

БИОПОЛИМЕРНЫЕ АЭРОГЕЛИ КАК НАЗАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ

Н.В. Меньшутина — Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия. ORCID 0000-0001-7806-1426. Эл почта: chemcom@muctr.ru (для переписки)

А.А. Уварова — Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия. ORCID 0000-0003-4208-7063. Эл почта: anastasia.uvarova2@yandex.ru

М.С. Мочалова — Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия. ORCID 0000-0003-1200-8125. Эл почта: mochalovamarie@yandex.ru

Д.Д. Ловская — Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия. ORCID 0000-0002-8709-4139. Эл почта: daria.lovskaya@gmail.com

П.Ю. Цыганков — Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия. ORCID 0000-0003-2630-3838. Эл почта: pavel.yur.tsygankov@gmail.com

О.И. Гурина — Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID 0000-0001-6942-5531. Эл почта: olga672@yandex.ru

Е.А. Зубков — Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID 0000-0001-6133-3421. Эл почта: zubkov@ngs.ru

О.В. Абрамова — Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского Министерства здравоохранения РФ, Россия. ORCID 0000-0001-8793-1833. Эл почта: abramova1128@gmail.com

© 2023 г. Поступила в редакцию 16.11.2022 г. Прошла рецензирование 30.11.2022 г. Принята к публикации 30.11.2022 г.

Получены микрочастицы аэрогеля на основе яичного белка и хитозана, характеризующиеся низкой плотностью, развитой морфологией и высокой удельной площадью поверхности, высокой пористостью, большим объемом и малым диаметром пор. Методом лазерной дифракции получены кривые распределения частиц по размерам, из которых были рассчитаны среднечисленный и аэродинамический диаметры. Аэродинамический диаметр всех полученных биополимерных аэрогелей лежит в диапазоне, необходимом для осуществления адресной доставки активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) в обонятельную область носовой полости. Проведены экспериментальные исследования по внедрению АФИ «мелатонин» в поры биополимерных аэрогелей на стадии замены растворителя и методом сверхкритической адсорбции. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определены массовые доли АФИ в полученных фармацевтических композициях «биополимерный аэрогель — АФИ». Методом рентгенофазового анализа показано, что АФИ в фармацевтических композициях присутствует преимущественно в аморфном состоянии. Результаты экспериментальных исследований *in vivo* показали, что в случае интраназального введения обеих композиций «биополимерный аэрогель — АФИ» максимальная концентрация АФИ в тканях мозга достигается уже через 30 мин. Это доказывает, что полученные биополимерные аэрогели на основе белка и хитозана перспективны для использования в качестве матриц-носителей АФИ при разработке назальных систем их доставки.

К л ю ч е в ы е с л о в а: сверхкритическая сушка, аэрогель, хитозан, белок, фармацевтические композиции, системы доставки активных фармацевтических ингредиентов.

ВВЕДЕНИЕ

Аэрогели представляют собой пористые твердые материалы, характеризующиеся низкой плотностью ($0,00012\text{—}0,03\text{ г/см}^3$), высокой пористостью (до 99 %) и высокой площадью удельной поверхности (200 до $1500\text{ м}^2/\text{г}$) [1, 2]. К отличительным особенностям органических аэрогелей можно отнести такие свойства, как биосовместимость, биodeградируемость и нетоксичность [3].

В настоящее время широко исследуется применение органических аэрогелей в области тканевой медицины, фармацевтики, косметологии и пищевой промышленности, в качестве систем доставки лекарств, каркасов для тканевой инженерии, материалов для перевязки ран [4, 5]. Современные исследования отражают успешное применение частиц хитозановых аэрогелей, полученных с использованием сверхкритической сушки, в качестве гемостатических средств [6]. В результате исследования *in vivo* обнаружено, что частицы аэрогеля на основе хитозана позволяют достигнуть первичного гемостаза и остановить кровотечение в 100 % случаях [6].

В данной статье представлены результаты разработки сухих назальных систем доставки лекарственных препаратов на основе биополимерных аэрогелей. Такие системы обеспечивают быстрое наступление терапевтического эффекта, высокую стабильность лекарственного препарата, улучшение физико-химических свойств (растворимость в воде, биодоступность), маскировку вкуса или запаха [7, 8]. В литературе описаны примеры их получения в виде эмульсий, спреев, липосом, гелей *in situ*, микрочастиц, полученных методом эмульсионной полимеризации или распылительной сушки [8—11]. Было показано, что сухие назальные системы доставки лекарств, например микрочастицы, задерживают мукоцилиарный клиренс (механизм, обеспечивающий местную защиту слизистой оболочки органов дыхания от внешних воздействий), тем самым увеличивая время контакта между системой доставки лекарственного средства и слизистой оболочкой по сравнению с жидкими препаратами [7, 9].

Основные стадии процесса получения органических аэрогелей:

- получение раствора биополимера;
- образование геля;
- замена растворителя;
- сверхкритическая сушка.

Образование геля может проходить при воздействии химических веществ, вступающих в реакцию с биополимером, под действием физико-химических или физических факторов (изменение pH, температуры, давления, ультрафиолетового излучения). В литературе представлено множество исследований по получению аэрогелей на основе альгината, хитозана, белков, целлюлозы, пектина, крахмала, агара, ксантана, каррагинана и других веществ [12].

Перспективным материалом для получения органических аэрогелей служит хитозан — природный линейный полиаминосахарид, обычно получаемый из хитина путем щелочного деацетилирования. Хитин является вторым по распространенности в природе полисахаридом [13]. Хитозан обладает свойствами биосовместимости и мукоадгезивности (адгезии к поверхности слизистых тканей человека), является усилителем проницаемости, то есть улучшает поглощение лекарственного вещества через биологические мембраны [14]. Кроме этого, хитозан может в определенных условиях приобретать избыточный

положительный заряд благодаря наличию в структуре большого количества аминогрупп.

Образование геля хитозана может быть вызвано химическими или физическими факторами. Описано широкое применение производных диальдегидов, формальдегида, глиоксаля или генипина для химической сшивки хитозана [15]. В ходе реакции образуются ковалентные связи между молекулой хитозана и молекулой диальдегида. Показано, что при повышении концентрации глутарового альдегида происходит рост числа сопряженных двойных связей. Однако благодаря этому увеличивается механическая прочность и токсичность сшитого хитозана. Поэтому часто образование геля проводят с помощью физико-химического или физического воздействия. Например, в качестве такого воздействия может выступать изменение температуры (термотропное или криогенное образование геля) или резкое изменение pH среды, что приводит к формированию водородных связей в молекуле хитозана [16, 17]. Для этого растров хитозана обрабатывают с помощью растворов гидроксида натрия.

Другими материалами для получения аэрогелей могут быть белки, первичная структура которых представлена последовательностью аминокислотных остатков и влияет на их пространственную конформацию. Такие свойства белков, как молекулярная масса, заряд, гидрофильность или гидрофобность, механическая прочность и функциональность, влияют на конечные характеристики аэрогелей [18–20]. Кроме того, химическая модификация или сшивка функциональных групп боковых цепей аминокислот белков позволяет улучшить необходимые характеристики белковых аэрогелей [21–23]. Многочисленные исследования показали, что внутренние свойства аэрогелей зависят от конкретного типа белка [21, 24–26].

В случае глобулярных белков механизм образования геля основан на том, что в результате физического или химического воздействия (нагревания, обработки кислотой или щелочью) происходит их необратимая денатурация. Основные стадии образования геля — изменение конформации и образование дисульфидных связей; при этом недоступные тиоловые группы становятся открытыми и активируются, а затем воздействуют на гидрофобные группы.

Следующая стадия процесса получения аэрогелей после образования геля — постепенная замена водного растворителя на спирт. Из литературы [27] известно, что при использовании воды как растворителя во время сушки в среде сверхкритического (СК) флюида аэрогели дают сильную усадку, причиной которой в данном случае является то, что вода ограниченно смешивается с СК-флюидом. Это приводит к появлению границы раздела фаз и росту капиллярного давления в порах. В результате поры схлопываются, что ведет к изменению внутренней структуры геля и уменьшению удельной площади поверхности. В работе [27] были проведены опыты по оценке влияния 15 различных растворителей на усадку гелей в ходе процесса при одноэтапной замене растворителя с последующей СК-сушкой. Показано, что только шесть образцов (с метанолом, ДМСО, глицерином, пропиленгликолем, этиленгликолем и ДМФА) показали усадку меньше 90 %; при использовании многоступенчатой замены растворителя усадка снижается. Поэтому при получении аэрогелей эффективнее использовать ступенчатую замену растворителя.

Заключительной стадией является СК-сушка гелей — процесс удаления растворителя из пор геля СК-флюидом с последующим испарением последнего. Таким способом достигается сохранение развитой внутренней структуры аэрогеля.

За последние несколько лет органические аэрогели показали большие перспективы в качестве создания систем доставки лекарственных средств, например активных фармацевтических ингредиентов (АФИ). Благодаря таким свойствам, как высокая биосовместимость, хорошая биоразлагаемость и простота модификации, биополимерные аэрогели широко исследуются для применения в медицине, тканевой инженерии и фармацевтике [3, 28, 29] в качестве биосенсоров, противомикробных агентов, стабилизаторов, систем доставки лекарств с контролируемым высвобождением [30—32]. Благодаря высокой пористости и большой удельной площади поверхности частицы аэрогелей с активным веществом могут использоваться для перорального, назального и легочного применения [4, 33—35]. В литературе описаны исследования, отражающие улучшение кинетики растворения препаратов, внедренных в аэрогели [4, 33], что значительно увеличивает биодоступность лекарств, а также обеспечивает их контролируемую доставку [4, 36, 37].

Назальный путь обеспечивает быстрое начало терапевтического эффекта, возможность доставки в центральную нервную систему, предотвращение метаболизма первого прохода и простой способ введения лекарств, что особенно важно, если человек находится в бессознательном состоянии [38]. Вероятно, наиболее многообещающим подходом для улучшения всасывания назальной формы лекарственного средства является использование усилителей проницаемости и мукоадгезивных систем доставки лекарств. Они могут обеспечить длительный контакт между лекарственной формой и абсорбирующими участками в полости носа, сдерживая механизм защиты слизистой оболочки органов дыхания. Хитозан широко исследуется в качестве вспомогательного средства в назальных системах доставки лекарств главным образом благодаря его мукоадгезивным и усиливающим проницаемость свойствам [39].

Внедрение активных веществ в биополимерные аэрогели может происходить на разных стадиях процесса получения аэрогелей: на стадии приготовления раствора полимера, на стадии образования геля, на стадии замены растворителя, во время СК-сушки и в готовый аэрогель [40—44]. Для внедрения активного вещества в готовые аэрогели используют СК-адсорбцию или сорбцию из раствора [37, 45, 46]. Некоторые способы введения активного вещества в матрицу полимерного аэрогеля представлены на рис. 1 (см. цв. вкладку).

В исследовании [37] показано, что на количество введенного в аэрогель АФИ при получении композиций влияют площадь поверхности, объем и средний диаметр пор. Так, высокие значения удельной площади поверхности позволяют большему количеству АФИ адсорбироваться внутри пор, а преобладание мезопор (2—50 нм) в структуре аэрогеля предположительно минимизирует появление кристаллических форм АФИ [4, 45]. Получение АФИ преимущественно в аморфном состоянии улучшает фармакокинетические свойства композиции «аэрогель — АФИ», так как при растворении аморфного вещества не затрачивается энергия и время на разрушение кристаллической решетки [4].

На настоящий момент в литературе не представлено исчерпывающих данных о разработке и использовании хитозановых и белковых аэрогелей в качестве назальных систем доставки АФИ. Таким образом, цель данного исследования — разработка фармацевтических композиций «биополимерный аэрогель — АФИ», реализующих механизм «Nose-to-Brain» («из носа в мозг»), и оценка их эффективности *in vivo*.

Вкладка к статье Н.В. Меньшутинной, А.А. Уваровой, М.С. Мочаловой, Д.Д. Ловской, П.Ю. Цыганкова, О.И. Гуриной, Е.А. Зубкова, О.В. Абрамовой «Биополимерные аэрогели как назальные системы доставки лекарств»

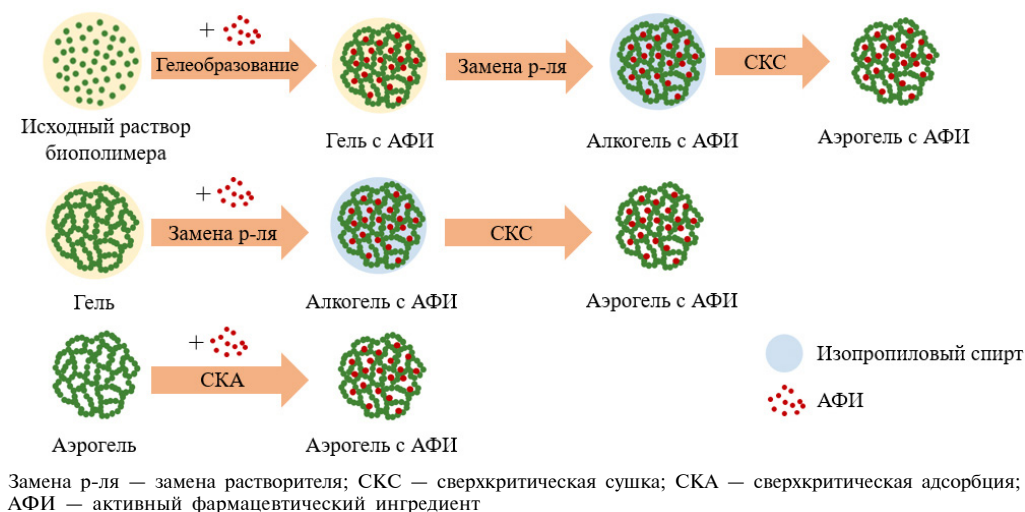


Рис. 1. Способы введения активного вещества в матрицу полимерного аэрогеля: *a* — на стадии образования геля; *b* — на стадии замены растворителя; *в* — в процессе сверхкритической адсорбции

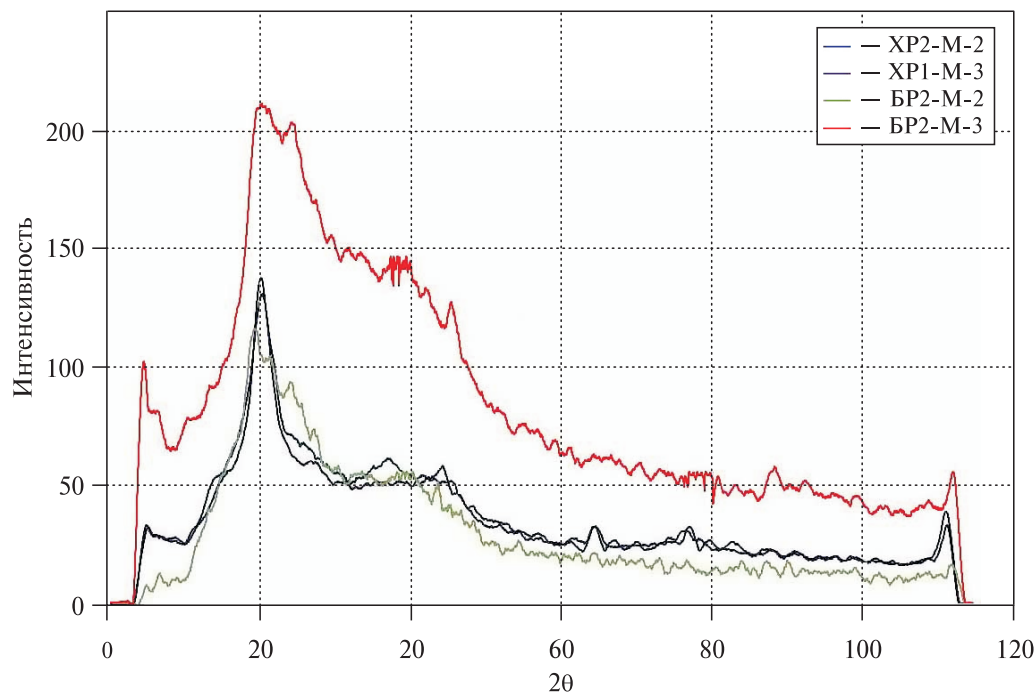


Рис. 8. Дифрактограммы фармацевтических композиций «биополимерный аэрогель— мелатонин»

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы и материалы

Для получения хитозановых аэрогелей использовали кислоторастворимый хитозан с молекулярной массой 111 кДа (Sigma Aldrich, США). Для приготовления кислого раствора брали ледяную уксусную кислоту (х.ч., РусХим). Сшивающий агент — гидроксид натрия (х.ч., РусХим). Растворители — деионизированная вода (Ravenol) и изопропиловый спирт (>99,8 мас. %, РусХим).

Для получения белковых аэрогелей использовали яичный сухой ферментированный белок (массовая доля белка 85 %, Роскар). Соляную кислоту (х.ч., РусХим) и гидроксид натрия использовали для корректирования значения pH раствора белка. Для получения масляной эмульсии белка брали подсолнечное масло (рафинированное дезодорированное).

В процессе СК-сушки применяли диоксид углерода (в.ч., марка 4.0, НИИ КМ).

Для получения композиции «биополимерный аэрогель — АФИ» использовали порошок мелатонина (> 98 %, Sigma) и этанол (96,5 %, РусХим), для определения количества введенного в аэрогель вещества — ацетонитрил (>99,5 %, Sigma Aldrich), тетраметилэтилендиамин (Sigma Aldrich), триэтиламин (Sigma Aldrich); значение pH корректировали раствором уксусной кислоты (РусХим).

Для реализации процесса получения частиц геля хитозана и яичного белка использовали установку, принципиальная схема которой представлена на рис. 2.

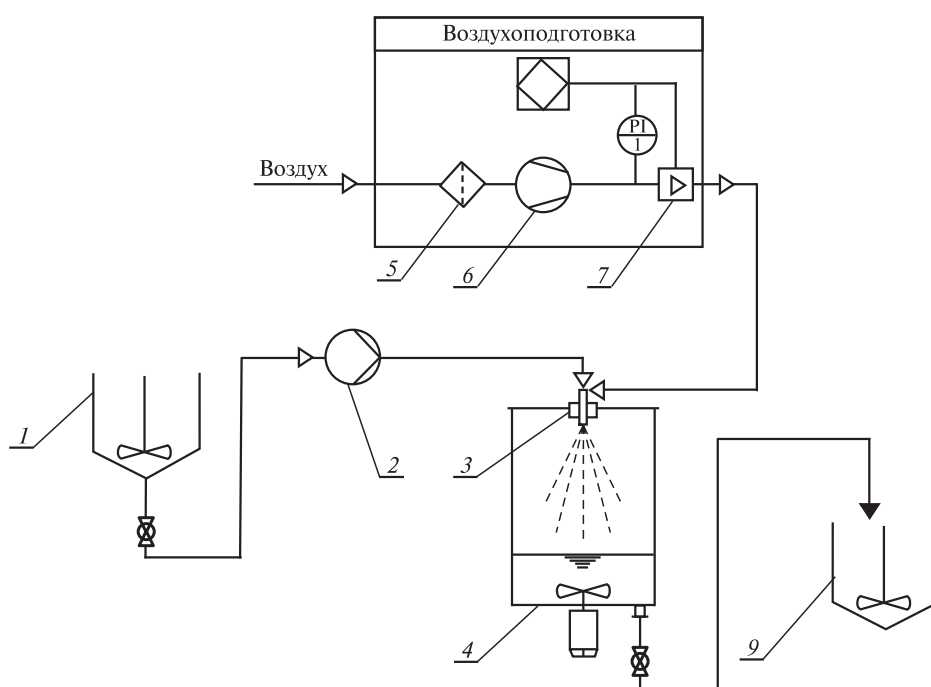


Рис. 2. Схема установки для получения частиц геля на основе хитозана путем распыления: 1, 4, 9 — приемные емкости с перемешивающим устройством; 2 — перистальтический насос; 3 — форсунка; 5 — воздушный фильтр; 6 — компрессор; 7 — вихревой расходомер; 8 — контроллер; PI1 — датчик давления

Для процесса распыления была выбрана пневматическая форсунка производителя Glatt GmbH с диаметром внутреннего отверстия 0,5 мм. Ее выбор обусловлен возможностью использования для распыления относительно вязких жидкостей, к которым относится исходный раствор хитозана. Кроме того, она позволяет формировать мелкодисперсные капли жидкости со средним диаметром 50—200 мкм, что дает возможность получать частицы геля в необходимом диапазоне размеров.

Процесс получения микрочастиц геля на основе хитозана

Исходный раствор хитозана (1 мас. %) подготавливали в приемной емкости 1 в слабокислом растворе уксусной кислоты (0,1 и 0,2 М — образцы ХР1 и ХР2, соответственно). На данной стадии возможно добавление стороннего полимера для модификации поверхности аэрогеля (в данном случае — триблоскополимера полиэтиленоксида и пропиленоксида «плюроник 123» в количестве 0,05 % для образца ХР2).

После загрузки раствора в емкость 1 на емкость 4 устанавливали крышку с встроенной пневматической форсункой 3. К форсунке подсоединяли линии подачи раствора хитозана из емкости 1 с помощью перистальтического насоса 2 и воздуха из системы воздухоподготовки, которая включает воздушный фильтр 5, компрессор 6, датчик давления Р11, вихревой расходомер 7 и контроллер 8. Для начала процесса распыления включали подачу воздуха на форсунку и перистальтический насос 2 для подачи исходного раствора хитозана. Расход жидкости в ходе каждого эксперимента варьировали так, чтобы получить стабильный факел распыла «полный конус» для мелкодисперсного распыления, что обеспечивает равномерное формирование капель в растворе. При попадании капель в раствор сшивающего агента (1М раствор NaOH) происходит формирование частиц геля. Для предотвращения агломерации получаемых частиц в приемной емкости 4 организовано перемешивание с использованием магнитной мешалки. Избыточное давление на форсунке составляет 0,01 МПа.

После распыления всего раствора хитозана смесь частиц в растворе NaOH переносили из приемной емкости 4 в емкость 9, где при медленном перемешивании выдерживали в течение 24 ч для полного завершения химических реакций.

Далее полученные частицы отмывали до нейтрального значения pH. Для упрощения процессов отмывки и замены растворителя, частицы геля на основе хитозана осаждали с использованием лабораторной центрифуги Sigma 2-16P в течение 5 мин при скорости 4000—8000 об./мин. Следующая стадия — ступенчатая замена воды на изопропиловый спирт с пошаговым увеличением его концентрации в последовательности (мас. %): 10, 30, 60, 90, 100, 100. Пошаговая замена растворителя необходима для того, чтобы сохранить изначальную структуру геля, избежав усадки и разрушения структуры геля, которые негативно сказываются на качестве материала.

Заключительным этапом получения частиц аэрогелей на основе хитозана путем распыления является СК-сушка.

Процесс получения микрочастиц геля на основе белка

Основные этапы получения аэрогелей на основе яичного белка путем распыления: приготовление исходного раствора белка (для образцов БР1 и БР2 концентрация белка составляла 15 и 20 мас. %, соответственно), распыление исходного раствора белка в масло, пошаговая замена растворителя на изопропиловый спирт,

сверхкритическая сушка. Навеску яичного белка растворяли в деионизированной воде с использованием лопастной мешалки. Полученный раствор доводили до нейтрального значения pH и выдерживали 24 ч при 5 °С до полного растворения.

Для получения частиц геля использовали установку, схема которой изображена на рис. 2. Процесс распыления проводили аналогично описанному выше для процесса получения частиц геля на основе хитозана. Исходный раствор белка распыляли в подсолнечное масло, нагретое до температуры 90 °. При контакте капле раствора белка с маслом происходит формирование частиц геля за счет термической денатурации белка. Частицы геля выдерживали в масле при температуре 90 °С в течение 10 мин при интенсивном перемешивании для завершения образования частиц геля и предотвращения агломерации частиц.

Затем проводили ступенчатую замену растворителя на изопропиловый спирт (10, 30, 50, 70, 90, 100, 100 мас. %). Для упрощения процесса замены растворителя частицы геля на основе белка осаждали с использованием лабораторной центрифуги Sigma 2-16P в течение 5 мин при скорости 4000–8000 об/мин. Заключительный этап получения аэрогеля на основе белка — СК-сушка.

Процесс сверхкритической сушки

Заключительная стадия получения микрочастиц аэрогеля на основе хитозана — сверхкритическая сушка (СКС), которая проводится по методике, описанной в работе [33]. В данной работе СКС производили на установке, принципиальная схема которой представлена на рис. 3.

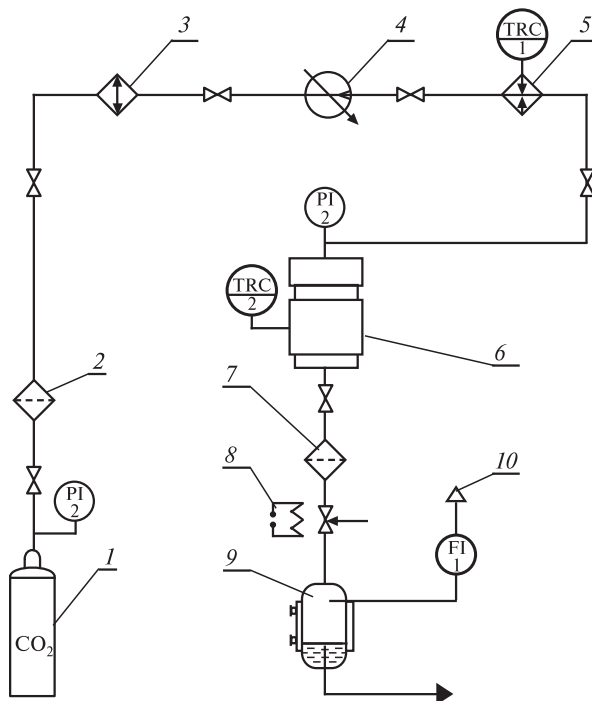


Рис. 3. Принципиальная схема установки сверхкритической сушки:

1 — баллон с диоксидом углерода; 2, 7 — фильтры; 3 — конденсатор; 4 — регулируемый насос; 5 — термостат; 6 — аппарат высокого давления (объем 250 мл); 8 — нагревательный элемент; 9 — сепаратор; 10 — выход в атмосферу; TC1, TC2 — регуляторы температуры; PI1, PI2 — манометры; FI1 — ротаметр

Полученные микрочастицы геля загружали в конверты из фильтровальной бумаги, которые помещали в аппарат высокого давления. После этого аппарат герметизировали, нагревали до 40 °С и подавали жидкий диоксид углерода, расход которого (0,2 кг/ч) контролировали кориолисовым расходомером, до достижения давления 12 МПа. В течение 1 ч происходит полное вытеснение растворителя из свободного объема аппарата. Следующий этап — диффузионное замещение растворителя в порах геля на СК-диоксид углерода, которое проходит в течение 6 ч при 40 °С и давлении 12 МПа. После окончания процесса подачу диоксида углерода останавливали и сбрасывали давление со скоростью) 0,4 МПа/мин. По достижению атмосферного давления аппарат разгерметизировали и извлекали полученные образцы аэрогелей.

Получение фармацевтических композиций «биополимерный аэрогель — мелатонин»

Введение мелатонина в аэрогель методом сверхкритической адсорбции

Основное преимущество метода СК-адсорбции — то, что АФИ при растворении в СК-флюиде диффундирует в структуру аэрогеля, а затем сорбируется преимущественно в аморфном состоянии. Поскольку мелатонин имеет достаточно низкую растворимость в диоксиде углерода, для ее увеличения в систему «аэрогель — диоксид углерода — АФИ» был добавлен соразтворитель, в качестве которого был выбран этанол (ввиду его высокой растворимости в СК-СО₂ и высокой растворимости мелатонина в этаноле). Концентрацию этанола варьировали в пределах 0,5–5 мас. %.

Схема установки для проведения СК-адсорбции представлена на рис. 4. Перед началом процесса подготавливали навески аэрогеля, мелатонина и соразтворителя. Массу активного вещества рассчитывали так, чтобы его количество было в избытке для достижения предельной величины адсорбции и создания внутри аппарата соответствующей равновесной концентрации во

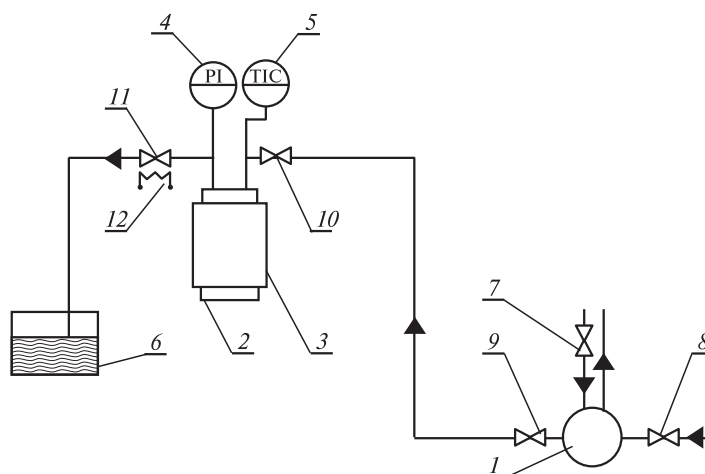


Рис. 4. Принципиальная схема установки для проведения сверхкритической адсорбции: 1 — жидкостный мембранный насос; 2 — реактор высокого давления; 3 — нагревательная рубашка; 4 — манометр; 5 — регулятор температуры; 6 — емкость для сбора вещества; 7 — запорный вентиль охлаждения насоса; 8, 9 — запорные вентили насоса; 10 — вентиль на входе в реактор; 11 — вентиль на выходе из реактора; 12 — нагревательный элемент

всем диапазоне исследуемых параметров. Навески в отдельных специальных конвертах взвешивали и помещали в аппарат высокого давления 2. После этого аппарат нагревали до 60 °С и в него подавали медленный ток сжиженного диоксида углерода. После достижения заданного давления 20 МПа ячейку герметизировали и выдерживали в течение 48 ч для достижения адсорбционного равновесия. После окончания процесса давление в аппарате медленно (с расходом 20—30 н. л/ч) сбрасывали до атмосферного, реактор разгерметизировали, образцы выгружали и взвешивали.

Введение мелатонина на стадии замены растворителя

Для проведения данного эксперимента был взят заданный объем частиц геля биополимера в 100 мас. % изопропиловом спирте (соотношение гель : изопропанол = 2 : 1). Предварительно частицы центрифугировали в течение 5 мин со скоростью 5000 об/мин. Навеску мелатонина растворяли в изопропиловом спирте (соотношение мелатонин/изопропанол — 1 : 23) и полученный раствор добавляли к частицам геля биополимера. Для полного растворения АФИ в растворителе перемешивание проводили на шейкере в течение 24 ч. После этого осуществляли процесс СК-сушки описанным выше методом.

Физико-химические исследования материалов

Исследование морфологии и определение истинной плотности полученных материалов проводили в Центре коллективного пользования РХТУ имени Д.И. Менделеева. Морфологию полученных образцов исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием электронного микроскопа JEOL 1610LV. Истинную плотность микрочастиц аэрогелей $\rho_{\text{ист.}}$ определяли пикнометрическим методом на гелиевом пикнометре «AccuPyc II 1340» (Micromeritics).

Насыпную плотность слоя $\rho_{\text{нас.}}$ определяли как отношение массы образца к объему его слоя. Кажущуюся плотность микрочастиц вычисляли по формуле:

$$\rho_{\text{каж.}} = \rho_{\text{нас.}} / (1 - \chi), \quad (1)$$

где χ — порозность слоя, принятая равной 0,4 [47].

Пористость образца (Π) рассчитывали, исходя из определенных величин истинной и кажущейся плотностей образцов по формуле [48]:

$$\Pi = (1 - \rho_{\text{каж.}} / \rho_{\text{ист.}}) \cdot 100 \%. \quad (2)$$

Удельную площадь поверхности, объем и средний диаметр пор образцов определяли методами Брунауэра—Эммета—Теллера и Баррета—Джойнера—Халенды, соответственно, по изотермам адсорбции азота, полученным на приборе Quantachrome Nova 2200e.

Распределение микрочастиц геля по размерам определяли по результатам измерений на лазерном дифрактометре «Analysette 22 Nano Тес». Среднечисленный диаметр $D_{\text{ср.}}$, соответствующий диаметру частиц такой монодисперсной системы, у которой при том же числе частиц одинаковая сумма диаметров, что и в данной дисперсной системе [49], рассчитывали из интегральных кривых распределения микрочастиц по размерам по формуле:

$$D_{\text{ср.}} = \sum_j f_{n_j} d_j, \quad (3)$$

где $f_{n_i} = n_i / \sum_j n_j$ — численная доля i -ой фракции.

Аэродинамический диаметр $D_{\text{аэро}}$ рассчитывается по формуле [50]

$$D_{\text{аэро}} = (\rho_{\text{каж.}}/\rho_1)^{0,5} \cdot D_{\text{ср.}}, \quad (4)$$

где ρ_1 — плотность сферической частицы, которая под действием гравитации падает с той же скоростью, что и рассматриваемая частица (равна 1 г/см^3).

Частицы, имеющие одинаковый $D_{\text{аэро}}$, могут иметь разные размеры и формы. Концепция аэродинамического диаметра учитывает форму и плотность частиц и успешно отражает аэродинамическое поведение частиц в воздухе и во многих других средах. Однако поведение несферических частиц в сдвиговых потоках не может быть должным образом охарактеризовано с использованием этой концепции из-за их сложных вращательных и поступательных движений, не учитываемых при движении сферических частиц. Поэтому результаты измерения и прогнозирования осаждения с использованием величин $D_{\text{аэро}}$ для несферических частиц будут усредненными, что обусловлено их сложным поведением в турбулентном потоке.

Количество введенного в аэрогели мелатонина определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) по ранее описанной методике [51]. Мелатонин предварительно вымывали из пор аэрогеля, для чего навеску образца помещали в заданный объем элюента (вода : ацетонитрил = 60 : 40 по объему). После перемешивания в течение 24 ч раствор АФИ отделяли от частиц аэрогеля центрифугированием в течение 10 мин при скорости 8000 об/мин и отфильтровывали.

Анализ раствора АФИ методом ВЭЖХ в изократическом режиме проводили на хроматографе «Agilent 1220 Infinity LC», оснащенном насосом (до 60,0 МПа), ручным инжектором, колонкой Zorbax Eclipse plus C18 (размер частиц неподвижной фазы 5 мкм) и УФ-детектором с переменной длиной волны.

Пример хроматограммы представлен на рис. 5. Массовое содержание АФИ в композите ω рассчитывали с учетом калибровочной кривой (зависимость

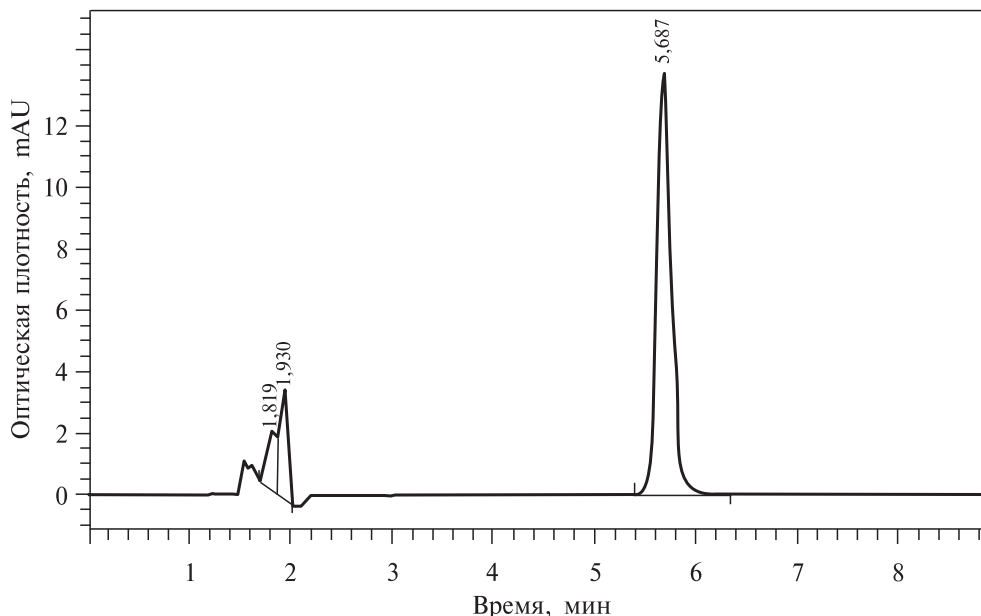


Рис. 5. Хроматограмма мелатонина: правый пик — мелатонин

площади пика мелатонина от его массы в единице объема калибровочного раствора) по формуле:

$$\omega = m_{\text{АФИ}} / (m_{\text{аэрогель}} + m_{\text{АФИ}}) \cdot 100 \%. \quad (5)$$

Фазовый состав полученных фармацевтических композиций «биополимерный аэрогель — АФИ» определяли на порошковом рентгеновском дифрактометре «InelEquinox 2000» в геометрии Брэгга—Брентано с переменными механизированными щелями, никелевым фильтром и позиционно-чувствительным детектором LynxEye.

Экспериментальные исследования *in vivo*

Животные

В эксперименте были использовали крысы-самцы породы вистар из питомника лабораторных животных (Пушино, РАН, Московская обл.) в возрасте 2 месяцев (200—250 г). Все животные содержались при постоянной температуре (23 °С) с контролируемым прямым освещением (12 ч в освещении/12 ч в темноте) и имели свободный доступ к воде и пище. Животных содержали индивидуально в прозрачных клетках из поликарбоната (42×26×15 см). Условия содержания и все экспериментальные процедуры были созданы и поддерживались в соответствии с Директивой 2010/63/EU от 22 сентября 2010 г. и одобрены местным этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского. В рамках экспериментальных исследований было задействовано 24 особи.

Интраназальное введение

фармацевтических композиций «биополимерный аэрогель — АФИ»

Фармацевтическую композицию «биополимерный аэрогель — АФИ» взвешивали для каждой крысы перед ее введением животному. Композиции помещали в конусообразный наконечник, который соединяли с устройством подачи сжатого воздуха. Стандартная доза была разделена на две части: одну половину вводили в правую ноздрю крысы, а другую — в левую. Далее через строго заданные отрезки времени (0,5 ч, 1 ч, 1,5 ч) проводили отбор пробы крови из хвостовой вены и тканей головного мозга.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изображения образцов хитозановых и белковых аэрогелей, полученные методом сканирующей электронной микроскопии (см. рис. 6—7), показали, что вне зависимости от биополимера полученные микрочастицы аэрогеля обладают развитой морфологией поверхности. Структура полученных микрочастиц представляет собой трехмерную сеть из взаимосвязанных фибрилл и глобул хитозана.

Структура белковых аэрогелей образована трехмерной сетью взаимосвязанных глобул. Следует отметить, что образец БР2 имеет глобулы большего размера, что связано с более высокой концентрацией белка.

Результаты определения характеристик биополимерных аэрогелей представлены в табл. 1.

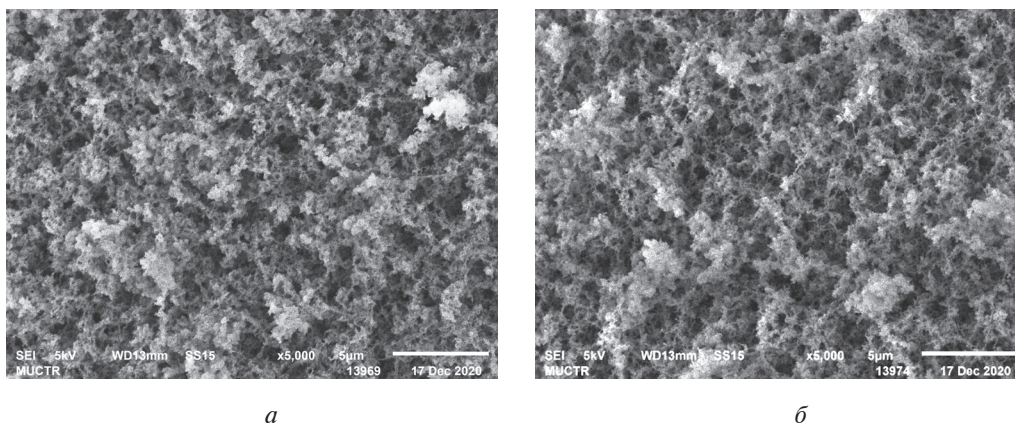


Рис. 6. Изображения образцов, полученные методом сканирующей электронной микроскопии:

a – XP1; *б* – XP2

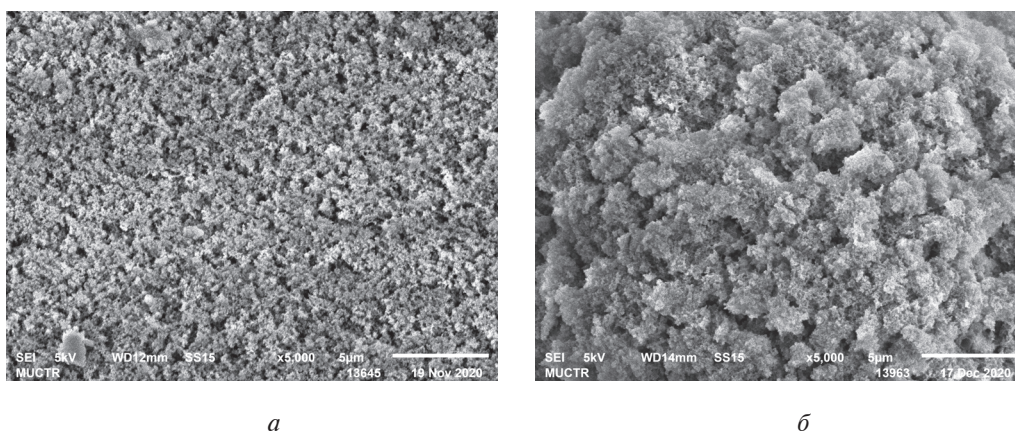


Рис. 7. Изображения образцов, полученные методом сканирующей электронной микроскопии:

a – BP1; *б* – BP2

Таблица 1

Характеристики микрочастиц биополимерных аэрогелей

№ образца	$S_{уд.}^*$, м ² /г	$V_{пор}^{**}$, см ³ /г	$D_{пор}$, нм	$\rho_{нас.}$, г/см ³	$\rho_{ист.}$, г/см ³	$\rho_{каж.}$, г/см ³	П, %	$D_{ср}$, мкм	$D_{АЭРО}$, мкм
XP1	250 ± 2	1,5 ± 0,05	24	0,017 ± 0,001	2,05 ± 0,05	0,03	99	295	50
XP2	253 ± 2	1,5 ± 0,08	24	0,017 ± 0,001	2,37 ± 0,07	0,03	99	296	51
BP1	346 ± 2	2,9 ± 0,05	34	0,220 ± 0,002	1,43 ± 0,03	0,13	91	148	64
BP2	310 ± 2	2,1 ± 0,07	28	0,120 ± 0,001	1,79 ± 0,05	0,13	93	192	86

*По уравнению Брунауэра—Эммета—Теллера;

**По методу Баррета—Джойнера—Халенды.

Полученные аэрогели характеризуются высокими значениями удельной площади поверхности (250—346 м²/г), большим объемом пор (1,5—2,9 см³/г) и средним диаметром пор от 24 до 34 нм. Эти характеристики создают условия для адсорбции АФИ, что является важным фактором при использовании полученных аэрогелей в качестве матрицы-носителя. Стоит отметить, что аэрогели на основе яичного белка имели бóльшую удельную площадь поверхности и средний диаметр пор, чем аэрогели на основе хитозана. Это может быть связано с большим количеством мезопор у белковых аэрогелей.

Значения насыпной плотности белковых аэрогелей значительно превышают значения хитозановых аэрогелей. Данное явление обусловлено тем, что белковые аэрогели имеют меньшую пористость.

В различных регламентирующих документах аэродинамический диаметр частиц прописан как один из основных показателей для назальных спреев и аэрозолей, в том числе в Рекомендациях Коллегии Евразийской экономической комиссии («Руководство по качеству лекарственных препаратов для ингаляций и назальных лекарственных препаратов»), в Фармакопее РФ («ОФС.1.4.1.0002.15 Аэрозоли и спреи») и других. По этой причине аэродинамический диаметр частиц был выбран в качестве характеризующей величины.

Полученные значения аэродинамического диаметра лежат в диапазоне от 50 до 86 мкм. У белковых аэрогелей они выше, чем у хитозановых, что может быть связано с различием в пористости. Однако все полученные значения лежат в допустимых диапазонах (от 50 до 100 мкм) для попадания в обонятельную область носовой полости.

Таким образом, все полученные образцы могут быть использованы в качестве матриц-носителей АФИ. Полученные значения аэродинамического диаметра позволяют использовать разрабатываемые фармацевтические композиции в составе спреев для интраназальной доставки АФИ, в том числе в мозг по механизму «Nose-to-Brain» («из носа в мозг»).

Исследование композиций «биополимерный аэрогель — АФИ»

Результаты определения содержания мелатонина в биополимерных аэрогелях представлены в табл. 2.

Полученные результаты показали, что при введении мелатонина методом СК-адсорбции увеличение концентрации соразтворителя (этанола) с 0,5 до 5 приводит к повышению содержания АФИ в фармацевтических композициях в среднем на 2,5 %. Данный эффект связан с увеличением растворимости мелатонина в СК-СО₂ в присутствии этанола и при увеличении его концентрации в системе. Однако введение АФИ в поры биополимерного аэрогеля на стадии замены растворителя показывает большую эффективность.

Полученные фармацевтические композиции, содержащие максимальное количество АФИ для каждого метода введения (ХР2-М-2, ХР1-М-3, БР2-М-2, БР2-М-3) были исследованы методом РФА. Полученные дифрактограммы представлены на рис. 8 (см. цв. вкладку).

На полученных дифрактограммах отсутствуют пики, соответствующие кристаллическому состоянию мелатонина. Таким образом, можно сделать вывод о том, что в образцах ХР2-М-2, ХР1-М-3, БР2-М-2, БР2-М-3 мелатонин находится в аморфном состоянии, что позволит увеличить скорость его растворения и биодоступность в носовой полости.

Таблица 2

Содержание мелатонина в биополимерных аэрогелях			
№ образца	Стадия внедрения АФИ	Концентрация соразтворителя, мас. %	ω , %
ХР1-М-1	Сверхкритическая адсорбция	0,5	2,9
ХР2-М-1			2,08
БР1-М-1			1,36
БР2-М-1			2,59
ХР1-М-2	Сверхкритическая адсорбция	5	6,30
ХР2-М-2			5,39
БР1-М-2			3,09
БР2-М-2			4,08
ХР1-М-3	Замена растворителя	—	21,12
ХР2-М-3			16,31
БР1-М-3			13,04
БР2-М-3			18,75

Результаты исследований *in vivo*

Фармацевтические композиции, содержащие максимальное количество мелатонина (ХР2-М-2 и БР2-М-3), были использованы в экспериментальных исследованиях на животных в Национальном медицинском исследовательском центре психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского для оценки перспективы применения микрочастиц биополимерных аэрогелей в качестве матриц-носителей АФИ.

Отобранные пробы биологических тканей и крови животных были проанализированы методом ВЭЖХ. Результаты исследований приведены на рис. 9–11. Они показывают, что концентрации мелатонина в гиппокампе,

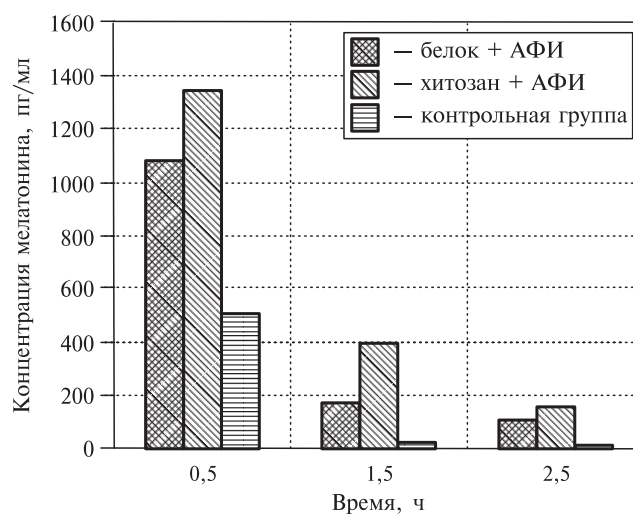


Рис. 9. Концентрация мелатонина в гиппокампе

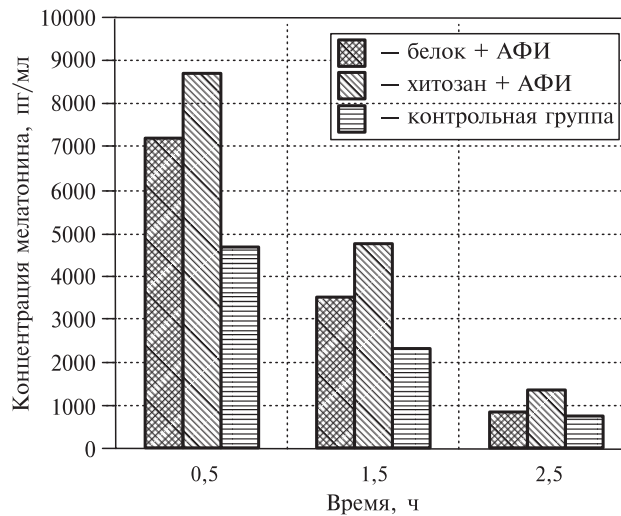


Рис. 10. Концентрация мелатонина во фронтальной коре

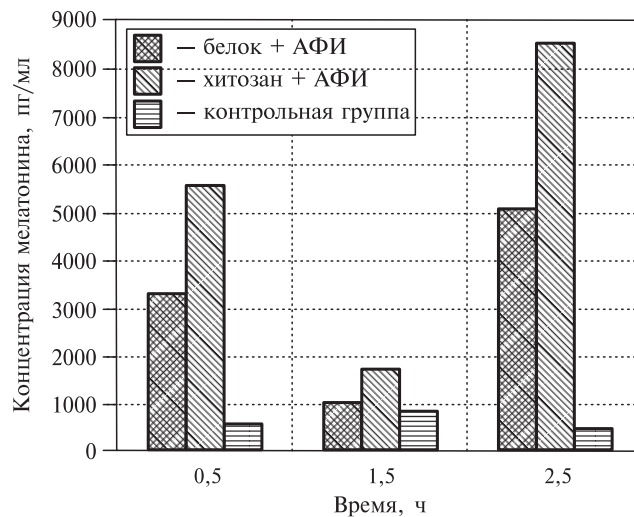


Рис. 11. Концентрация мелатонина в плазме

фронтальной коре и плазме крови значительно превышают значения контрольной группы, что позволяет сделать вывод о том, что полученные в рамках данного исследования матрицы-носители успешно достигли обонятельной области носовой полости. Пик концентрации мелатонина во фронтальной коре и гиппокампе достигается уже через 0,5 ч после введения фармацевтических композиций «биополимерный аэрогель — АФИ» интраназально. Считается, что, попадая в обонятельную полость носа через нейроны обонятельных рецепторов по механизму «Nose-To-Brain», АФИ проникает в головной мозг. Как только молекулы АФИ доставляются к местам прикрепления нервов в головном мозгу, они распределяются по всем его отделам и по всей центральной нервной системе за счет растворения и переноса интерстициальной жидкостью [52]. Движение АФИ из полости носа в головной мозг происходит как

по обонятельному, так и по тройничному нервам. Таким образом, можно предположить, что, попадая в обонятельную область носовой полости, АФИ десорбируется из частиц аэрогеля, растворяется в носовой жидкости, а далее по обонятельным нейронам проникает непосредственно в мозг животных.

Наличие резкого скачка концентрации в плазме крови спустя 2,5 ч после введения фармацевтических композиций, обусловлено тем, что фармацевтические композиции попали по носоглотке в желудок, в котором произошло дополнительное высвобождение АФИ.

Фармацевтическая композиция «хитозановый аэрогель — АФИ» демонстрирует более высокую эффективность по сравнению с композицией «белковый аэрогель — АФИ». Это связано с уникальными свойствами хитозана, который обладает свойствами мукоадгезивности и усиления мембранной проницаемости.

Таким образом, в рамках данного исследования были получены эффективные фармацевтические композиции «биополимерный аэрогель — АФИ», которые являются перспективными материалами для осуществления адресной доставки АФИ по механизму «Nose-To-Brain».

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Методом распыления через форсунку с последующей заменой растворителя и сверхкритической сушкой получены микрочастицы аэрогелей на основе хитозана и яичного белка различных составов. Все полученные аэрогели имеют низкую плотность (0,3—0,13 г/см³), высокую удельную площадь поверхности (250—346 м²/г), высокую пористость (до 99 %), большой объем пор (1,5—2,9 см³/г) и малый их диаметр (24—34 нм). Аэрогели на основе яичного белка имеют более высокую удельную площадь поверхности и низкие значения среднего диаметра пор по сравнению с хитозановыми аэрогелями, что может быть связано с особенностями термического образования частиц геля полученных материалов.

2. Проведены экспериментальные исследования по внедрению АФИ «мелатонин» в поры биополимерных аэрогелей на стадии замены растворителя и сверхкритической адсорбцией. В последнем случае для увеличения растворимости мелатонина в СК-СО₂ был добавлен соразтворитель — этанол в количестве 0,5 и 5 мас. %. При увеличении концентрации соразтворителя в системе содержание мелатонина в биополимерных аэрогелях увеличивается, что связано с повышением его растворимости в присутствии соразтворителя. Однако при введении мелатонина на стадии замены растворителя было достигнуто более высокое его содержание в композициях «аэрогель — АФИ», т.е. этот метод оказался более эффективным. Показано, что хитозановый аэрогель имеет большее сродство к мелатонину по сравнению с белковым.

3. Полученные методом рентгенофазового анализа дифрактограммы фармацевтических композиций с наибольшим содержанием мелатонина для каждого метода его введения показывают, что в порах белковых и хитозановых аэрогелей АФИ присутствует преимущественно в аморфной форме. Это должно значительно повысить скорость его растворения в носовой полости и биодоступность.

4. Экспериментальные исследования *in vivo* на лабораторных животных (крысах) в НИИЦ имени В.П. Сербского показали, что пик концентрации

АФИ в тканях мозга достигается уже через 30 мин после интраназального введения фармацевтических композиций «биополимерный аэрогель — мелатонин» и значительно превышает показатели контрольной группы. Концентрация АФИ в крови и тканях головного мозга после введения хитозанового аэрогеля выше во всех проведенных экспериментах, на основании чего сделан вывод о более высокой эффективности этого аэрогеля по сравнению с белковым в качестве матрицы-носителя АФИ.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации № 075-15-2020-792 (Уникальный идентификатор: RF—190220X0031).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Колнооченко А.В., Ершова А.Н., Гуриков П.А., Меньшутина Н.В. // Химическая промышленность сегодня. 2011. № 11. P. 31.
2. Stergar J., Uros M. // J Sol-Gel Sci Technol. 2016. Vol. 77. P. 740.
3. Sultankulov B., Berillo D., Sultankulova K., Tokay T., Saparov A. // Biomolecules. 2019. Vol. 9. No 9. P. 470.
4. Lovskaya D., Menshutina N. // Materials. 2020. Vol. 13. No 2. P. 319.
5. Меньшутина Н.В., Ловская Д.Д., Лебедев А.Е., Лебедев Е.А. // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. 2017. Т. 12. № 2. P. 35.
6. Lovskaya D., Menshutina N., Mochalova M., Nosov A., Grebenyuk A. // Polymers (Basel). 2020. Vol. 12. No 9. P. 2055.
7. Lebedev I., Uvarova A., Mochalova M., Menshutina N. // Computation. 2022. Vol. 10. № 8. P. 1.
8. Laffleur F., Bauer B. // Int. J. Pharm. 2021. Vol. 607. P. 3.
9. Fili povič-Grčić J., Hafner A. // Pharmaceutical Manufacturing Handbook: Production and Processes / Ed. Cox S, 2007. P. 657.
10. Witschi C., Mrsny R.J. // Pharm. Res. 1999. Vol. 16. No 3. P. 384.
11. Ugwoke M.I., Agu R.U., Vanbilooen H., Baetens J., Augustijns P., Verbeke N., Mortelmans L., Verbruggen A., Kinget R., Bogmans G. // J. Controlled Release. 2000. Vol. 68. No 2. P. 209.
12. Yahya E.B., Jumaat F., Amirul A.A., Adnan A.S., Olaiya N.G., Abdullah C.K., Rizal S., Mohamad Haafiz M.K., Abdul Khalil H.P.S. // Antibiotics (Basel). 2020. Vol. 9. No 10. P. 5.
13. Silvestre J., Delattre C., Michaud P., de Baynast H. // Polymers (Basel). 2021. Vol. 13. No 22. P. 1.
14. Mura P., Maestrelli F., Cirri M., Mennini N. // Mar Drugs. 2022. Vol. 20. No 5. P. 1.
15. Михайлов С.Н., Кульдеева Н.П. // Известия Уфимского Научного Центра РАН. 2018. Т. 3. № 2. P. 69.
16. Shi W., Ching Y.C., Chuah C.H. // Int. J. Biol. Macromol. 2021. Vol. 170. P. 753.
17. Ganesan K., Budtova T., Ratke L., Gurikov P., Baudron V., Prebisch I., Niemeyer P., Smirnova I., Milow B. // Materials. 2018. Vol. 11. No 11. P. 11.
18. Stie M.B., Corezzi M., Juncos Bombin A.D., Ajallouei F., Attrill E., Pagliara S., Jacobsen J., Chronakis I.S., Nielsen H.M., Fodera V. // ACS Appl Nano Mater. 2020. Vol. 3. No 2. P. 1914.
19. Akhmetova A., Lanno G.M., Kogermann K., Malmsten M., Rades T., Heinz A. // Pharmaceutics. 2020. Vol. 12. No 5. P. 3.
20. Alam A.K.M.M., Shubhra Q.T.H. // J. Mater. Chem. B. 2015. Vol. 3. No 31. P. 6475.
21. Kleemann C., Selmer I., Smirnova I., Kulozik U. // Food Hydrocoll. 2018. Vol. 83. P. 370.
22. Nyström G., Fong W.K., Mezzenga R. // Biomacromolecules. 2017. Vol. 18. No 9. P. 2861.
23. Betz M., Garcia-Gonzalez C.A., Subrahmanyam R.P., Smirnova I., Kulozik U. // J. Supercrit. Fluids. 2012. Vol. 72. P. 113.
24. Selmer I., Kleemann C., Kulozik U., Heinrich S., Smirnova I. // J. Supercrit. Fluids. 2015. Vol. 106. P. 42.

25. *Menshutina N.V., Lovskaya D.D., Bezchasnyuk A.N., Grigoryeva N.V.* // SGEM. Intern. Multidisciplinary Scientific Geoconference, 2019. Vol. 19. No 6.1. P. 461.
26. *Stie M.B., Kalouta K., Vetri V., Fodera V.* // J. Control. Release. 2022. Vol. 344. P. 15.
27. *Subrahmanyam R., Gurikov P., Dieringer P., Sun M., Smirnova I.* // Gels. 2015. Vol. 1. No 2. P. 294.
28. *Iglesias-Mejuto A., García-González C.A.* // Mater. Science and Engineering C. 2021. Vol. 131. P. 1.
29. *Baldino L., Concilio S., Cardea S., Reverchon E.* // Polymers (Basel). 2016. Vol. 8. No 4. P. 106.
30. *Smirnova I.* // Aerogels Handbook. New York : Springer. 2011. P. 701.
31. *Noman M.T., Amor N., Ali A., Petrik S., Coufal R., Adach K., Fijalkowski M.* // Gels. 2021. Vol. 7. No 4. P. 1.
32. *García-González C.A., Jin M., Gerth J., Alvarez-Lorenzo C., Smirnova I.* // Carbohydr Polym. 2015. Vol. 117. P. 799.
33. *Lovskaya D., Lebedev A., Menshutina N.* // J. Supercrit. Fluids. 2015. Vol. 106. P. 115.
34. *Nita L.E., Ghilan A., Rusu A.G., Neamtu I., Chiriac A.P.* // Pharmaceutics. 2020. Vol. 12. No 5. P. 1.
35. *López-Iglesias C., Casielles A.M., Altay A., Bettini R., Alvarez-Lorenzo C., García-González C.A.* // Chem. Engineering J. 2019. Vol. 357. P. 559.
36. *Ahmadi M., Madadlou A., Saboury A.A.* // Food Chem. 2016. Vol. 196. P. 1020.
37. *Smirnova I., Suttiruengwong S., Seiler M., Arlt W.* // Pharm. Dev. Technol. 2004. Vol. 9. No 4. P. 449.
38. *Mei D., Mao S., Sun W., Wang Y., Kissel T.* // European J. of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2008. Vol. 70. No 3. P. 876.
39. *Na L., Mao S., Wang J., Sun W.* // Int. J. Pharm. 2010. Vol. 397. No 1–2. P. 60.
40. *García-González C.A., Alnaief M., Smirnova I.* // Carbohydr Polym. 2011. Vol. 86. No 4. P. 1431.
41. *Mehling T., Smirnova I., Guenther U., Neubert R.H.H.* // J. Non Cryst. Solids. Elsevier B.V. 2009. Vol. 355. No 50–51. P. 2474.
42. *Veronovski A., Novak Z., Knez Ž.* // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 2012. Vol. 23. No 7. P. 880.
43. *Obaidat R., Tashtoush B.M., Bayan M.F., Bustami R.T., Alnaief M.* // AAPS PharmSciTech. 2015. Vol. 16. No 6. P. 1239.
44. *Ulker Z., Erkey C.* // J. Controlled Release. 2014. Vol. 177. P. 55.
45. *Gurikov P., Smirnova I.* // J. Supercrit. Fluids. 2018. Vol. 132. P. 115.
46. *García-González C.A., Sosnik A., Kalmar J., De Marco I., Erkey C., Concheiro A., Alvarez-Lorenzo C.* // J. Contr. Release. 2021. Vol. 332. P. 45.
47. *Propster M., Szekely J.* // Powder Technol. Elsevier. 1977. Vol. 17. No 1. P. 130.
48. *Rudaz C., Courson R., Bonnet L., Calas-Etienne S., Sallee H., Budtova T.* // Biomacromolecules. Am. Chem. Soc. 2014. Vol. 15. No 6. P. 2192.
49. *Гаврилова Н.Н., Назаров В.В., Яровая О.В.* Микроскопические методы определения размеров частиц дисперсных материалов / Ред. Р.Г. Чиркова. Москва: Издательский центр РХТУ имени Д.И. Менделеева, 2012. 12 с.
50. *Vanbever R., Mintzes J.D., Wang J., Nice J., Chen D., Batycky R., Langer R., Edwards D.A.* // Pharm. Res. Springer. 1999. Vol. 16. No 11. P. 1738.
51. *Filali S., Bergamelli C., Tall M.J., Salmon D., Laleye D., Dhelens C., Diouf E., Pivot C., Pirot F.* // J. Pharm. Anal. Elsevier. 2017. Vol. 7. No 4. P. 239.
52. *Agrawal M., Saraf Sw., Saraf Sh., Antimisiaris S., Chougule M.B., Shoyele SA., Alexander A.* // J. Contr. Release. Elsevier. 2018. Vol. 281. P. 155.

BIOPOLYMER AEROGELS AS NASAL DRUG DELIVERY SYSTEMS

N.V. Menshutina — Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia. ORCID 0000-0001-7806-1426. E-mail: chemcom@muctr.ru (*for correspondence*).

A.A. Uvarova — Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia. ORCID 0000-0003-4208-7063. E-mail: anastasia.uvarova2@yandex.ru

M.S. Mochalova — Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia. ORCID 0000-0003-1200-8125. E-mail: mochalovamarie@yandex.ru

D.D. Lovskaya — Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia. ORCID 0000-0002-8709-4139. E-mail: daria.lovskaya@gmail.com

P.Y. Tsygankov — Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow, Russia. ORCID 0000-0003-2630-3838. E-mail: pavel.yur.tsygankov@gmail.com

O.I. Gurina — V. Serbsky Federal Medical Research Centre of Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID 0000-0001-6942-5531. E-mail: olga672@yandex.ru

E.A. Zybkov — V. Serbsky Federal Medical Research Centre of Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID 0000-0001-6133-3421. E-mail: zubkov@ngs.ru

O.V. Abramova — V. Serbsky Federal Medical Research Centre of Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID 0000-0001-8793-1833. E-mail: abramova1128@gmail.com

Protein (egg white) and chitosan aerogel microparticles characterized by low density, developed morphology and high specific surface area, high porosity, large volume and small pore diameter, were obtained. Using the laser diffraction method, particle size distribution curves were obtained, from which the average number and aerodynamic diameters were calculated. The aerodynamic diameter of all obtained biopolymer aerogels lies in the range required for targeted delivery of active pharmaceutical ingredients (APIs) to the olfactory region of the nasal cavity. Experimental studies have been carried out on the introduction of API «melatonin» into the pores of biopolymer aerogels at the stages of solvent replacement and supercritical adsorption. Mass fractions of API in the resulting pharmaceutical compositions «biopolymer aerogel — API» were determined by high-performance liquid chromatography. X-ray powder diffraction showed that API in pharmaceutical compositions is present mainly in the amorphous state. The results of *in vivo* experimental studies showed that in the case of intranasal administration of both «biopolymer aerogel — API» compositions, the maximum concentration of API in brain tissues is reached after 30 minutes. This proves that the resulting biopolymer aerogels based on protein (egg white) and chitosan are promising for use as API carrier matrices in the development of nasal drug delivery systems.

Key words: supercritical drying, aerogel, chitosan, protein, pharmaceutical compositions, drug delivery systems.

ACKNOWLEDGMENTS

The work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation No 075-15-2020-792 (Unique identifier: RF-190220X0031).

REFERENCES

1. Kolnoochenko A.V., Ershova A.N., Gurikov P.A., Menshutina N.V. Aerogels — new promising materials // *Himicheskaya promyshlennost' segodnya*. 2011. No 11. P. 31.
2. Stergar J., Uros M. // *J Sol-Gel Sci Technol*. 2016. Vol. 77. P. 740.
3. Sultankulov B., Berillo D., Sultankulova K. Tokay T., Saparov A. // *Biomolecules*. 2019. Vol. 9. No 9. P. 470.
4. Lovskaya D., Menshutina N. // *Materials*. 2020. Vol. 13. No 2. P. 319.

5. *Menshutina N.V., Lovskaya D.D., Lebedev A.E., Lebedev E.A.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2017. V. 11. P. 1296.
6. *Lovskaya D., Menshutina N., Mochalova M., Nosov A., Grebenyuk A.* // Polymers (Basel). 2020. Vol. 12. No 9. P. 2055.
7. *Lebedev I., Uvarova A., Mochalova M., Menshutina N.* // Computation. 2022. Vol. 10. No 8. P. 1.
8. *Laffleur F., Bauer B.* // Int. J. Pharm. 2021. Vol. 607. P. 3.
9. *Fili pović-Grčić J., Hafner A.* // Pharmaceutical Manufacturing Handbook: Production and Processes / Ed. Cox S, 2007. P. 657.
10. *Witschi C., Mrsny R.J.* // Pharm. Res. 1999. Vol. 16. No 3. P. 384.
11. *Ugwoke M.I., Agu R.U., Vanbilooen H., Baetens J., Augustijns P., Verbeke N., Mortelmans L., Verbruggen A., Kinget R., Bogmans G.* // J. of Controlled Release. 2000. Vol. 68. No 2. P. 209.
12. *Yahya E.B., Jumaat F., Amirul A.A., Adnan A.S., Olaiya N.G., Abdullah C.K., Rizal S., Mohamad Haafiz M.K., Abdul Khalil H.P.S.* // Antibiotics (Basel). 2020. Vol. 9. No 10. P. 5.
13. *Silvestre J., Delattre C., Michaud P., de Baynast H.* // Polymers (Basel). 2021. Vol. 13. No 22. P. 1.
14. *Mura P., Maestrelli F., Cirri M., Mennini N.* // Mar Drugs. 2022. Vol. 20. No 5. P. 1.
15. *Mikhailov S.N., Kildeeva N.R.* // Izvestiya Ufimskogo Nauchnogo Centra RAN. 2018 Vol. 3, No 2. P. 69.
16. *Shi W., Ching Y.C., Chuah C.H.* // Int. J. Biol. Macromol. 2021. Vol. 170. P. 753.
17. *Ganesan K. Budtova T., Ratke L., Gurikov P., Baudron V., Prebisch I., Niemeyer P., Smirnova I., Milow B.* // Materials. 2018. Vol. 11. No 11. P. 11.
18. *Stie M.B., Corezzi M., Juncos Bombin A.D., Ajallouei F., Atrill E., Pagliara S., Jacobsen J., Chronakis I.S., Nielsen H.M., Fodera V.* // ACS Appl Nano Mater. 2020. Vol. 3. No 2. P. 1914.
19. *Akhmetova A., Lanno G.M., Kogermann K., Malmsten M., Rades T., Heinz A.* // Pharmaceutics. 2020. Vol. 12. No 5. P. 3.
20. *Alam A.K.M.M., Shubhra Q.T.H.* // J. Mater. Chem. B. 2015. Vol. 3. No 31. P. 6475.
21. *Kleemann C., Selmer I., Smirnova I., Kulozik U.* // Food Hydrocoll. 2018. Vol. 83. P. 370.
22. *Nyström G., Fong W.K., Mezzenga R.* // Biomacromolecules. 2017. Vol. 18. No 9. P. 2861.
23. *Betz M., Garcia-Gonzalez C.A., Subrahmanyam R.P., Smirnova I., Kulozik U.* // J. Supercrit. Fluids. 2012. Vol. 72. P. 113.
24. *Selmer I., Kleeman C., Kulozik U., Heinrich S., Smirnova I.* // J. Supercrit. Fluids. 2015. Vol. 106. P. 42.
25. *Menshutina N.V., Lovskaya D.D., Bezchasnyuk A.N., Grigoryeva N.V.* // SGEM. International Multidisciplinary Scientific Geoconference, 2019. Vol. 19. No 6.1. P. 461.
26. *Stie M.B., Kalouta K., Vetri V., Fodera V.* // J. Control. Release. 2022. Vol. 344. P. 15.
27. *Subrahmanyam R., Gurikov P., Dieringer P., Sun M., Smirnova I.* // Gels. 2015. Vol. 1. No 2. P. 294.
28. *Iglesias-Mejuto A., García-González C.A.* // Mater. Science and Engineering C. 2021. Vol. 131. P. 1.
29. *Baldino L., Concilio S., Cardea S., Reverchon E.* // Polymers (Basel). 2016. Vol. 8. No 4. P. 106.
30. *Smirnova I.* // Aerogels Handbook. New York : Springer. 2011. P. 701.
31. *Noman M.T., Amor N., Ali A., Petrik S., Coufal R., Adach K., Fijalkowski M.* // Gels. 2021. Vol. 7. No 4. P. 1.
32. *García-González C.A., Jin M., Gerth J., Alvarez-Lorenzo C., Smirnova I.* // Carbohydr Polym. 2015. Vol. 117. P. 799.
33. *Lovskaya D., Lebedev A., Menshutina N.* // J. Supercrit. Fluids. 2015. Vol. 106. P. 115.
34. *Nita L.E., Ghilan A., Rusu A.G., Neamtu I., Chiriac A.P.* // Pharmaceutics. 2020. Vol. 12. No 5. P. 1.
35. *López-Iglesias C., Casielles A.M., Altay A., Bettini R., Alvarez-Lorenzo C., García-González C.A.* // Chem. Engineering J. 2019. Vol. 357. P. 559.
36. *Ahmadi M., Madadlou A., Saboury A.A.* // Food Chem. 2016. Vol. 196. P. 1020.
37. *Smirnova I., Suttirungwong S., Seiler M., Arlt W.* // Pharm. Dev. Technol. 2004. Vol. 9. No 4. P. 449.
38. *Mei D., Mao S., Sun W., Wang Y., Kissel T.* // European J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2008. Vol. 70. No 3. P. 876.
39. *Na L., Mao S., Wang Jo, Sun W.* // Int. J. Pharm. 2010. Vol. 397. No 1–2. P. 60.

40. *García-González C.A., Alnaief M., Smirnova I.* // Carbohydr Polym. 2011. Vol. 86. No 4. P. 1431.
 41. *Mehling T., Smirnova I., Guenther U., Neubert R.H.H.* // J. Non Cryst. Solids. Elsevier B.V. 2009. Vol. 355. No 50—51. P. 2474.
 42. *Veronovski A., Novak Z., Knez Ž.* // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 2012. Vol. 23. No 7. P. 880.
 43. *Obaidat R., Tashtoush B.M., Bayan M.F., Bustami R.T., Alnaief M.* // AAPS PharmSciTech. 2015. Vol. 16. No 6. P. 1239.
 44. *Ulker Z., Erkey C.* // J. Controlled Release. 2014. Vol. 177. P. 55.
 45. *Gurikov P., Smirnova I.* // J. Supercrit. Fluids. 2018. Vol. 132. P. 115.
 46. *García-González C.A., Sosnik A., Kalmar J., De Marco I., Erkey C., Concheiro A., Alvarez-Lorenzo C.* // J. Contr. Release. 2021. Vol. 332. P. 45.
 47. *Propster M., Szekely J.* // Powder Technol. Elsevier. 1977. Vol. 17. No 1. P. 130.
 48. *Rudaz C., Courson R., Bonnet L., Calas-Etienne S., Sallee H., Budtova T.* // Biomacromolecules. Am. Chem. Soc. 2014. Vol. 15. No 6. P. 2192.
 49. *Gavrilova N.N., Nazarov V.V., Yarovaya O.V.* Microscopic methods for determining the particle size of dispersed materials / Ed. R.G. Chirkova. Moscow: Izdatel'skij centr RHTU im. D.I. Mendeleeva, 2012. 12 p.
 50. *Vanbever R., Mintzes J.D., Wang J., Nice J., Chen D., Batycky R., Langer R., Edwards D.A.* // Pharm. Res. Springer. 1999. Vol. 16. No 11. P. 1738.
 51. *Filali S., Bergamelli C., Tall M.J., Salmon D., Laleye D., Dhelens C., Diouf E., Pivot C., Pirot F.* // J. Pharm. Anal. Elsevier. 2017. Vol. 7. No 4. P. 239.
 52. *Agrawal M., Saraf Sw., Saraf Sh. Antimisiaris S., Chougule M.B., Shoyele SA., Alexander A.* // J. Contr. Release. Elsevier. 2018. Vol. 281. P. 155.
-
-