ПЭГилированных липосом в соответствии с ГФ РФ ОФС.1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» и ФЕАЭС, 2.3.17.0 «Стабильность лекарственных средств». Исследования проводилось согласно требованиям по долгосрочному хранению ЛС, предназначенных для хранения в холодильнике при температуре  $5 \pm 3^\circ\text{C}$  через 3, 6 и 12 месяцев после получения (Таблица 20) [43]. Мы проводили оценку показателей качества, которые

характеризуют стабильность системы. Находясь в растворе, липосомы не должны агрегировать, разрушаться или изменять свою структуру. Все это будет оказывать влияние на количество инкапсулированного вещества в липосомы и количество липосом в растворе, снижение мукопроницающих свойств.

Таблица 20 – Оценка стабильности суспензии ПЭГилованных липосом

Показатели качества	Нормы	Результат
<b>Нулевая точка</b>		
Описание	Опалесцирующий раствор слегка желтоватого цвета без запаха	Опалесцирующий раствор слегка желтоватого цвета без запаха
Размер частиц	От 80 до 100 нм	$87 \pm 1$
рН суспензии	От 5,0 до 7,5	$6,60 \pm 0,05$
Дзета-потенциал	Отрицательный	$-29 \pm 2$
Индекс полидисперсности	Не более 0,3	$0,223 \pm 0,002$
<b>3 месяца</b>		
Описание	Опалесцирующий раствор слегка желтоватого цвета без запаха	Опалесцирующий раствор слегка желтоватого цвета без запаха
Размер частиц	От 80 до 100 нм	$89 \pm 1$
рН суспензии	От 5,0 до 7,5	$6,50 \pm 0,05$
Дзета-потенциал	Отрицательный	$-29 \pm 1$
Индекс полидисперсности	Не более 0,3	$0,219 \pm 0,014$
<b>6 месяцев</b>		
Описание	Опалесцирующий раствор слегка желтоватого цвета без запаха	Опалесцирующий раствор слегка желтоватого цвета без запаха
Размер частиц	От 80 до 100 нм	<b><math>200 \pm 3</math></b>
рН суспензии	От 5,0 до 7,5	$6,15 \pm 0,05$
Дзета-потенциал	Отрицательный	$-29 \pm 1$
Индекс полидисперсности	Не более 0,3	$0,120 \pm 0,010$

Продолжение Таблицы 20

<b>12 месяцев</b>		
Описание	Опалесцирующий раствор слегка желтоватого цвета без запаха	Опалесцирующий раствор слегка желтоватого цвета без запаха
Размер частиц	От 80 до 100 нм	<b>207 ± 7</b>
рН суспензии	От 5,0 до 7,5	6,15 ± 0,05
Дзета-потенциал	Отрицательный	-21 ± 1
Индекс полидисперсности	Не более 0,3	0,130 ± 0,058

По результатам оценки стабильности ПЭГилированных липосом было выявлено, что система соответствует нормам по всем показателям в течение 3-месяцев. Через 6 месяцев наблюдается увеличение размеров липосом, которые выходят за установленные нормы. При этом, стоит отметить, что индекс полидисперсности снижается. Это может говорить о том, что со временем липосомы начинают агрегировать, образуя скопления частиц большего размера. Остальные показатели: рН, дзета-потенциал и индекс полидисперсности остаются в пределах нормы в течение 12 месяцев.

#### **6.8. Оценка противопаркинсонической активности традиционных и ПЭГилированных липосом, загруженных леводопой**

При введении галоперидола внутрибрюшинно каталептогенный эффект наиболее выражен через 1 час [70]. После интраназального введения образцов через 30 минут эксперимента не наблюдалось статистически значимой разницы. В группе животных, получавших липосомы, не нагруженные ЛС, все 6 крыс оставались на перекладине в течение 180 секунд через 60 и 120 минут после интраназального введения, что согласуется с литературными данными и указывает на развитие каталепсии у животных [41]. В группе крыс, получавших леводопу интраназально,

ингибирование каталептогенного состояния наблюдалось через 60 минут, которое было наиболее выражено через 120 минут после введения (Рисунок 42).

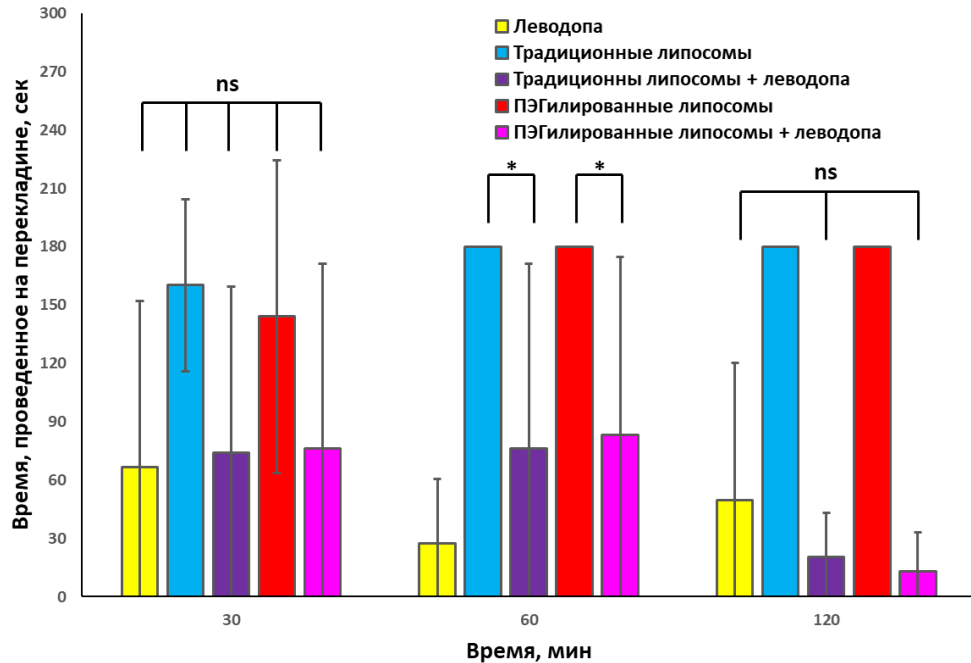


Рисунок 42 – Тест *in vivo* по ингибированию каталептогенного состояния у крыс, вызванного галоперидолом. Время, проведенное на перекладине, сек представлено как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение ( $n = 6$ ). Достоверные различия: \* –  $p < 0,05$ ; ns — нет статистически значимой разницы

Интраназальное введение леводопы вызывает угнетении дофаминергической передачи через 1 ч. При пероральном введении леводопы, около 30% ЛС достигает системного кровотока, остальная часть декарбоксилируется с образованием дофамина под действием ферментов ЖКТ [71]. При этом в головной мозг поступает только 1% леводопы, из-за действия ГЭБ [205]. А образовавшийся дофамин, согласно данным литературы, как раз и вызывает нежелательные лекарственные реакции на периферии, такие как: тошнота, рвота, ортостатическая гипотензия [119]. Интраназальное введение леводопы, таким образом, позволяет как повысить БД препарата, так и снизить частоту побочных эффектов.

## 6.9. Выводы по главе 6

1. Методом «гидратация липидной пленки» было получено 5 видов наноразмерных частиц – липосом: традиционных и функционализированных ПЭГом разной М.м. – 1000, 2000, 3000 и 5000 Да. Методом ДРС установлено, что диаметр липосом варьирует от 81 до  $91 \pm 1$  нм, индекс полидисперсности не превышает 0,300, что свидетельствует о том, что система монодисперсна и в растворе присутствуют частицы преимущественно одного размера. Дзета-потенциал – отрицательный, что дает возможность дополнительно взаимодействовать с положительно заряженными группами на поверхности слизистой носа. Наличие ПЭГа не оказывает большого влияния на физико-химические свойства липосом. При хранении суспензии липосом в холодильнике с температурным режимом от 2 до 8°C дзета-потенциал (мВ) не изменяется, индекс полидисперсности уменьшается, а диаметр частиц (нм) увеличивается. Это может быть связано с тем, что липосомы агрегируют, тем самым образуются частицы большего диаметра.

2. В ходе оценки мукопроницающих свойств липосом было установлено, что на 5-й минуте лучшие показатели проницаемости продемонстрировали ПЭГилированные липосомы с М.м. 2000 и 3000 Да. На 15-й минуте проницаемость ПЭГилированных<sub>3000</sub> и ПЭГилированных<sub>5000</sub> липосом происходит лучше, чем других типов наночастиц. Через 30 минут можно отметить, что ПЭГилированные<sub>5000</sub> липосомы проникают глубже в изолированную слизистую носа овцы ввиду большой М.м. ПЭГа.

3. Больших различий ЭИ,% и ЗЕ,% разных типов липосом не наблюдается. ЭИ,% варьирует в пределах от 80,3 до 87,1%. Показатели ЭИ,% ПЭГилированных липосом выше, чем у традиционных. Наилучший показатель наблюдается у ПЭГилированных липосом с М.м. ПЭГа 5000 Да – 87,1%. ЗЕ,% составила от 9,2 до 10,6%, при этом наивысший показатель также отмечается у ПЭГилированных<sub>5000</sub> липосом.

4. Диффузия раствора леводопы в ИНЖ через диализную мембрану в течение 3-х ч. демонстрирует аналогичные результаты, что и ЛС в составе суспензии липосом ( $6,7 \pm 0,1\%$ ). Максимальный выход леводопы составил  $9,9 \pm 1,3\%$  из ПЭГилированных<sub>2000</sub> липосом. Высвобождение леводопы через изолированную слизистую носа овцы показало увеличение концентрации ЛС в среде ИНЖ до  $17,5 \pm 1,5\%$ . Наибольший выход ЛС наблюдался из ПЭГилированных<sub>5000</sub> липосом, что может быть связано с наибольшей М.м. ПЭГа в составе липосомы. Профиль высвобождения леводопы не соответствует моделям нулевого и первого порядка. Модель Корсмейера-Пеппаса может использоваться для описания и анализа высвобождения ЛС из наночастиц или в случае комбинации более чем одного типа механизма высвобождения. Высвобождение леводопы из липосом  $n \leq 0,45$ , что соответствует диффузии Фика.

5. Предложена технологическая схема получения и разработана спецификация носителя в виде традиционных и ПЭГилированных липосом. Доказана стабильность суспензии липосом в течение 3-х месяцев.

6. В ходе оценки противопаркинсонической активности *in vivo* в группе животных, получавших липосомы, не нагруженных ЛС, все 6 крыс оставались на перекладине в течение 180 секунд через 60 и 120 минут после интраназального введения, что согласуется с литературными данными и указывает на развитие каталепсии у животных. В группе крыс, получавших леводопу интраназально, ингибирование каталептогенного состояния наблюдалось через 60 минут, которое было наиболее выражено через 120 минут после введения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе диссертационного исследования было разработано 2 вида носителей для интраназальной доставки леводопы в мозг в терапии заболевания Паркинсона: МК, покрытые ВЕРО, обладающие улучшенными мукоадгезивными свойствами и способствующие увеличению времени пребывания частиц на поверхности слизистой, и ПЭГилированные липосомы, обладающие улучшенными мукопроникающими свойствами и способствующие ускоренному проникновению ЛС в слизистую.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. На основании анализа литературы было доказано, что разработка систем для интраназальной доставки ЛС в головной мозг в терапии нарушений ЦНС является интересным и перспективным направлением. На фармацевтическом рынке появляются ЛП в виде назальных спреев и капель для лечения неврологических расстройств. Существует много научно-исследовательских работ по разработке новых мукоадгезивных и мукоуспроникающих систем доставки ЛС с применением микро- и наноразмерных частиц с целью увеличения биодоступности интраназальных препаратов.

2. Разработана методика получения химически модифицированного терполимера – ВЕРО, обладающего улучшенными мукоадгезивными свойствами за счет наличия в структуре 4БФБК гидроксильных групп. Полученный ВЕРО был проанализирован методами ИК- и ЯМР-спектроскопии, мДСК и ТГА. Доказаны улучшенные мукоадгезивные свойства ВЕРО в сравнении с ЕРО по удерживаемости на изолированной слизистой носа овцы. Предложена технологическая схема получения ВЕРО и разработана спецификация носителя, который в последующем может быть использован для покрытия микро- и наноразмерных частиц с целью увеличения их мукоадгезивных свойств.

3. Методом УЗ-электрораспыления была разработана методика получения простых МК и МК, покрытых ЕРО, оптимального состава. Средний диаметр простых МК составил  $0,365 \pm 0,018$  мкм, МК, покрытых ЕРО –  $0,426 \pm 0,017$  мкм. МК, покрытые ЕРО, имеют показатели ЭИ,% и ЗЁ,% леводопой выше чем у простых МК, а также проявляют улучшенные мукоадгезивные свойства. МК, покрытые ЕРО, обеспечивают полный выход леводопы в среду ИНЖ через 30 минут.

4. Были получены МК, покрытые ВЕРО, методом УЗ-электрораспыления. Подобран их оптимальный состав. Диаметр частиц составил  $0,087 \pm 0,008$  мкм. Выход леводопы из МК, покрытых ВЕРО, в среду ИНЖ через 30 мин эксперимента составил  $100 \pm 23\%$ . покрытие противоположно-заряженным терполимером ЕРО

альгинатных МК приводит, с одной стороны к увеличению длительности удерживания на поверхности слизистой, а с другой – к немедленному высвобождению включенного ЛС, что и должно обеспечивать увеличение БД леводопы.

5. Методом «гидратация липидной пленки» было получено 5 видов наноразмерных частиц – липосом: традиционных и функционализированных ПЭГом разной ММ – 1000, 2000, 3000 и 5000 Да. Изучены их физико-химические свойства методом ДРС (диаметр, индекс полидисперсности и дзета-потенциал), ЭИ,%, ЗЁ,% леводопой и мукуспроникающие свойства. Модель Корсмейера-Пеппаса может использоваться для описания и анализа высвобождения ЛС из полученных липосом. Высвобождение леводопы из липосом происходит в соответствии с законом диффузии Фика ( $n \leq 0,45$ ). На основании проведенных исследований отобран образец с наилучшими показателями – ПЭГилированные липосомы с ММ ПЭГа 5000, и проведена оценка противопаркинсонической активности *in vivo* липосом, загруженных леводопой.

6. Были предложены технологические схемы получения полупродуктов – МК, покрытых ВЕРО, обладающих улучшенными мукоадгезивными свойствами, и ПЭГилированных липосом, обладающих улучшенными мукуспроникающими свойствами, рассмотрены возможные критические точки производства и разработаны спецификации носителей. Доказаны стабильность МК, покрытых ВЕРО, в течение 6-х месяцев, а стабильность ПЭГилированных липосом в течение 3-х месяцев.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные результаты по разработке носителей – модифицированной формы терполимера ВЕРО и МК, покрытых ЕРО и ВЕРО, обладающих мукоадгезивными свойствами, и ПЭГилированных липосом, обладающих мукопроницающими свойствами, свидетельствуют о перспективности их использования в системах доставки леводопы из носа в мозг. Разработан проект нормативного документа по качеству на «Полимерный носитель биологически активных соединений на основе модифицированной формы катионного терполимера на основе производных метакриловой кислоты (диметиламиноэтилметакрилат, метилметакрилат и бутилметакрилат) с применением 4-бромфенилбороновой кислоты» для ООО «ИнтерЛЕК».

**ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Полученные в ходе диссертационного исследования результаты перспективны для разработки микро- и наноразмерных носителей ЛС для систем интраназальной доставки ЛС в головной мозг в терапии нарушений ЦНС.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

4БФБК – 4-бромфенилбороновая кислота

БД – биодоступность

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГФ – государственная фармакопея

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ДРС – динамическое рассеивание света

ЕЭК – Евразийской экономической комиссии

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ЗЁ – загрузочная ёмкость

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия

ИНЖ – искусственная назальная жидкость

ИПЭК – интерполиэлектrolитный комплекс

ЛП – лекарственный препарат

ЛС – лекарственное средство

мДСК – модулированная дифференциальная сканирующая калориметрия

МК – микрокапсула

ММ – молекулярная масса

МПЭГ<sub>1000</sub>-ДФФЭ – 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N[карбоксии(полиэтиленгликоль)-1000] (натриевая соль)

МПЭГ<sub>2000</sub>-ДФФЭ – 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N[карбоксии(полиэтиленгликоль)-2000] (натриевая соль)

МПЭГ<sub>3000</sub>-ДФФЭ – 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N[метокси(полиэтиленгликоль)-3000] (аммониевая соль)

МПЭГ<sub>5000</sub>-ДФФЭ – 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N[метокси(полиэтиленгликоль)-5000] (аммониевая соль)

НЛР – нежелательные лекарственные реакции

ОФС – общая фармакопейная статья

ПЭГ – полиэтиленгликоль

ТГА – термогравиметрический анализ

ТГФ – тетрагидрофуран

ТЭА – триэтиламин

УЗ – ультразвук

УФ-спектрофотометрия – ультрафиолетовая спектрофотометрия

ФБ – фосфатный буфер

ФБК – фенилбороновая кислота

ФЕАЭС – Фармакопея Евразийского экономического союза

ФХ – L-альфа-фосфатидилхолин

ХС – Холестерин

ЦНС – центральная нервная система

ЭИ – эффективность инкапсуляции

ЯМР-спектроскопия - спектроскопия ядерного магнитного резонанса

ЕРО – Eudragit<sup>®</sup> ЕРО

ВЕРО – модифицированный Eudragit<sup>®</sup> ЕРО

ФЕРО – флуоресцентно меченный Eudragit<sup>®</sup> ЕРО

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Анализ ассортимента интраназальных лекарственных форм и прогнозы его расширения / Ю.В. Гладкая, С.О. Лосенкова, А.В. Евсеев, А.В. Михеева // Вестник СГМА. – 2018. – № 4. – С. 157 – 164.
2. Биофармацевтические аспекты дизайна интраназальных лекарственных форм / Н. Б. Демина, Е. О. Бахрушина, А. И. Бардаков, И. И. Краснюк // Фармация. – 2019. – Т. 68. – № 3. – С. 12-17.
3. Блынская, Е. В. Перспективы развития фармацевтической нанотехнологии / Е. В. Блынская, К. В. Алексеев, Р. Н. Аляутдин // Российский химический журнал. – 2010. – Т. 54. – № 6. – С. 38-44.
4. Блынская, Е. В. Разработка и биофармацевтическое исследование лекарственных форм гатифлоксацина на основе полимерных наночастиц: специальность 14.04.01 «Технология получения лекарств (фармацевтические науки)», 14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки)»: автореферат диссертации на соискание ученой степени фармацевтических наук / Блынская Евгения Викторовна; ФГАОУ ВО ПМГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ. – Москва, 2010. – 24 с.
5. Валидация методики количественного определения моксифлоксацина для теста «растворение» методом УФ-спектрофотометрии / Л. А. Меньшикова, А. А. Львова, И. Е. Шохин [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – № 2. – С. 94-97.
6. Власенко, Ю.В. Разработка назального спрея селективного агониста 5-HT<sub>1</sub>-рецепторов серотонина: специальность 3.4.1: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Власенко Юлия Васильевна; РХТУ им. Д.И. Менделеева. – Москва, 2024. – 208 с.
7. Гордеева, Д.С. Исследование функционализированных липосом для доставки психотропных лекарственных веществ из носа в мозг / Д.С. Гордеева, Р.И. Мустафин, В.В. Хуторянский // X международный молодёжный научный

медицинский форум «белые цветы», посвященный 150-летию С.С. Зимницкого: Сборник тезисов, Казань, 12–14 апреля 2023 года. – Казань: Казанский государственный медицинский университет, 2023. – С. 1160-1161.

8. Гордеева, Д.С., Липосомы как способ доставки лекарств из носа в мозг // Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье: Материалы XXV Международной медико-биологической конференции молодых исследователей, Санкт-Петербург, 16 апреля 2022 года. Том XXV. – Санкт-Петербург: Общество с ограниченной ответственностью Издательский дом «Сциентиа», 2022. – С.468 – 469.

9. Гордеева, Д.С. ПЭГирированные липосомы для интраназальной доставки леводопы в медикаментозной терапии болезни Паркинсона / Д.С. Гордеева, Р.И. Мустафин, В.В. Хуторянский // Сборник проектов конкурса «"Всероссийская научная школа «Медицина молодая»: III научно-образовательный форум, Москва, 07 декабря 2023 года. – Москва: МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОНД РАЗВИТИЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ ИМ. В.П. ФИЛАТОВА, 2023. – С.165-167.

10. Гордеева, Д.С. Разработка и исследование микро- и наночастиц для доставки лекарств из носа в мозг / Д.С. Гордеева, Р.И. Мустафин, В.В. Хуторянский // Молодая фармация - потенциал будущего: Сборник материалов XII всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием, Санкт-Петербург, 14 – 18 марта 2022 года. – Санкт-Петербург: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2022. – С.684 – 688.

11. Гордеева, Д.С. Разработка и исследование мукоадгезивных микрокапсул для интраназальной доставки леводопы / Д.С. Гордеева, В.В. Хуторянский, Р.И. Мустафин // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2024. – Т. 13. – № 4. – С. 129-138.

12. Гордеева, Д.С. Разработка и исследование новой системы доставки психотропных лекарственных средств из носа в мозг / Д.С. Гордеева, Р.И. Мустафин, В.В. Хуторянский // XI международный молодёжный научный

медицинский форум «белые цветы», посвященный 150-летию Н. А. Семашко: Сборник тезисов, Казань, 11–13 апреля 2024 года. – Казань: Казанский государственный медицинский университет, 2024. – С. 1576-1577.

13. Гордеева, Д.С. Разработка и исследование функционализированных липосом для интраназальной доставки психотропных лекарственных веществ в мозг / Д.С. Гордеева, Р.И. Мустафин // Сборник проектов конкурса «Всероссийская научная школа «МЕДИЦИНА МОЛОДАЯ»: Международный фонд развития биомедицинских технологий им. В.П. Филатова, Москва, 07 декабря 2022 года. – Москва: МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОНД РАЗВИТИЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ ИМ. В.П. ФИЛАТОВА, 2023. – С. 199-204.

14. Гордеева, Д.С. Разработка носителей на основе микрокапсул для систем модифицированной доставки лекарственных веществ / Д.С. Гордеева, Р.И. Мустафин, В.В. Хуторянский // VIII международный молодежный научный медицинский форум «белые цветы», посвященный 120-летию студенческого научного общества имени Ирины Андреевны Студенцовой : Сборник статей по итогам конференции, Казань, 14 апреля – 16 апреля 2021 года. – Казань: Казанский государственный медицинский университет, 2021. – С. 1108.

15. Гордеева, Д.С. Разработка ПЭГирированных липосом для доставки лекарств из носа в мозг, МОЛОДАЯ ФАРМАЦИЯ - ПОТЕНЦИАЛ БУДУЩЕГО. Итоги конкурсной программы научных работ XIII Всероссийской научной конференции школьников, студентов и аспирантов с международным участием / Д.С. Гордеева, Р.И. Мустафин, В.В. Хуторянский // Молодая фармация - потенциал будущего: Итоги конкурсной программы научных работ XIII Всероссийской научной конференции школьников, студентов и аспирантов с международным участием. Сборник материалов конференции, Санкт-Петербург, 01 марта – 11 марта 2023 года. – Санкт-Петербург: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2023. – С. 1028-1033.

16. Гордеева, Д.С., Разработка функционализированных липосом для интраназальной доставки лекарственных веществ в мозг / Д.С. Гордеева, Р.И. Мустафин, В.В. Хуторянский // Белые цветы : Сборник тезисов 96-й Международной студенческой научно-практической конференции, 28-й Международной научно-практической конференции молодых ученых, 25-й Международной медико- исторической конференции студентов, Казань, 14–15 апреля 2022 года. – Казань: Казанский государственный медицинский университет, 2022. – С. 904 – 905.
17. Гордеева, Д.С., Синтез и исследование боронированного Eudragit® EPO для мукоадгезивных систем доставки лекарственных веществ // Сборник тезисов докладов конгресса молодых ученых. Электронное издание. – СПб: Университет ИТМО, [2022]. URL: <https://kmu.itmo.ru/digests/article/9339>.
18. ГОСТ Р 56701-2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств. Национальный стандарт Российской Федерации: издание официальное: утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 11 ноября 2015 г. N 1762-ст. Введен впервые 2016-07-01. – Москва: Стандартинформ, 2016. – Текст: электронный. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200126923> (дата обращения: 03.04.2022 г.).
19. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023.
20. Гусев, Е. И. Семакс в профилактике прогрессирования и развития обострений у больных с дисциркуляторной энцефалопатией / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, Е. И. Чуканова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2005. – № 6. – С. 34-39.
21. Гуревич, К. Г., Разработка систем интраназальной доставки лекарственных средств / К. Г. Гуревич // Качественная клиническая практика. – 2002. – № 1. – С. 2-5.

22. Интраназальное введение как способ доставки лекарств в головной мозг (обзор) / Н. Н. Порфирьева, И. И. Семина, Р. И. Мустафин, В. В. Хуторянский // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10. – № 4. – С. 117–127.
23. Интраназальное введение лекарственных средств лабораторным животным / А. Е. Кательникова, К. Л. Крышень, А. А. Зуева, М. Н. Макарова // Лабораторные животные для научных исследований. – 2019. – № 2. – С. 1-9.
24. Интраназальные системы доставки *in situ*: перспективы применения и основные фармацевтические аспекты разработки (обзор) / Е.О. Бахрушина, Н. Б. Демина, М. М. Шумкова [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10. – № 4 – С. 54-63.
25. Кролевец, А.А. Применение нано- и микрокапсулирования в фармацевтике и пищевой промышленности. Часть 1. Основы микрокапсулирования / А. А. Кролевец, Ю. А. Тырсин, Е. Е. Быковская // Вестник Российской академии естественных наук. – 2012. – № 4. – С. 123-127.
26. Кролевец, А. А. Применение нано- и микрокапсулирования в фармацевтике и пищевой промышленности. Ч. 2. Характеристика инкапсулирования / А. А. Кролевец, Ю. А. Тырсин, Е. Е. Быковская // Вестник Российской академии естественных наук. – 2013. – №1. – С. 77–84.
27. Липосомы как носители лекарственных средств: классификация, методы получения и применение. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения / Н.И. Бурдаев, Л.Л., Николаева, В.В. Косенко [и др.] // Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2023. – Т. 13. – № 2-1. – С. 316–332.
28. Микрокапсулы: перспективы использования в современной фармацевтической практике / Э. Ф. Степанова, М. Е. Ким, К. Б. Мурзагулова, С. Б. Евсеева // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 3–4. – С. 766–769.
29. Наноразмерные системы доставки лекарственных веществ / К. В. Алексеев, Р. Н. Аляутдин, Е. В. Блынская, Б. Т. Квинх // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. 16. – № 2. – С. 17-20.

30. Никитин, И.Г. ПЭГирированные препараты: современное состояние проблемы и перспективы / И.Г. Никитин, И.Е. Байкова, Л.М. Гогова // Лечебное дело. – 2005. – Т. 4. – С. 18–24.
31. Новикова, А.А. Методы получения липосом, используемых в качестве носителей лекарственных средств (обзор) / А.А. Новикова, П. Кезимана, Я.М. Станишевский // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2017. – № 2. – С. 134-138.
32. Основные направления в технологии получения наноносителей лекарственных веществ / К. В. Алексеев, Р. Н. Аляутдин, Е. В. Блынская, Б. Т. Квинх // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. 16. – № 2. – С. 142-145.
33. Павлов, А.Н. Разработка состава и технологии получения назальных капель с пролонгированным высвобождением для лечения болезни Паркинсона: специальность 3.4.1: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Павлов Алексей Никитич; ФГАОУ ВО ПМГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ. – Москва, 2023. – 233 с.
34. Патент № RU 2 817 985 C1 Российская Федерация, МПК А61К 47/30 (2006.01); C08G 81/00 (2006.01); Способ получения носителя биологически активных соединений: № 2817985: заявл. 11.08.2023: опубл. 23.04.2024. / Мустафин Р. И., Гордеева Д. С., Хуторянский В. В., Сёмина И. И., Карпов А. Г. // Patents. Google: официальный сайт. – URL: <https://patents.google.com/patent/RU2817985C1>.
35. Полковникова, Ю. А. Современные исследования в области микрокапсулирования (обзор) / Ю. А. Полковникова, Н. А. Ковалёва // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10. – № 2. – С. 50-61.
36. Получение микрокапсул на основе яблочного пектина и β-лактоглобулина, содержащих рифампицин / З. К. Мухидинов, Г. Ф. Касымова, С. Р. Усманова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал – 2012. – Т. 46. – № 5. – С. 46–49.
37. Порфирьева, Н.Н. Изучение высвобождения галоперидола из поликомплексных наночастиц на основе сополимеров Eudragit® / Н.Н. Порфирьева, В. В. Хуторянский, Р. И. Мустафин // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2020. – 9. – № 3. – С. – 24–32.

38. Постраш, Я.В. Микрокапсулирование в фармации – современное состояние и перспективы / Я.В. Постраш, О.М. Хишова // Вестник фармации. – 2010. – №2 (48). – С. 1–7.
39. Привалова, А.М. Интраназальное введение перспективный способ доставки лекарственных веществ в мозг / А.М. Привалова, Н.В. Гуляева, Т.В. Букреева // Нейрохимия. – 2012. – № 2. – С. 93-105.
40. Руководство по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов, утверждены Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 г. № 202. [Электронный ресурс]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/563887387> (дата обращения 31.01.2024).
41. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздравсоцразвития России; под ред. Миронова А.Н. - Том Часть 1. – Москва: Гриф и К, 2012. – 944 с. – ISBN 978-5-8125-1466-3.
42. Совет Евразийской экономической комиссии. Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств: решение от 17 июля 2018 г. № 113. – Текст электронный. – URL: <https://www.alt.ru/tamdoc/18kr0113/> (дата обращения: 29.01.2025).
43. Совет Евразийской экономической комиссии. Об утверждении Требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций: решение от 10 мая 2018 г. № 69. – Текст: электронный // Консультант: справочно-правовая система: сайт. – URL: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_298184](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_298184) // (дата обращения: 22.01.2024). – Режим доступа: свободный
44. Фармакопея ЕАЭС. О фармакопее Евразийского экономического союза: решение ЕЭК № 100 от 11 августа 2020 г. – Текст электронный. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/565516251> (дата обращения: 22.01.2024).
45. Фахриев, Р. А. Оценка рисков в отношении показателей качества на этапе фармацевтической разработки офтальмологического геля / Р. А. Фахриев, А. Н.

Анисимов, С. Н. Егорова / Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2022. – № 2. – С. 43-49.

46. Acrylated Eudragit® E PO as a novel polymeric excipient with enhanced mucoadhesive properties for application in nasal drug delivery / N. N. Porfiryeva, S. F. Nasibullin, S. G. Abdullina [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 2019. – Vol. 562. – P. 241–248.

47. Ahuja, A. Mucoadhesive drug delivery systems / A. Ahuja, R.K. Khar, J. Ali // Drug Development and Industrial Pharmacy. – 1997. – Vol. 23. – P. 489–515.

48. Alginate microparticles as oral colon drug delivery device: A review / L. Agüero, D. Zaldivar-Silva, L. Peña, M. L. Dias // Carbohydrate Polymers. – 2017. – Vol. 168. – P. 32–43.

49. Amphiphilic glycopolymer nanoparticles as vehicles for nasal delivery of peptides and proteins / C. Zheng, Q. Guo, Z. Wu [et al.] // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2013. – Vol. 49. – № 4. – P. 474–482.

50. A nonoxidative sensor based on a self-doped polyaniline/carbon nanotube composite for sensitive and selective detection of the neurotransmitter dopamine / S.R. Ali, Y. Ma, R.R. Parajuli [et al.] // Analytical Chemistry. – 2007. – Vol. 79. – № 6. – P. 2583–2587.

51. A novel nasal almotriptan loaded solid lipid nanoparticles in mucoadhesive in situ gel formulation for brain targeting: preparation, characterization and in vivo evaluation / N. A. H. A. Youssef, A.A. Kassem, R.M. Farid [et al.] // International Journal of Pharmaceutics – 2018. – Vol. 548. – P. 609–624.

52. A poly(ethylene glycol)-based surfactant for formulation of drug-loaded mucus penetrating particles / O. Mert, S.K. Lai, L. Ensign [et al.] // Journal of Controlled Release. – 2012. – Vol. 157. – № 3. – P. 455–460.

53. Assessment of chitosan derivatives as buccal and vaginal penetration enhancers / G. Sandri, S. Rossi, F. Ferrari [et al.] // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2004. – Vol. 21. – № 2-3. – P. 351–359.

54. A study of rivastigmine liposomes for delivery into the brain through intranasal route / K. Arumugam, G.S. Subramanian, S.R. Mallayasamy [et al.] // *Acta Pharmaceutica*. – 2008. – Vol. 58. – P. 287–297.
55. Banks, W.A. Characteristics of compounds that cross the blood-brain barrier / W. A. Banks // *BMC Neurology*. – 2009. – Vol. 9. – P. S3.
56. Bennet, D. Application of Nanotechnology in Drug Delivery: Polymer Nanoparticles for Smart Drug Delivery / D. Bennet, S. Kim. – London: IntechOpen, 2014. – 257 p.
57. Bernkop-Schnürch, A. Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers / A. Bernkop-Schnürch // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2005. – Vol. 57. – P. 1569–1582.
58. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices / K.S. Soppimath, T.M. Aminabhavi, A.R. Kulkarni, W.E. Rudzinski // *Journal of Controlled Release*. – 2001. – Vol. 70. – P. 1–20.
59. Brannigan, R.P. Progress and Current Trends in the Synthesis of Novel Polymers with Enhanced Mucoadhesive Properties / R. P. Brannigan, V. V. Khutoryanskiy // *Macromolecular Bioscience*. – 2019. – Vol. 19. – № 10. – P. 1900194.
60. Bufalin-Loaded PEGylated Liposomes: Antitumor Efficacy, Acute Toxicity, and Tissue Distribution / J. Yuan, C. Zeng, W. Cao [et al.] // *Nanoscale Research Letters*. – 2019. – Vol. 14. – № 1. – P. 223.
61. Cardenas-Bailon, F. Microencapsulation of insulin using aW/O/W double emulsion followed by complex coacervation to provide protection in the gastrointestinal tract / F. Cardenas-Bailon, G. Osorio-Revilla, T. Gallardo-Velazquez // *Journal of Microencapsulation*. – 2015. – Vol. 32. – P. 308–316.
62. Cellulose acetate butyrate microcapsules containing dextran ion-exchange resins as self-propelled drug release system / G. Fundueanu, M. Constantin, E. Esposito [et al.] // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26. – P. 4337–4347.
63. Chatterjee, S. Review of Stimuli-Responsive Polymers in Drug Delivery and Textile Application / S. Chatterjee, P. Chi-Leung Hui // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24. – P. 2547.

64. Characterization of chitosan hydrochloride--mucin rheological interaction: influence of polymer concentration and polymer:mucin weight ratio / S. Rossi, F. Ferrari, M.C. Bonferoni, C. Caramella // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2001. – Vol. 12. – № 4. – P. 479–485.
65. Chitosan: An option for development of essential oil delivery systems for oral cavity care? / A.S. Pedro, E. Cabral-Albuquerque, D. Ferreira, B. Sarmento // *Carbohydrate Polymers*. – 2009. – Vol. 76. – № 4. – P. 501–508.
66. Chitosan-coated nanoparticles: effect of chitosan molecular weight on nasal transmucosal delivery / F.A. Bruinsmann, S. Pigana, T. Aguirre [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2019. – Vol. 11. – № 2. – P. 86.
67. Chitosan-coated PLGA nanoparticles for the nasal delivery of ropinirole hydrochloride: In vitro and ex vivo evaluation of efficacy and safety / A.T. Chatzitaki, S. Jesus, C. Karavasili [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2020. – Vol. 589. – P. 119776.
68. Chonkar, A. Smart Polymers in Nasal Drug Delivery / A. Chonkar, U. Nayak, N. Udupa // *Indian journal of pharmaceutical sciences*. – 2015. – Vol. 77. – P. 367–375.
69. Chowdary, K. P. R. Design and in vitro and in vivo evaluation of mucoadhesive microcapsules of glipizide for oral controlled release: A technical note / K. P. R. Chowdary, Y. S. Rao // *AAPS PharmSciTech*. – 2004. – Vol. 4. – P. 87–92.
70. Conjugation of haloperidol to PEG allows peripheral localisation of haloperidol and eliminates CNS extrapyramidal effects / A. A. Natfji, D. O. Nikitin, I. I. Semina [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2020. – Vol. 322. – P. 227–235.
71. Contin, M. Pharmacokinetics of levodopa / M. Contin, P. Martinelli // *Journal of Neurology*. – 2010. – Vol. 257. – P. S253–S261.
72. Core-Shell Chitosan Microcapsules for Programmed Sequential Drug Release / X.L. Yang, X.J. Ju, X.T. Mu [et al.] // *ACS Applied Mater Interfaces*. – 2016. – Vol. 8. – № 16. – P. 10524–10534.
73. Core-shell microparticles: Generation approaches and applications / F.M. Galogahi, Y. Zhu, H. An, N. Nguyen // *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*. – 2020. – Vol. 5. – № 4. – P. 417–435.

74. Current nanoparticle approaches in nose to brain drug delivery and anticancer therapy - a review / M.A. Ansari, I.M. Chung, G. Rajakumar [et al.] // *Current Pharmaceutical Design*. – 2020. – Vol. 26. – № 12. – P. 1128–1137.
75. Daneman, R. The blood-brain barrier / R. Daneman, A. Prat // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. – 2015. – Vol. 7. – № 1. – P. a020412.
76. Davidovich-Pinhas, M. *Mucoadhesive Materials and Drug Delivery Systems* / M. Davidovich-Pinhas, H. Bianco-Peled. – Chichester: John Wiley & Sons, 2014. – 309 p. ISBN 978-1-119-94143-9.
77. Davis, M. E. Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer / M. E. Davis, Z. G. Chen, D. M. Shin // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2008. – Vol. 7. – P. 771–782.
78. Degussa / *Pharma Polymers, Eudragit® Application Guidelines* – 2013.
79. Design and development of nasal mucoadhesive microspheres containing tramadol HCl for CNS targeting / V.S. Belgamwar, H.S. Patel, A.S. Joshi [et al.] // *Drug Delivery*. – 2011. – Vol. 18. – P. 353–360.
80. Development and in vivo evaluation of papain-functionalized nanoparticles / C. Müller, G. Perera, V. König, A. Bernkop-Schnürch // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2014. – Vol. 87. – № 1. – P. 125–131.
81. Development of highly water-dispersible complexes between coenzyme Q10 and protein hydrolysates / A. Inada, T. Oue, S. Yamashita [et al.] // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2019. – Vol. 136. – P. 104936.
82. Development of novel self-assembled poly(3-acrylamidophenylboronic acid)/poly(2-lactobionamidoethyl methacrylate) hybrid nanoparticles for improving nasal adsorption of insulin / C. Cheng, X. Zhang, J. Xiang [et al.] // *Soft Matter*. – 2012. – Vol. 8. – № 3. – P. 765–773.
83. Diffusion of macromolecules and virus-like particles in human cervical mucus / S. S. Olmsted, J. L. Padgett, A. I. Yudin [et al.] // *Biophysical Journal*. – 2001. – Vol. 81. – № 4. – P. 1930–1937.

84. Drug carrier nanoparticles that penetrate human chronic rhinosinusitis mucus / S. K. Lai, J. S. Suk, A. Pace [et al.] // *Biomaterials*. – 2011. – Vol. 32. – № 26. – P. 6285–6290.
85. Drug release modification by interpolymer interaction between countercharged types of Eudragit® RL 30D and Eudragit® FS 30D in double-layer films / R. I. Moustafine, A. V. Bodrov, V. A. Kemenova [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2012. – Vol. 439. – P. 17–21.
86. Effect of surface chemistry on nanoparticle interaction with gastrointestinal mucus and distribution in the gastrointestinal tract following oral and rectal administration in the mouse / K. Maisel, L. Ensign, M. Reddy [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2015. – Vol. 197. – P. 48–57.
87. Engineering hydrogels as extracellular matrix mimics / H. Geckil, F. Xu, X. Zhang [et al.] // *Nanomedicine (Lond)*. – 2010. – Vol. 5. – № 3. – P. 469–484.
88. Eudragit® EPO, модифицированный группами 4-фенилбороновой кислоты, как новый полимерный носитель с улучшенными мукоадгезивными свойствами / Д.С. Гордеева, Ш.Ф. Насибуллин, А.Г. Карпов [и др.] // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. – 2024. – Т. 13. – № 3. – С. 93–102.
89. Eudragit® E PO as a complementary material for designing oral drug delivery systems with controlled release properties: comparative evaluation of new interpolyelectrolyte complexes with countercharged Eudragit® L100 copolymers / R. I. Moustafine, A. V. Bukhovets, A. Y. Sitenkov [et al.] // *Molecular Pharmaceutics*. – 2013. – Vol. 10. – №7. – P. 2630–2641.
90. Evaluation of brain-targeted chitosan nanoparticles through blood–brain barrier cerebral microvessel endothelial cells / A. Sahin, D. Yoyen-Ermis, S. Caban-Toktas [et al.] // *Journal of Microencapsulation*. – 2017. – Vol. 34. – № 7. – P. 659–666.
91. Evaluation of intranasal delivery route of drug administration for brain targeting / F. Erdő, L. A. Bors, D. Farkas [et al.] // *Brain Research Bulletin*. – 2018. – Vol. 143. – P. 155–170.
92. Foox, M. Drug delivery from gelatin-based systems / M. Foox, M. Zilberman // *Expert Opinion on Drug Delivery*. – 2015. – Vol. 12. – P. 1547–1563.

93. Formulation and optimization of intranasal nanolipid carriers of pioglitazone for the repurposing in Alzheimer's disease using Box-Behnken design / G. M. Jojo, G. Kuppusamy, A. De, V. V. S. N. R. Karri // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2019. – Vol. 45. – P. 1061–1072.
94. Formulation of polymeric nanoparticles of antidepressant drug for intranasal delivery / P. Jani, J. Vanza, N. Pandya, H. Tandel // *Therapeutic Delivery*. – 2019. – Vol. 10. – № 11. – P. 683–696.
95. Functionalized liposomes for intranasal levodopa delivery to the brain / D. S. Gordeeva, A. S. Tameloucht, I. I. Semina, R. I. Moustafine // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2025. – V. 51. – № 7. P. 758-770.
96. Gänger, S. Tailoring Formulations for Intranasal Nose-to-Brain Delivery: A Review on Architecture, Physico-Chemical Characteristics and Mucociliary Clearance of the Nasal Olfactory Mucosa / S. Gänger, K. Schindowski // *Pharmaceutics*. – 2018. – Vol. – 10. № 3. – P. 116.
97. Goh, C.H. Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications / C.H. Goh, P.W.S. Heng, L.W. Chan // *Carbohydrate Polymers*. – 2012. – Vol. 88. – P. 1–12.
98. Gu, J. M. Binding of acrylic polymers to mucin/epithelial surfaces: structure-property relationships / J. M. Gu, J. R. Robinson, S. H. Leung // *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*. – 1988. – Vol. 5. – № 1. – P. 21–67.
99. Hard and soft micro- and nanofabrication: An integrated approach to hydrogel-based biosensing and drug delivery / R. A. Siegel, Y. Gu, M. Lei [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2010. – Vol. 141. – № 3. – P. 303–313.
100. Hashmi, M.P. Applications of Synthetically Produced Materials in Clinical Medicine / M.P. Hashmi, T.M. Koester. – Amsterdam: Elsevier Inc., 2018. – 4 p.
101. Hickson, J.F. Medicine in ancient Egypt and its relevance today / J. F. Hickson // *Journal of Royal College of General Practitioners*. – 1971. – Vol. 21. – P. 511–516.
102. Highlights in poloxamer-based drug delivery systems as strategy at local application for vaginal infections / G.C. Carvalho, V.H.S. Araujo, B. Fonseca-Santos [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2021. – Vol. 602. – P. 120635.

103. Immordino, M.L. Stealth liposomes: review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential / M.L. Immordino, F. Dosio, L. Cattel // *International Journal of Nanomedicine*. – 2006. – Vol. 1. № 3. – P. 297–315.
104. Insights into direct nose to brain delivery: current status and future perspective / D. Mittal, A. Ali, S. Md [et al.] // *Drug Delivery*. – 2014. – Vol. 21. – № 2. P. 75–86.
105. Intranasal delivery of nanostructured lipid carriers, solid lipid nanoparticles and nanoemulsions: A current overview of in vivo studies / C. P. Costa, J. N. Moreira, J. M. Sousa Lobo, A.C. Silva // *Acta Pharmaceutica Sinica B*. – 2021. – Vol. 11. – № 4. – P. 925–940.
106. In Pentasomes: an innovative nose-to-brain pentamidine delivery blunts MPTP parkinsonism in mice / F. Rinaldi, L. Seguela, S. Gigli [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2019. – Vol. 294. – P. 17–26.
107. In Vitro and ex Vivo Intestinal Tissue Models to Measure Mucoadhesion of Poly (Methacrylate) and N-Trimethylated Chitosan Polymers / S. Keely, A. Rullay, C. Wilson [et al.] // *Pharmaceutical Research*. – 2005. – Vol. 22. – P. 38–39.
108. In vivo and in vitro characterization of novel microparticulates based on hyaluronan and chitosan hydroglutamate / S. Lim, B. Forbes, G. Martin, M. Brown // *AAPS PharmSciTech*. – 2015. – Vol. 2. – P. 20.
109. Ju, Z. Y. Gelation of pH-Aggregated Whey Protein Isolate Solution Induced by Heat, Protease, Calcium Salt, and Acidulant / Z. Y. Ju, A. Kilara // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 1998. – Vol. 8561. – P. 1830–1835.
110. Junghanns, J. U. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications / J. U. Junghanns, R. H. Müller // *International Journal of Nanomedicine*. – 2008. – Vol. 3. – P. 295.
111. Kanazawa, T. Nose-to-brain drug delivery system with ligand/ cell-penetrating peptide-modified polymeric nano-micelles for intracerebral gliomas / T. Kanazawa, H. Taki, H. Okada // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutic*. – 2020. – Vol. 152. – P. 85–94.

112. Khutoryanskiy, V. V. *Mucoadhesive Materials and Drug Delivery Systems* / V. V. Khutoryanskiy. – Chichester: John Wiley & Sons, 2014. – 352 p. ISBN 978-1-119-94143-9
113. Koga, C. C. Consumer Acceptance of Bars and Gummies with Unencapsulated and Encapsulated Resveratrol / C. C. Koga, S. Lee, Y. Lee, // *Journal of Food Science*. – 2016. – Vol. 81. – P. 1222–1229.
114. Kolawole, O. M. Synthesis and Evaluation of Boronated Chitosan as a Mucoadhesive Polymer for Intravesical Drug Delivery / O.M. Kolawole, W. M. Lau, V. V. Khutoryanskiy // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2019. – Vol. 108. – № 9. – P. 3046–3053.
115. Krauland, A. H. Thiolated chitosan microparticles: A vehicle for nasal peptide drug delivery / A. H. Krauland, D. Guggi, A. Bernkop-Schnürch // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2006. – Vol. 307. – № 2. – P. 270–277.
116. Lai, S.K. Mucus-penetrating nanoparticles for drug and gene delivery to mucosal tissues / S.K. Lai, Y.Y. Wang, J. Hanes // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2009. – Vol. 61. – № 2. – P. 158–171.
117. Lee, J.W. Bioadhesive-based dosage forms: The next generation / J.W. Lee, J.H. Park, J. R. Robinson // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2000. – Vol. 89. – № 7. – P. 850–866.
118. Leitner, V. M. Thiomers in noninvasive polypeptide delivery: In vitro and in vivo characterization of a polycarbophil-cysteine/glutathione gel formulation for human growth hormone / V. M. Leitner, D. Guggi, A. Bernkop-Schnürch // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2004. – Vol. 93. – № 7. – P. 1682–1691.
119. Levodopa treatment patterns in Parkinson's disease: A retrospective chart review / P. Navaratnam, S. Arcona, H. S. Friedman [et al.] // *Clinical Parkinsonism & Related Disorders*. – 2022. – Vol. 6. – P. 100135.
120. Lin, H. R. Carbopol/pluronic phase change solutions for ophthalmic drug delivery / H. R. Lin, K. C. Sung // *Journal of Controlled Release*. – 2000. – Vol. 69. – № 3. – P. 379–88.

121. Lin, S. Y. Formation of six-membered cyclic anhydrides by thermally induced intramolecular ester condensation in Eudragit E film / S. Y. Lin, H. L. Yu, M. J. Li // *Polymer*. – 1999. – Vol. 40. – № 12. – P. 3589–3593.
122. Lipid-based nanoparticles as pharmaceutical drug carriers: from concepts to clinic / A. Puri, K. Loomis, B. Smith [et al.] // *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*. – 2009. – Vol. 26. – P. 523–580.
123. Lipid Nanoparticles for Nasal/Intranasal Drug Delivery / S. Cunha, M.H. Amaral, J.M.S. Lobo, A.C. Silva // *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*. – 2017. – Vol. 34. – № 3. – P. 257–282.
124. Liu, S. Development of mucoadhesive drug delivery system using phenylboronic acid functionalized poly(D,L-lactide)-b-dextran nanoparticles / S. Liu, L. Jones, F. X. Gu // *Macromolecular Bioscience*. – 2012. – Vol. 12. – № 12. – P. 1622–1626.
125. Lochhead, J. J. Intranasal delivery of biologics to the central nervous system / J. J. Lochhead, R. G. Thorne // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2012. – Vol. 64. – № 7. – P. 614–628.
126. Ludwig, A. The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery / A. Ludwig // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2005. – Vol. 57. – № 11. – P. 1595–1639.
127. Lung gene therapy with highly compacted DNA nanoparticles that overcome the mucus barrier / J.S. Suk, A.J. Kim, K. Trehan [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2014. – Vol. 178. – P. 8–17.
128. Mahdi, M. H. Development of mucoadhesive sprayable gellan gum fluid gels / M. H. Mahdi, B. R. Conway, A. M. Smith // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2015. – Vol. 488. – P. 12–19.
129. Making nanofibres of mucoadhesive polymer blends for vaginal therapies / F. Brako, B. Raimi-Abraham, S. Mahalingam [et al.] // *European Polymer Journal*. – 2015. – Vol. 70. – P. 186–196.
130. Maleimide-bearing nanogels as novel mucoadhesive materials for drug delivery / P. Tonglairoum, R.P. Brannigan, P. Opanasopit, V.V. Khutoryanskiy // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2016. – Vol. 4. – № 40. P. 6581–6587.

131. Maleimide-Decorated PEGylated Mucoadhesive Liposomes for Ocular Drug Delivery / R. V. Moiseev, D. B. Kaldybekov, S. K. Filippov [et al.] // *Langmuir* – 2022. – Vol. 38. – P. 13870–13879.
132. Maleimide-functionalised PLGA-PEG nanoparticles as mucoadhesive carriers for intravesical drug delivery / D. B. Kaldybekov, S. K. Filippov, A. Radulescu, V. V. Khutoryanskiy // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2019. – Vol. 143. – P. 24–34.
133. Mapping of the available standards against the regulatory needs for nanomedicines / B. Halamoda-Kenzaoui, U. Holzwarth, G. Roebben [et al.] // *Wiley Interdisciplinary Reviews – Nanomedicine and Nanobiotechnology*. – 2019. – Vol. 11. – № 1. – P. e1531.
134. Marriott, C. Bioadhesive Drug Delivery Systems: Mucus physiology and pathology / C. Marriott, N.P. Gregory. London: CRC Press, 1990. – 1 p.
135. Marques, S. S. Nanometrics goes beyond the size: Assessment of nanoparticle concentration and encapsulation efficiency in nanocarriers / S. S. Marques, M. A. Segundo // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2024. – Vol. 174. – P. 117672.
136. Mathiowitz, E. Bioadhesive Drug Delivery Systems: Fundamentals, Novel Approaches and Development: Definitions, mechanisms and theories of bioadhesion / E. Mathiowitz, D.E. Chickering. New York: Marcel Decker, 1990. – 1 p.
137. Mauludin, R. Development of an oral rutin nanocrystal formulation / R. Mauludin, R. H. Müller, C. M. Keck // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2009. – Vol. 370. – № 1–2. – P. 202–209.
138. Mechanism of release from pellets coated with an ethylcellulose-based film / A. G. Ozturk, S. S. Ozturk, B. O. Palsson [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 1990. – Vol. 14. – P. 203–213.
139. Menjoge, A.R. Mechanistic investigations of phase behavior in Eudragit E blends / A.R. Menjoge, M.G. Kulkarni // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2007. – Vol. 343. – № 1–2. – P. 106–21.
140. Methotrexate-loaded microspheres for nose to brain delivery: in vitro/in vivo evaluation / Y. Sun, K. Shi, F. Wan, F. Cui // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. – 2012. – Vol. 22. – № 2. – P. 167–174.

141. Microencapsulation drug delivery system - an overview / R. Keshari, K. S. Rathore, M. Bharkatiya, A. Mishra // *PharmaTutor*. – 2016. – Vol. 4. – № 12. – P. 20–28.
142. Microencapsulation of budesonide with dextran by spray drying technique for colon-targeted delivery: An in vitro/in vivo evaluation in induced colitis in rat / J. Varshosaz, F. Ahmadi, J. Emami [et al.] // *Journal of Microencapsulation*. – 2011. – Vol. 28. – P. 62–73.
143. Microfluidic preparation of multicompartiment microcapsules for isolated co-encapsulation and controlled release of diverse components / W. Wang, T. Luo, X. Ju [et al.] // *International Journal of Nonlinear Sciences and Numerical Simulation*. – 2021. – Vol. 13. – № 5. – P. 325–332.
144. Microparticles, Microspheres, and Microcapsules for Advanced Drug Delivery / M. Lengyel, N. Kállai-Szabó, V. Antal [et al.] // *Scientia Pharmaceutica*. – 2019. – Vol. 87. – № 3. – P. 20.
145. Milla, P. PEGylation of proteins and liposomes: a powerful and flexible strategy to improve the drug delivery / P. Milla, F. Dosio, L. Cattel // *Current Drug Metabolism*. – 2012. – Vol. 13. – № 1. – P. 105–119.
146. Mistry, A. Nanoparticles for direct nose-to-brain delivery of drugs / A. Mistry, S. Stolnik, L. Illum // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2009. – Vol. 379. – P. 146–157.
147. Miyazaki, K. Nanotechnology systems of innovation - An analysis of industry and academia research activities / K. Miyazaki, N. Islam // *Technovation*. – 2007. – Vol. 27. – P. 661–675.
148. Mucin-controlled drug release from mucoadhesive phenylboronic acid-rich nanoparticles / C. Li, Z. Liu, X. Yan [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2015. – Vol. 479. – № 1. P. 261–264.
149. Mucin/Poly(acrylic acid) Interactions: A Spectroscopic Investigation of Mucoadhesion / M. M. Patel, J. D. Smart, T. G. Nevell [et al.] // *Biomacromolecules*. – 2003. – Vol. 4. – P. 1184–1190.

150. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system / S. Mansuri, P. Kesharwani, K. Jain [et al.] // *Reactive & Functional Polymers*. – 2016. – Vol. 100. – P. 151–172.
151. Mucoadhesive amphiphilic methacrylic copolymer-functionalized poly( $\epsilon$ -caprolactone)nanocapsules for nose-to-brain delivery of olanzapine / F. N. Fonseca, A. H. Betti, F. C. Carvalho [et al.] // *Journal of Biomedical Nanotechnology*. – 2015. – Vol. 11. – № 8. – P. 1472–1481.
152. Mucoadhesive and mucus-penetrating interpolyelectrolyte complexes for nose-to-brain drug delivery / N. N. Porfiryeva, I. I. Semina, I. A. Salakhov [et al.] // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. – 2021. – Vol. 37. – P. 102432.
153. Mucoadhesive interactions of amphiphilic cationic copolymers based on [2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride / N. A. Fefelova, Z. S. Nurkeeva, G. A. Mun, V. V. Khutoryanskiy // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2007. – Vol. 339. – №1-2. – P. 25–32.
154. Mucoadhesive microspheres for nasal administration of an antiemetic drug, metoclopramide: invitro/ ex-vivo studies / E. Gavini, G. Rassa, V. Sanna [et al.] // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2005. – Vol. 57. – P. 287–294.
155. Mucoadhesive maleimide-functionalised liposomes for drug delivery to urinary bladder / D. B. Kaldybekov, P. Tonglairoum, P. Opanasopit, V. V. Khutoryanskiy // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2018. – Vol. 111. – P. 83–90.
156. Mucus permeating carriers: formulation and characterization of highly densely charged nanoparticles / I. Pereira de Sousa, C. Steiner, M. Schmutzler [et al.] // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2015. – Vol. 97. – P. 273–279.
157. Mucus permeating thiolated self-emulsifying drug delivery systems / J. Rohrer, A. Partenhauser, S. Hauptstein [et al.] // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2016. – Vol. 98. – P. 90–97.
158. Nanostructured cubosomes in an in situ nasal gel system: an alternative approach for the controlled delivery of donepezil HCl to brain / R. P. Patil, D. D. Pawara, C. S. Gudewar, A. R. Tekade, // *Journal of Liposome Research*. – 2019. – Vol. 29. – P. 264–273.

159. Nanotechnology-based drug delivery for central nervous system disorders / T. T. Nguyen, T. T. Dung Nguyen, T. K. Vo [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2021. – Vol. 14. – P. 112117.
160. Nasal Drug Delivery in Traditional Persian Medicine / M.M. Zarshenas, A. Zargaran, J. Müller, A. Mohagheghzadeh // *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. – 2013. – Vol. 8. – № 3. – P. 144–148.
161. Nasal mucoadhesive microspheres of lercanidipine with improved systemic bioavailability and antihypertensive activity / S. Beg M. Rahman, S. Panda [et al.] // *Journal of Pharmaceutical Innovation*. – 2021. – Vol. 16. – № 2. – P. 237–246.
162. Nasr, M. Neuroprotective effects of novel nanosystems simultaneously loaded with vinpocetine and piracetam after intranasal administration / M. Nasr, S.A. Wahdan // *Life Sciences*. – 2019. – Vol. 226. – P. 117–129.
163. Netsomboon, K. Mucoadhesive vs mucopenetrating particulate drug delivery / K. Netsomboon, A. Bernkop-Schnürch // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2016 – Vol. 98. – P. 76–89.
164. Nikezić, A. V. V. Drug delivery systems based on nanoparticles and related nanostructures / A. V. V. Nikezić, A. M. Bondžić, V. M. Vasić // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2020. – Vol. 151. – P. 105412.
165. Nikonenko, N. A. Spectroscopic Ellipsometry of Mucin Layers on an Amphiphilic Diblock Copolymer Surface / N. A. Nikonenko, I. A. Bushnak, J. L. Keddie // *Applied Spectroscopy*. – 2009. – Vol. 63. – № 8. – P. 889–898.
166. Non-invasive intranasal administration route directly to the brain using dendrimer nanoplatfoms: an opportunity to develop new CNS drugs / S. Mignani, X. Shi, A. Karpus, J.P. Majoral // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2021. – Vol. 209. – P. 112905.
167. Nose-to-Brain Delivery / Z. Wang, G. Xiong, W.C. Tsang [et al.] // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2019. – Vol. 370. – № 3. P. 593–601.
168. Nose-to-brain delivery of antipsychotics using nanotechnology: a review / M. S. A. Tan, H. S. Parekh, P. Pandey [et al.] // *Expert Opinion on Drug Delivery*. – 2020. – Vol. 17. – № 6. – P. 839–853.

169. Nose-to-brain delivery of lipid-based nanosystems for epileptic seizures and anxiety crisis / C. Costa, J.N. Moreira, M.H. Amaral [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2019. – Vol. 295. – P. 187–200.
170. Nose to brain delivery of rotigotine loaded chitosan nanoparticles in human SH-SY5Y neuroblastoma cells and animal model of Parkinson's disease / S.K. Bhattamisra, A.T. Shak, L.W. Xi [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2020. – Vol. 579. – P. 119148.
171. Nose-to-Brain Delivery of Therapeutic Peptides as Nasal Aerosols / W. Alabsi, B.B. Eedara, D. Encinas-Basurto [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14. – № 9. – P. 1870.
172. Nose-to-brain drug delivery: An update on clinical challenges and progress towards approval of anti-Alzheimer drugs / M. Agrawal, S. Saraf, S. Saraf [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2018. – Vol. 281. – P. 139–177.
173. Novel mucus-penetrating liposomes as a potential oral drug delivery system: preparation, in vitro characterization, and enhanced cellular uptake / X. Li, D. Chen, C. Le [et al.] // *International Journal of Nanomedicine*. – 2011. – Vol. 6. – P. 3151–3162.
174. Ochekepe, N. A. Nanotechnology and Drug Delivery Part 1: Background and Applications / N. A. Ochekepe, P. O. Olorunfemi, N. C. Ngwuluka // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. – 2009. – Vol. 8. – P. 265–274.
175. On the synthesis of mucus permeating nanocarriers / V. Bourganis, T. Karamanidou, E. Samaridou [et al.] // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2015. – Vol. 97. – P. 239–249.
176. On a highway to the brain: A review on nose-to-brain drug delivery using nanoparticles / M. L. Formica, D. A. Real, M. L. Picchio [et al.] // *Applied Materials Today*. – 2001. – Vol. 29. – P. 101631.
177. Optical responses, permeability and diol-specific reactivity of thin polyacrylamide gels containing immobilized phenylboronic acid / M. V. Kuzimenkova, A. E. Ivanov, C. Thammakhet-Buranachai [et al.] // *Polymer*. – 2008. – Vol. 49. – № 6. – P. 1444–1454.

178. Oral delivery of anticancer drugs: challenges and opportunities / K. Thanki, R.P. Gangwal, A.T. Sangamwar, S. Jain // *Journal of Controlled Release*. – 2013. – Vol. 170. – P. 15–40.
179. Overview on Therapeutic Applications of Microparticle Drug Delivery / S. Bale, A. Khurana, A.S.S. Reddy [et al.] // *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*. – 2016. – Vol. 4. – P. 309–361.
180. Pandey, A., Nose-To-Brain Drug Delivery: regulatory aspects, clinical trials, patents, and future perspectives / A. Pandey, A. Nikam, S. Basavaraj, S. Mutalik, D. Gopalan, S. Kulkarni, B. Padya, G. Fernandes, S. Mutalik, – Amsterdam: Elsevier Inc., – 2021. – 522 p.
181. Particle size and surface charge affect particle uptake by human dendritic cells in an in vitro model / C. Foged, B. Brodin, S. Frokjaer, A. Sundblad // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2005. – Vol. 298. – P. 315–322.
182. Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin / D.D. Verma, S. Verma, G. Blume, A. Fahr // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2003. – Vol. 258. – P. 141–151.
183. Pathak, Y. Drug Delivery Nanoparticles Formulation and Characterization / Y. Pathak, D. Thassu. – London: CRC Press, 2009. – 394 p.
184. Peanparkdee, M. Microencapsulation: A Review of Applications in the Food and Pharmaceutical Industries / M. Peanparkdee, S. Iwamoto, R. Yamauchi // *Reviews in Agricultural Science*. – 2016. – Vol. 4. – P. 56– 65.
185. Peppas Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers / R.W. Kormeyer, R. Gurny, E. Doelker [et al.] // *International journal of pharmaceutics*. – 1983. – Vol. 15. – № 1. – P. 25–35.
186. Peppas, N. A. Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review / N. A. Peppas, J. J. Sahlin // *Biomaterials*. – 1996. – Vol. 17. – P. 1553–1561.
187. Pereswetoff-Morath, L. Microspheres as nasal drug delivery systems / L. Pereswetoff-Morath // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 1998. – Vol. 29. – P. 185–194.

188. Petri, D.F.S. Xanthan gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications / D.F.S. Petri // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2015. – 132. – № 23. – P. 42035.
189. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of nasal liposome and nanoparticle based rivastigmine formulations in acute and chronic models of Alzheimer's disease / S.K.L. Rompicherla, K. Arumugam, S.L. Bojja [et al.] // *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* – 2021. – Vol. 394. – P. 1737–1755.
190. Phenylboronic acid modified mucoadhesive nanoparticle drug carriers facilitate weekly treatment of experimentally induced dry eye syndrome / S. Liu, C.N. Chang, M.S. Verma [et al.] // *Nano Research*. – 2015. – Vol. 8. – № 2. – P. 621–635.
191. Phenylboronic-Acid-Based Polymeric Micelles for Mucoadhesive Anterior Segment Ocular Drug Delivery / G. Prospero-Porta, S. Kedzior, B. Muirhead, H. Sheardown // *Biomacromolecules*. – 2016. – Vol. 17. – № 4. – P. 1449–1457.
192. Polymeric multilayer capsules in drug delivery / L. J. De Cock, S. De Koker, B. G. De Geest [et al.] // *Angewandte Chemie*. – 2010. – Vol. 49. – № 39. – P. 6954–6973.
193. Porfiryeva, N. N. PEGylated Systems in Pharmaceutics / N. N. Porfiryeva, R. I. Moustafine, V. V. Khutoryanskiy // *Polymer Science, Series C*. – 2020. – Vol. 61. – P. 62–74.
194. Potential of nanoparticulate drug delivery systems by intranasal administration / J. Ali, M. Ali, S. Baboota [et al.] // *Current Pharmaceutical Design*. – 2010. – Vol. 16. – № 14. – P. 1644–1653.
195. Prajapati, V. D. Current knowledge on biodegradable microspheres in drug delivery / V. D. Prajapati, G. K. Jani, J. R. Kapadia // *Expert Opinion on Drug Delivery*. – 2015. – Vol. 12. – P. 1283–1299.
196. Pramipexole dihydrochloride loaded chitosan nanoparticles for nose to brain delivery: Development, characterization and in vivo anti-Parkinson activity / R. Raj, S. Wairkar, V. Sridhar, R. Gaud // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2018. – Vol. 109. – P. 27–35.

197. Preparation and characterization of mucus-penetrating papain/poly(acrylic acid) nanoparticles for oral drug delivery applications / C. Müller, K. Leithner, S. Hauptstein [et al.] // *Journal of Nanoparticle Research*. – 2012. – Vol. 15 – № 1. – P. 1–13.
198. Preparation and in vitro evaluation of meloxicam-loaded PLGA nanoparticles on HT-29 human colon adenocarcinoma cells / C.T. Sengel-Turk, C. Hascicek, A.L. Dogan [et al.] // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2012. – Vol. 38. – P. 1107–1116.
199. Primary studies on construction and evaluation of ion-sensitive in situ gel loaded with paeonol-solid lipid nanoparticles for intranasal drug delivery / Y. Sun, L. Li, H. Xie [et al.] // *International Journal of Nanomedicine*. – 2020. – Vol. 15. – P. 3137–3160.
200. Progress in the application of sustained-release drug microspheres in tissue engineering / L. Ruan, M. Su, X. Qin [et al.] // *Materials Today Bio*. – 2022. – Vol. 16. – P. 100394.
201. Progress in brain targeting drug delivery system by nasal route / A.R. Khan, M. Liu, M. W. Khan, G. Zhai // *Journal of Controlled Release*. – 2017. – Vol. 268. – P. 364–389.
202. Ramli, R.A. Coreshell polymers: a review / R.A. Ramli, W.A. Laftah, S. Hashim // *RSC Advances*. – 2013. – Vol. 3. – № 36. – P. 15543–15565.
203. Review on starter pellets: inert and functional cores / N. K'allai-Szab'ó, M. Lengyel, D. Farkas [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14. – P. 1299.
204. Sabir, F. Nose-to-brain delivery of antiglioblastoma drugs embedded into lipid nanocarrier systems: status quo and outlook / F. Sabir, R. Ismail, I. Csoka // *Drug Discovery Today*. – 2020. – Vol. 25. – P. 185–194.
205. Saha, P. Intranasal nanotherapeutics for brain targeting and clinical studies in Parkinson's disease / P. Saha, H. Kathuria, M.M. Pandey // *Journal of Controlled Release*. – 2023. – Vol. 358. – P. 293–318.
206. Scalable method to produce biodegradable nanoparticles that rapidly penetrate human mucus / Q. Xu, N.J. Boylan, S. Cai [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2013. – Vol. 170. – № 2. – P. 279–286.
207. Selvaraj, K. Nose to brain transport pathways an overview: potential of nanostructured lipid carriers in nose to brain targeting / K. Selvaraj, K. Gowthamarajan,

- V. V. S. R Karri // *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. – 2018. – Vol. 46. – № 8. – P. 2088–2095.
208. Separation of mistletoe lectins based on the degree of glycosylation using boronate affinity chromatography / Y. Li, U. Pfüller, E.L. Larsson [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2001. – Vol. 925. – № 1–2. – P. 115–121.
209. Shea, C.M. Future management research directions in nanotechnology: A case study / C.M. Shea // *Journal of Engineering and Technology Management*. – 2005. – Vol. 22. – № 3. – P. 185–200.
210. Single-Pot Semicontinuous Bench Scale Apparatus to Produce Microparticles / A. Dalmoro, A.A. Barba, M. d'Amore, G. Lamberti // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2014. – Vol. 53. – № 7. – P. 2771–2780.
211. Smart, J. D. *Bioadhesive Drug Delivery Systems: Fundamentals, Novel Approaches and Development: The role of water movement and polymer hydration in mucoadhesion* / J.D. Smart. – New York: Marcel Dekker, New York, 1999. – 11 p.
212. Smart, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion / J. D. Smart // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2005. – Vol. 57. – № 11. – P. 1556–1568.
213. Sodium Alginate-Natural Microencapsulation Material of Polymeric Microparticles / O. D. Frent, L. G. Vicas, N. Duteanu [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – № 20. – P. 12108.
214. Sogias, I.A. Why is chitosan mucoadhesive? / I.A. Sogias, A.C. Williams, V.V. Khutoryanskiy // *Biomacromolecules*. – 2008. – Vol. 9. – № 7. – P. 1837–1842.
215. Solid microparticles based on chitosan or methyl- $\beta$ -cyclodextrin: a first formulative approach to increase the nose-to-brain transport of deferoxamine mesylate / G. Rasso, E. Soddu, M. Cossu [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2015. – Vol. 201. – P. 68–77.
216. *Specification of Eudragit polymers* / Rohm Pharma, 1998.
217. Springsteen, G. Detailed Examination of Boronic Acid-Diol Complexation / G. Springsteen, B.A. Wang // *Tetrahedron*. – 2002. – Vol. 58. – № 26. – P. 5291–5300.

218. Srivastava, A. Boronate affinity chromatography of cells and biomacromolecules using cryogel matrices / A. Srivastava, A.K. Shakya, A. Kumar // *Enzyme and Microbial Technology*. – 2012. – Vol. 51. – № 6–7. – P. 373–381.
219. Stimuli-responsive In situ gelling system for nose-to-brain drug delivery / M. Agrawal, S. Saraf, S. Saraf [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2020. – Vol. 327. – № 14. – P. 235–265.
220. Stimuli-responsive plasmonic assemblies and their biomedical applications / Q. Fu, Z. Li, F. Fu [et al.] // *Nano Today*. – 2021. – Vol. 36. – P. 101014.
221. Structural transformations during swelling of polycomplex matrices based on countercharged (meth)acrylate copolymers (Eudragit®EPO/Eudragit® L 100-55) / R. I. Moustafine, V. L. Bobyleva, A. V. Bukhovets [et al.] // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2011. – Vol. 100. – P. 874–885.
222. Study the Using of Nanoparticles as Drug Delivery System Based on Mathematical Models for Controlled Release / L. Ahmed, R. Atif, T. S. Eldeen [et al.] // *International Journal of Latest Technology in Engineering, Management & Applied Science*. – 2019. – Vol. 8. – № 5. – P. 52–56.
223. Surface Charge Affects Cellular Uptake and Intracellular Trafficking of Chitosan-Based Nanoparticles / Z. G. Yue, W. Wei, P. P. Lv [et al.] // *Biomacromolecules*. – 2011. – Vol. 12. – P. 2440–2446.
224. Surface-modified nanocarriers for nose-to-brain delivery: from bioadhesion to targeting / F. Sonvico, A. Clementino, F. Buttini [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2018. – Vol. 10. – № 11. – P. 34.
225. Synthesis of mucoadhesive thiol-bearing microgels from 2-(acetylthio)ethylacrylate and 2-hydroxyethylmethacrylate: novel drug delivery systems for chemotherapeutic agents to the bladder / M.T. Cook, S.A. Schmidt, E. Lee [et al.] // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2015. – Vol. 3. – № 32. – P. 6599–6604.
226. Systematic development of lectin conjugated microspheres for nose-to-brain delivery of rivastigmine for the treatment of Alzheimer's disease / Y. Gao, W.H. Almalki, O. Afzal [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2021. – Vol. 141. – P. 111829.

227. Tailoring midazolam-loaded chitosan nanoparticulate formulation for enhanced brain delivery via intranasal route / N. Shrestha, S. Khan, Y. R. Neupane [et al.] // *Polymers*. – 2020. – Vol. 12. – № 11. – P. 2589.
228. Thanou, M. Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility / M. Thanou, H.E. Junginger. – New York: Marcel Dekker, – 2005. – 661 p.
229. The characteristics, biodistribution and bioavailability of a chitosan-based nanoparticulate system for the oral delivery of heparin / M.C. Chen, H.S. Wong, K.J. Lin [et al.] // *Biomaterials*. – 2009. – Vol. 30. – № 34. – P. 6629–6637.
230. The effect of surface poly(ethylene glycol) length on in vivo drug delivery behaviors of polymeric nanoparticles / J.L. Wang, X.J. Du, J.X. Yang [et al.] // *Biomaterials*. – 2018. – Vol. 182. – P. 104–113.
231. The micro sponge delivery system of benzoyl peroxide: Preparation, characterization and release studies / M. Jelvehgari, M. R. Siahi-Shadbad, S. Azarmi [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2006. – Vol. 308. – P. 124–132.
232. Thermo-sensitive gels containing lorazepam microspheres for intranasal brain targeting / S. Jose, C. R. Ansa, T. A. Cinu [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2013. – Vol. 441. – № 1–2. – P. 516– 526.
233. Touitou, E. A. New nanovesicular system for nasal drug administration / E. Touitou, S. Duchi, H. Natsheh // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2020. – Vol. 580. – P. 119243.
234. Traditional ancient Egyptian medicine: A review / A.M. Metwaly, M.M. Ghoneim, I.H. Eissa [et al.] // *Saudi Journal of Biological Sciences*. – 2021. – Vol. 28. – № 10. – P. – 5823–5832.
235. Ultrasonic atomization and polyelectrolyte complexation to produce gastroresistant shell–core microparticles / A. Dalmoro, A. Y. Sitenkov, G. Lamberti [et al.] // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2016. – Vol. 133. – P. 42976.
236. Varshosaz, J. Nasal delivery of insulin using chitosan microspheres / J. Varshosaz, H. Sadrai, R. Alinagari // *Journal of Microencapsulation*. – 2004. – Vol. 21. – P. 761–774.

237. Vasir, J.K. Quantification of the force of nanoparticle-cell membrane interactions and its influence on intracellular trafficking of nanoparticles / K.K. Vasir, V. Labhasetwar // *Biomaterials*. – 2008. – Vol. 29. – P. 4244–4252.
238. Vesicular Systems for Intranasal Drug Delivery, In: Drug Delivery to the Central Nervous System / I.A. Alsarra, A.Y. Hamed, F.K. Alanazi, G.M. El Maghraby // Totowa: Humana Press, 2009. P. 175–203. ISBN 978-1-60761-528-6
239. Visual validation of the measurement of entrapment efficiency of drug nanocarriers / Y. Lv, H. He, J. Qi [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2018. – Vol. 547. – P. 395–403.
240. Vora, L. Zero order controlled release delivery of cholecalciferol from injectable biodegradable microsphere: in-vitro characterization and in-vivo pharmacokinetic studies / L. Vora, S. V G, P. Vavia, // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2017. – Vol. 107. – P. 78–86.
241. Wang, B.H. Drug Delivery to the Lymphatic System In Drug Delivery Principles and Applications / B. Wang, T.J.S. Longquin Hu. – Hoboken: John Wiley and Sons Inc, 2016. – 509 p.
242. Whelehan, M. Microencapsulation using vibrating technology / M. Whelehan, I.W. Marison // *Journal of Microencapsulation*. – 2011. – Vol. 28. – P. 669–688.
243. Yang, X. Biorelated Polymers and Gels / X. Yang, J.R. Robinson. – Boston: Academic Press, – 1998. – 135 p.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А.

## ПАТЕНТ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2817985

**Способ получения носителя биологически активных соединений**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Мустафин Руслан Ибрагимович (RU), Гордеева Дарья Сергеевна (RU), Хуторянский Виталий Викторович (GB), Семина Ирина Ивановна (RU), Карпов Александр Геннадьевич (RU)*

Заявка № 2023121083

Приоритет изобретения **11 августа 2023 г.**

Дата государственной регистрации  
в Государственном реестре изобретений  
Российской Федерации **23 апреля 2024 г.**

Срок действия исключительного права  
на изобретение истекает **11 августа 2043 г.**

*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ  
Сертификат: 429b6a0fe1853164ba196f83b73b4aa7  
Владелец: **Зубов Юрий Сергеевич**  
Действителен с 10.05.2023 по 02.08.2024

*Ю.С. Зубов*



## ПРИЛОЖЕНИЕ Б.

## АКТЫ ВНЕДРЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ



УТВЕРЖДАЮ  
Генеральный директор  
АО «Татхимфармпрепараты»  
Т.Ш. Ханнанов  
«02» сентября 2024 г.  
420091, Казань  
ул. Беломорская, д. 260

## АКТ




Наработки экспериментальной партии

«Носитель биологически активных соединений»

для доклинического изучения

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: Севодина Виталия Александровича – зам. генерального директора по качеству, Филиппова Юрия Валерьевича – начальника исследовательского отдела, Заяловой Альфины Тагировны – ведущего инженера-технолога исследовательского отдела, составили настоящий акт в том, что в исследовательском отделе АО «Татхимфармпрепараты» наработано 5 кг экспериментальной партии образца на основании «Лабораторного регламента на производство полимерного носителя биологически активных соединений на основе модифицированной формы Eudragit® EPO с применением 4-бромфенилбороновой кислоты». Авторы разработки: научный руководитель ООО «ИнтерЛЕК», директор Института фармации ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава России, канд.фарм.наук, доцент Мустафин Руслан Ибрагимович и ассистент Института фармации ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава России, м.н.с. молодежной научной лаборатории «Систем направленной доставки лекарственных средств» Гордеева Дарья Сергеевна.

Подписи членов комиссии:

 / В.А. Севодин/  
 / Ю.В. Филиппов /  
 / А.Т. Заялова /

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
**«Казанский государственный  
медицинский университет»**  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49  
Тел.: (843) 236-06-52, факс: 236-03-93  
E-mail: rector@kazangmu.ru



Россия Федерациясе сәламәтлек  
саклау министрлыгынын  
**«Казан дәүләт медицина университеты»**  
югары белем бирү федераль дәүләт  
бюджет мәгариф учреждениесе

420012, Казан шәһәре, Бутлеров ур., 49  
Тел.: (843) 236-06-52, факс: 236-03-93  
E-mail: rector@kazangmu.ru

ОКНО 01963640, ОГРН 1021602848189, ИНН/КПП 1655007760/165501001

№ 7416 30.09 2024 г.  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 202  г.  
Г \_\_\_\_\_ Г \_\_\_\_\_



УТВЕРЖДАЮ  
профессор ФГБОУ ВО Казанский ГМУ  
Минздрава России, профессор

Д.И. Абдулганиева  
«03» сентября 2024 г.

#### АКТ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ

1. **Наименование предложения для внедрения:** Результаты по разработке и исследованию микро- и наноразмерных частиц, представленные в диссертационной работе Гордеевой Д.С. на тему «Разработка поликомплексных микро- и наноразмерных частиц на основе полимеров фармацевтического назначения для интраназальной доставки леводопы в мозг».
2. **Авторы разработки:** Директор Института фармации ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, кандидат фармацевтических наук, доцент Мустафин Руслан Ибрагимович, ассистент Института фармации Гордеева Дарья Сергеевна.
3. **Где и куда внедрено:** Материалы диссертационной работы используются в работе молодежной научной лаборатории «Систем направленной доставки лекарственных средств» ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.
4. **Результаты внедрения:** Применение материалов диссертационной работы позволило расширить список, используемых методик анализа микро- и наноразмерных частиц, применяемых в качестве носителей лекарственных средств.

Ответственный за внедрение,  
Заведующая молодежной научной лаборатории  
«Систем направленной доставки лекарственных средств»  
ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России

Ситенкова А.В.

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«Казанский государственный  
медицинский университет»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49  
Тел.: (843) 236-06-52, факс: 236-03-93  
E-mail: rector@kazangmu.ru



Россия Федерациясе сәламәтлек  
саклау министрлыгының  
«Казан дәүләт медицина университеты»  
югары белем бирү федераль дәүләт  
бюджет мәгариф учреждениесе

420012, Казан шәһәре, Бутлеров ур., 49  
Тел.: (843) 236-06-52, факс: 236-03-93  
E-mail: rector@kazangmu.ru

ОКПО 01963640, ОГРН 1021602848189, ИНН / КПП 1655007760/165501001

№ 7415 30.09 2024 г.  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 202  г.  
Г \_\_\_\_\_ Г \_\_\_\_\_



УТВЕРЖДАЮ

Первый проректор ФГБОУ ВО  
Казанский ГМУ Минздрава России,  
профессор

Л.М. Мухарямова

«03» сентября 2024 г.

#### Акт внедрения результатов научно-практической работы в учебный процесс

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что научные разработки и результаты исследований, представленные в диссертационной работе Гордеевой Д.С. на тему «Разработка поликомплексных микро- и наноразмерных частиц на основе полимеров фармацевтического назначения для интраназальной доставки леводопы в мозг» внедрены в учебный процесс в Институте фармации по учебным программам специалитета по специальности «Фармация», программам ординатуры «Фармацевтическая технология», «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» и программе аспирантуры «Промышленная фармация и технология получения лекарств».

В целом, используемые в учебном процессе данные по анализу и оценке физико-химических и биофармацевтических свойств микро- и наноразмерных частиц, приведенные в диссертационной работе Гордеевой Д.С., позволяют расширить представления обучающихся о современных достижениях фармацевтической науки.

Ответственные за внедрение:

Зам. директора по образовательной деятельности  
Института фармации  
профессор

С.Н. Егорова

Доцент Института фармации

Н.В. Воробьева

8884800

**ПРИЛОЖЕНИЕ В.****ПРОЕКТ НОРМАТИВНОГО ДОКУМЕНТА ПО КАЧЕСТВУ****СОГЛАСОВАН**

\_\_\_\_\_  
(наименование, дата и номер документа  
уполномоченного органа государства  
признания, в соответствии с которым  
согласован нормативный документ по  
качеству)

**УТВЕРЖДЕН**

\_\_\_\_\_  
(наименование, дата и номер документа  
уполномоченного органа референтного  
государства, в соответствии с которым  
согласован нормативный документ по  
качеству)

**НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ ПО КАЧЕСТВУ**

Наименование: Полимерный носитель биологически активных соединений на основе модифицированной формы катионного терполимера на основе производных метакриловой кислоты (диметиламиноэтилметакрилат, метилметакрилат и бутилметакрилат) с применением 4-бромфенилбороновой кислоты, лиофильно высушенный порошок

Держатель регистрационного удостоверения:

(наименование и страна держателя регистрационного удостоверения)

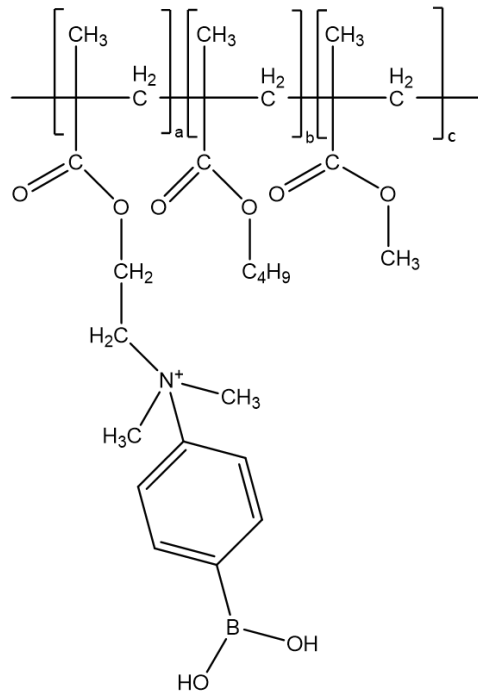
Номер и дата нормативного документа:

(номер и дата регистрационного удостоверения, выданного референтным государством)

## СПЕЦИФИКАЦИЯ

Показатели качества	Нормы	Ссылки на методы испытаний
1	2	3
Описание	Аморфный порошок белого цвета без запаха	Визуальный Органолептический ГФ РФ ОФС.1.1.0001
Идентификация	ИК-спектр лиофильно высушенного порошка ВЕРО должен иметь полосы при 2820, 2822, 2870, 2769, 963, 964, 989, 990, 991 и 1620 см <sup>-1</sup>  ЯМР-спектр лиофильно высушенного порошка ВЕРО должен иметь пики в диапазоне 7,8 и 7,5 ppm	ИК-спектроскопия ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0002; ФЕАЭС, 2.1.2.34.  ЯМР-спектроскопия ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0007; ФЕАЭС, 2.1.2.45.
Примеси свободных полимеров	Не более 0,15 %	мДСК анализ ГФ РФ ОФС.1.2.1.2.0010; ФЕАЭС, 2.1.2.46.
Микробиологическая чистота	Категория 2	ГФ РФ ОФС.1.2.4.0002; ФЕАЭС, 2.3.1.2
Упаковка	Флаконы из темного стекла с навинчивающейся крышкой	
Маркировка	В соответствии с НД	
Условия хранения	В сухом, защищенном от света месте, при температуре от 15 – 25 °С	

Ссылки приведены на действующее издание ГФ РФ и ФЕАЭС.



Полимерный носитель биологически активных соединений на основе модифицированной формы катионного терполимера на основе производных метакриловой кислоты (диметиламиноэтилметакрилат, метилметакрилат и бутилметакрилат) с применением 4-бромфенилбороновой кислоты.

### Описание.

**Норма:** Аморфный порошок белого цвета без запаха.

Определение проводят визуально в соответствии с ГФ РФ ОФС.1.1.0001

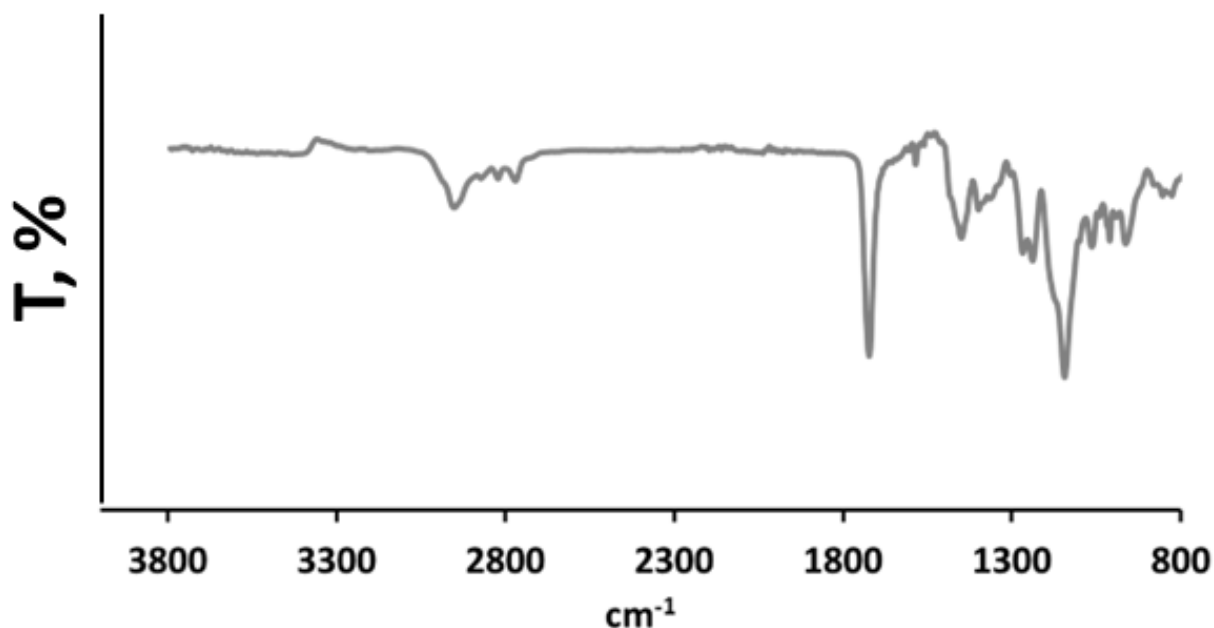
### Растворимость.

**Норма:** Растворим в воде при рН 5.0. Очень легко растворим в спирте 96 %  
Определение проводят в соответствии с ГФ РФ, ОФС «Растворимость».

### Идентификация.

#### **Метод ИК-спектрометрия.**

**Норма:** Инфракрасный спектр субстанции, снятый методом НПВО в области от 4000 до 500 см<sup>-1</sup>, должен иметь полное совпадение полос поглощения с полосами поглощения прилагаемого спектра. На ИК-спектре различают характерные полосы при 2820, 2822, 2870, 2769, 963, 964, 989, 990, 991 и 1620 см<sup>-1</sup>.

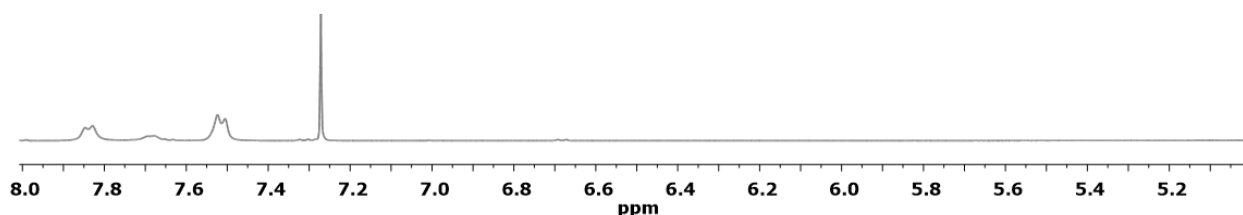


Определение проводят в соответствии с ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0002 «ИК-спектроскопия в УФ и видимой областях»; ФЕАЭС, 2.1.2.34. «ИК-спектроскопия в УФ и видимой областях»

#### **Метод ЯМР-спектроскопия.**

**Норма:** ЯМР-спектр лиофильно высушенного порошка ВЕРО в дейтерированном хлороформе должен иметь пики в диапазоне 7,8 и 7,5 ppm

Определение проводят в соответствии с ГФ РФ ОФС.1.2.1.1.0007 «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса»; ФЕАЭС, 2.1.2.45. «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса»



#### **Примеси свободных полимеров.**

**Норма:** не более 0,15% примесей исходных полимеров определяется методом дифференциальной сканирующей калориметрии с моделируемой температурой по наличию температуры стеклования, в диапазоне от 52 до 57 °С

Определение проводят в соответствии с ГФ РФ ОФС.1.2.1.2.0010 «Термический анализ»; ФЕАЭС, 2.1.2.46. «Термический анализ»

**Потеря в массе при высушивании.**

**Норма:** Не более 5 %. Около 1 г (точная навеска) субстанции сушат при температуре от 100 до 105 °С до постоянной массы.

Определение проводят в соответствии ГФ РФ ОФС.1.2.1.0010 «Потеря в массе при высушивании», способ 1; ФЕАЭС 2.1.2.31. «Потеря в массе при высушивании»

**Сульфатная зола.**

**Норма:** Сульфатная зола из 1 г (точная навеска) субстанции не должна превышать 0,2 %.

Определение проводят в соответствии ГФ РФ ОФС.1.2.2.2.0014 «Сульфатная зола»; ФЕАЭС 2.1.4.14. «Сульфатная зола»

**Микробиологическая чистота.**

**Норма:** Категория 2

Общее число аэробных микроорганизмов - не более КОЕ в 1 г препарата. Общее число дрожжевых и плесневых грибов - не более КОЕ в 1 г. Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г препарата. Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 г препарата. Отсутствие энтеробактерий, устойчивых к желчи, в 1 г. препарата.

Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РФ ОФС.1.2.4.0002 «Микробиологическая чистота»; ФЕАЭС 2.1.6.6. «Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств: общее количество жизнеспособных аэробных микроорганизмов», ФЕАЭС 2.1.6.7. «Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств на наличие отдельных видов микроорганизмов»

**Описание упаковки**

По 5 кг, в мешки полиэтиленовые двойные по ГОСТ Р 50962-96 или аналогичного качества. Между первым и вторым полиэтиленовыми мешками вкладывают этикетку из бумаги этикеточной по ТУ 5430-025-00279195-2004 или аналогичного качества или бумаги самоклеящейся. Мешки полиэтиленовые помещают в мешки бумажные по ТУ 5472-049-00279410-2010 или аналогичного качества. На мешки бумажные наклеивают этикетки из бумаги этикеточной ТУ 5430-025-00279195-2004 или аналогичного качества или бумаги самоклеящейся.

**Маркировка**

На этикетке мешка полиэтиленового указывают наименование предприятия-производителя, его товарные знаки, юридический адрес, телефон, телефон/факс, торговое наименование субстанции с предупредительной маркировкой ®, международное непатентованное или группировочное наименование, количество

субстанции в килограммах, условия хранения, назначение субстанции, номер реестровой записи, номер серии, дату изготовления, срок годности.

На этикетке мешка бумажного указывают наименование предприятия-производителя, его товарные знаки, юридический адрес, телефон, телефон/факс, торговое наименование субстанции с предупредительной маркировкой ®, международное непатентованное или группировочное наименование, количество субстанции в килограммах, условия хранения, назначение субстанции, номер реестровой записи, номер серии, дату изготовления, срок годности, штриховой код.

### **Условия хранения**

В сухом, защищенном от света месте, при температуре от 15 – 25 °С

### **Срок годности (Срок хранения)**

2 года.

*Примечание.* Реактивы, титрованные растворы и индикаторы, приведенные в настоящей нормативной документации, описаны в соответствующих разделах ГФ РФ и ФЕАЭС.

" \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 202\_ г.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность научным руководителям к.фармац.н., доценту, директору Института фармации Казанского ГМУ Мустафину Руслану Ибрагимовичу и к.хим.н., профессору Университета Рединга Хуторянскому Виталию Викторовичу за помощь в подготовке, организации и написании диссертационной работы, а также сотрудникам Института фармации и молодежной научной лаборатории «Систем направленной доставки лекарственных средств» Казанского ГМУ за помощь и поддержку в проведении экспериментальной части исследования. Отдельная благодарность выражается д.м.н., профессору Сёминой Ирине Ивановне за руководство и помощь в организации экспериментов *in vivo* на животных. А также особую благодарность автор выражает родным и близким, Гордееву Сергею Михайловичу, Гордеевой Татьяне Николаевне и Гордееву Максиму Сергеевичу, за поддержку в ходе работы над диссертационным исследованием.