



УДК 615.03

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-3-1866>

Eudragit® EPO, модифицированный группами 4-фенилбороновой кислоты, как новый полимерный носитель с улучшенными мукоадгезивными свойствами

Д. С. Гордеева¹, Ш. Ф. Насибуллин¹, А. Г. Карпов¹, В. В. Хуторянский²✉, Р. И. Мустафин¹✉✉

¹ Институт фармации, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Казанский государственный медицинский университет Минздрава России. 420126, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Фатыха Амирхана, д. 16

² Reading School of Pharmacy, University of Reading. Whiteknights, PO box 224, Reading RG66AD, United Kingdom

✉ Контактное лицо: Хуторянский Виталий Викторович. E-mail: v.khutoryanskiy@reading.ac.uk

✉✉ Контактное лицо: Мустафин Руслан Ибрагимович. E-mail: ruslan.mustafin@kazangmu.ru

ORCID: Д. С. Гордеева – <https://orcid.org/0009-0000-8591-3121>;

Ш. Ф. Насибуллин – <https://orcid.org/0000-0002-7255-8041>;

А. Г. Карпов – <https://orcid.org/0009-0002-7391-907X>;

В. В. Хуторянский – <https://orcid.org/0000-0002-7221-2630>;

Р. И. Мустафин – <https://orcid.org/0000-0002-0916-2853>.

Статья поступила: 06.07.2024

Статья принята в печать: 29.08.2024

Статья опубликована: 30.08.2024

Резюме

Введение. Большой интерес в области фармацевтической технологии проявляют к полимерам, обладающим мукоадгезивными свойствами, так как они увеличивают время пребывания лекарства на поверхности слизистой и тем самым повышают биодоступность препарата. Существуют различные мукоадгезивные системы доставки: таблетки, пленки, гели, суспензии на основе микро- и наночастиц и др. Способность к адгезии зависит от вспомогательных веществ полимерной природы, а именно от их химической структуры. Большую роль играют молекулярная масса, поверхностный заряд, гибкость полимерной цепи и наличие различных функциональных групп. Соплимеры под торговым наименованием Eudragit®, производимые немецким концерном Evonik Nutrition & Care GmbH, применяются в фармацевтической промышленности на протяжении нескольких десятилетий для получения пероральных лекарственных форм с контролируемым высвобождением. Eudragit® EPO (EPO), тройной сополимер на основе метакрилатных мономеров, обладает мукоадгезивными свойствами за счет наличия в своей структуре диметиламино групп. Предлагаемая его химическая модификация с помощью производного фенилбороновой кислоты, ввиду наличия гидроксильных групп в ее структуре, приводит к дополнительному взаимодействию с олигосахаридами муцина, обеспечивая усиление мукоадгезивных свойств Eudragit® EPO.

Цель. Синтез и исследование химически модифицированной формы Eudragit® EPO с применением 4-бромфенилбороновой кислоты с целью повышения мукоадгезивных свойств сополимера для использования в трансмукозальных системах доставки лекарств.

Материалы и методы. Синтез химически модифицированного Eudragit® EPO (BEPO) проводили в течение 24 ч при температуре 50 °С с последующей очисткой методом диализа с применением диализной мембраны (ММО = 12–14 кДа; Medicell International Ltd., Великобритания) в течение 7 дней и дальнейшим лиофильным высушиванием при –50 °С и 0,05 мБар с применением Heto Power Dry LL 3000 (Thermo Electron Corporation, США) в течение 5 дней. Подтверждение образования химически модифицированной формы BEPO проводили методами ИК-спектроскопии на приборе Nicolet iS5 (Thermo Fisher Scientific, США) и ¹H-ЯМР-спектроскопии на приборе DPX 400 МГц (Bruker, Германия). Термогравиметрический анализ (ТГА) и модулированная дифференциальная сканирующая калориметрия (мДСК) проводились на приборах Discovery TGA™ и Discovery DSC™ (TA Instruments, США) соответственно. Изучение мукоадгезивных свойств проводилось по способности удерживания сополимера на изолированной слизистой носа овцы в течение 30 мин при температуре 37,0 ± 0,5 °С.

Результаты и обсуждение. Был получен BEPO со степенью замещения диметиламино групп фенилбороновой кислотой на 25 % (BEPO25) и 50 % (BEPO50). Выход BEPO25 составил 40,70 %, BEPO50 – 30,79 %. На ИК-спектрах BEPO появляются характеристические полосы в области 1605 см⁻¹, которые указывают на присоединение фенилбороновой кислоты к EPO. На ¹H-ЯМР-спектрах BEPO наблюдается образование дополнительных пиков в диапазоне 7,8 и 7,5 ppm, которые отсутствуют на спектре EPO и указывают на наличие фенилбороновой кислоты. Согласно данным ТГА, полученные

образцы модифицированного EPO характеризуются сопоставимой с исходным EPO термической стабильностью. Результаты анализа ДСК-термограмм свидетельствуют, что температуры стеклования (T_с) образцов BEPO несколько выше, чем исходного EPO, что может быть связано с уменьшением свободных диметиламино групп в составе терполимера. Образец BEPO50 удерживается на поверхности изолированной слизистой носа овцы в течение 30 мин, в то время как EPO смывается искусственной назальной жидкостью за 5 мин.

Заключение. Получение и исследование BEPO является перспективным направлением для дальнейшего использования в трансмукозальных системах доставки лекарств.

Ключевые слова: Eudragit® EPO, фенилбороновая кислота, интраназальная доставка, мукоадгезия, трансмукозальные системы доставки

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Д. С. Гордеева осуществляла синтез химически модифицированного сополимера, ИК- и ¹H-ЯМР-спектроскопию, обработку результатов и написание статьи. Ш. Ф. Насибуллин проводил ТГА- и ДСК-анализы. А. Г. Карпов проводил изучение мукоадгезивных свойств. В. В. Хуторянский и Р. И. Мустафин принимали участие в концептуализации и методологии настоящего исследования, а также осуществляли рецензирование и корректировку статьи. Статья была написана при участии всех вышеуказанных авторов.

Благодарность. Исследование было выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (научный проект № 23-15-00263). Также авторы выражают благодарность Правительству Республики Татарстан за предоставление гранта «Алгарыш» на научную стажировку Д. С. Гордеевой в Университете Рединга (Рединг, Великобритания), где была выполнена большая часть работы, и немецкой компании Evonik Nutrition & Care GmbH за предоставление образца Eudragit® EPO.

Для цитирования: Гордеева Д. С., Насибуллин Ш. Ф., Карпов А. Г., Хуторянский В. В., Мустафин Р. И. Eudragit® EPO, модифицированный группами 4-фенилбороновой кислоты, как новый полимерный носитель с улучшенными мукоадгезивными свойствами. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2024;13(3):93–102. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-3-1866>

Eudragit® EPO, modified with 4-phenylboronic acid groups, as a novel polymeric excipient with enhanced mucoadhesive properties

Daria S. Gordeeva¹, Shamil F. Nasibullin¹, Alexander G. Karpov¹, Vitaliy V. Khutoryanskiy²✉, Rouslan I. Moustafine¹✉✉

¹ Institute of Pharmacy, Kazan State Medical University. 16, Fatykhа Amirkhan str., Kazan, Republic of Tatarstan, 420126, Russia

² Reading School of Pharmacy, University of Reading. Whiteknights, PO box 224, Reading RG66AD, United Kingdom

✉ **Corresponding author:** Vitaliy V. Khutoryanskiy. **E-mail:** v.khutoryanskiy@reading.ac.uk

✉✉ **Corresponding author:** Rouslan I. Moustafine. **E-mail:** ruslan.mustafin@kazangmu.ru

ORCID: Daria S. Gordeeva – <https://orcid.org/0009-0000-8591-3121>;
Shamil F. Nasibullin – <https://orcid.org/0000-0002-7255-8041>;
Alexander G. Karpov – <https://orcid.org/0009-0002-7391-907X>;
Vitaliy V. Khutoryanskiy – <https://orcid.org/0000-0002-7221-2630>;
Rouslan I. Moustafine – <https://orcid.org/0000-0002-0916-2853>.

Received: 06.07.2024

Accepted: 29.08.2024

Published: 30.08.2024

Abstract

Introduction. In the pharmaceutical technology field there is great interest in polymers with mucoadhesive properties, as they increase the drug retention time on the mucosal surface and increase the bioavailability of the drug. There are various mucoadhesive drug delivery systems: tablets, films, gels, suspensions of micro- and nanoparticles, etc. The ability to adhesion depends on the excipients, especially on their chemical structure. Molecular weight, surface charge, flexibility of the polymer chain and the presence of various functional groups play an important role. Polymers under the trade name Eudragit®, produced by the German concern Evonik Nutrition & Care GmbH, have been used in the pharmaceutical field for several decades to produce controlled-release oral dosage forms. Eudragit® EPO (EPO) is a ternary copolymer based on methacrylic acid derivatives and has mucoadhesive properties due to the presence of dimethylamino groups in its structure. The proposed chemical modification of Eudragit® EPO with a phenylboronic acid derivative, due to the presence of hydroxyl groups in their structure, leads to additional interaction with mucin oligosaccharides, providing enhanced mucoadhesive properties of this polymer.

Aim. Synthesis and study of a chemically modified Eudragit® EPO using 4-bromophenylboronic acid in order to increase the mucoadhesive properties of the copolymer for use in transmucosal drug delivery systems.

Materials and methods. The synthesis of chemically modified Eudragit® EPO (BEPO) was carried out for 24 hours at 50 °C, followed by purification by dialysis using a dialysis membrane (MMO = 12–14 kDa; Medicell International Ltd, UK) for 7 days and freeze drying at –50 °C and 0.05 mbar using Heto Power Dry LL 3000 (Thermo Electron Corporation, USA) for 5 days.

Confirmation of the formation of BEPO was carried out by ATR-FTIR spectroscopy on a Nicolet iS5 spectrometer (Thermo Fisher Scientific, USA) and ¹H-NMR spectroscopy on a DPX 400 MHz device (Bruker, Germany). Thermogravimetric analysis (TGA) and modulated differential scanning calorimetry (mDSC) were performed using Discovery TGA™ and Discovery DSC™ (TA Instruments, USA), respectively. The study of mucoadhesive properties was performed by the ability to retain the copolymer on the isolated sheep nasal mucosa at 37.0 ± 0.5 °C for 30 minutes.

Results and discussion. BEPO was prepared with a substitution degree of dimethylamino groups with phenylboronic acid of 25 % (BEPO25) and 50 % (BEPO50). The yields of BEPO25 and BEPO50 were 40.70 and 30.79 %. The new characteristic band appears at 1605 cm⁻¹ in the IR spectrum of BEPO, which indicates the attachment of phenylboronic acid to EPO. In the ¹H-NMR spectrum of BEPO, the formation of additional peaks in the range of 7.8 and 7.5 ppm is observed, which are absent in the EPO spectrum, which indicates the presence of phenylboronic acid. According to TGA results the samples of boronated EPO have the thermal stability similar to the original EPO. The results of DSC analysis show that the glass transition temperature (T_g) of BEPO samples is somehow higher than the original EPO, which is probably associated with a decrease in the amount of free dimethylamino groups in the terpolymer structure. BEPO50 is retained on the surface of isolated sheep nasal mucosa for 30 minutes, while EPO is washed off with artificial nasal fluid in 5 minutes.

Conclusion. The development and study of BEPO is a promising direction for further use in transmucosal drug delivery systems.

Keywords: Eudragit® EPO, phenylboronic acid, nasal delivery, mucoadhesion, transmucosal delivery systems

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Daria S. Gordeeva performed the synthesis of the chemically modified copolymer, FTIR and ¹H-NMR spectroscopy, processing of the manuscript results and writing. Shamil F. Nasibullin carried out TGA and DSC analysis. Alexander G. Karpov conducted a study of mucoadhesive properties. Vitaliy V. Khutoryanskiy and Rouslan I. Moustafine took part in the article conceptualization and methodology, and also reviewed and corrected the manuscript. The article was written with the participation of all authors.

Acknowledgment. The study was made with financial support from the Russian Science Foundation (RSF № 23-15-00263). The authors express their gratitude to the Government of the Republic of Tatarstan for providing the "Algarysh" grant for the internship of Daria S. Gordeeva at the University of Reading (Reading, UK), where most of the research was carried out, and German company Evonik Nutrition & Care GmbH for providing a sample of Eudragit® EPO.

For citation: Gordeeva D. S., Nasibullin S. F., Karpov A. G., Khutoryanskiy V. V., Moustafine R. I. Eudragit® EPO, modified with 4-phenylboronic acid groups, as a novel polymeric excipient with enhanced mucoadhesive properties. *Drug development & registration*. 2024;13(3):93–102. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-3-1866>

ВВЕДЕНИЕ

Способность материалов к адгезии представляет широкий интерес для фармацевтической промышленности ввиду их использования в качестве вспомогательных веществ для таргетной доставки, пролонгированного действия и повышения биодоступности лекарственных веществ (ЛВ) [1].

Трансмуккозальные системы доставки лекарств могут быть представлены в виде таблеток, пастилок, твердых вставок, пластин, пессариев, пленок, гелей, вязких растворов, суспензий микро- и наночастиц и спреев. Большинство этих лекарственных форм (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 усиливать проницаемость лекарственных средств (ЛС) через эпителий за счет модификации

плотных контактов между клетками [2]. Мукоадгезивные свойства полимеров зависят от их структуры и наличия заряженных групп или неионогенных функциональных групп, способных взаимодействовать с поверхностями слизистых оболочек путем образования водородных связей. Таким образом, к основным свойствам, которые оказывают влияние на способность полимеров к мукоадгезии, относятся: возможность образовывать водородные связи за счет наличия в их структуре функциональных групп (карбокисильные, гидроксильные, амино- и сульфатные группы), гибкость полимерной цепи, катионная и анионная природа полимера, большая молекулярная масса полимера, а также свойства поверхностной энергии [3].

Существует несколько способов увеличения мукоадгезивности высокомолекулярных соединений, а именно: их химическая модификация, введение новых функциональных групп или конъюгация с други-

ми молекулами (акрилаты, малеимиды, катехолы и др.) [4]. Например, получение тиомеров – введение тиольных групп в полимеры. Тиольные группы способны образовывать дисульфидные связи с остатками цистеина в составе поверхности слизистой оболочки, тем самым обеспечивая мукоадгезивные свойства [5–7]. Известно, что 1,2-цис-диоли в составе производных бороновой кислоты, в частности фенолбороновой кислоты (ФБК), могут взаимодействовать с остатками олигосахаридов слизистой, что придает макромолекулам мукоадгезивные свойства [8]. Наличие малеимидных групп в структуре наногелей, липосом или наночастиц обеспечивает мукоадгезивность за счет «клик-реакций» тиол-ен с тиольными группами цистеина гликопротеинов слизистой путем образования ковалентных связей [9–13]. Акрилоилирование – это один способ модификации полимеров с целью улучшения мукоадгезивных свойств. Акрилоилированные полимеры впервые были предложены Davidovich-Pinhas и Bianco-Peled, они также образуют ковалентные связи с цистеиновыми остатками гликопротеинов на поверхности слизистой оболочки [14–15]. Ранее было выполнено акрилоилирование катионного терполимера Eudragit® EPO. Результаты исследования *ex vivo* с применением изолированной слизистой носа овец показали усиление мукоадгезивных свойств [16].

В последнее время полимерные материалы, имеющие в своей структуре ФБК, привлекают большое внимание. ФБК – синтетическое соединение, способное взаимодействовать с 1,2-цис-диолами полисахаридов и гликопротеинов слизистой [17]. Производные ФБК могут быть представлены в виде водорастворимых синтетических полимеров, гидрогелей, наночастиц, мицелл и применяются в различных системах доставки лекарств, анализа ЛВ, разделения гликопротеинов и клеток [18–22]. ФБК-соединения также активно применяются в разработке и исследовании мукоадгезивных систем доставки ЛВ: вагинальной, интраназальной и окулярной [23–28]. В литературе имеются работы по химической модификации катионного природного полисахарида хитозана с применением ФБК [29–31].

Целью настоящей работы явилась разработка и исследование химически модифицированного Eudragit® EPO с применением 4-бромфенилбороновой кислоты для повышения его мукоадгезивных свойств и увеличения времени пребывания на поверхности слизистых для использования в трансмукозальных системах доставки лекарств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе был использован Eudragit® EPO (EPO) – терполимер *N,N*-диметиламиноэтилметакрилата с метилметакрилатом и бутилметакрилатом, (молярное соотношение 2:1:1, ММ 150 кДа) – в качестве катионного полимера (Evonik Nutrition & Care GmbH, Германия). Для химической модификации EPO использо-

вали 4-бромфенилбороновую кислоту (4БФБК) (Thermo Fisher Scientific, США). Тетрагидрофуран (ТГФ) и триэтиламин (ТЭА) (Sigma-Aldrich, Великобритания) использовали для растворения исходных продуктов синтеза.

Для проведения ТГА на приборе Discovery TGA™ (TA Instruments, США) образцы массой 10 мг нагревали со скоростью 10 °С/мин в алюминиевых тиглях от 30 до 500 °С. мДСК-анализ осуществлялся с использованием Discovery DSC™ (TA Instruments, США) с системой охлаждения (RCS90). Исследования проводились в атмосфере сухого азота марки 6.0 при скорости потока газа 50 мл/мин. Для этого образцы загружали в алюминиевые тигли Tzero® (TA Instruments, США). Калибровку температурной шкалы ДСК проводили с использованием в качестве стандартов *n*-октадекана и индия. 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 ТГА и мДСК.

Для оценки мукоадгезивных свойств использовали изолированную слизистую носа овец, которую получали путем диссекции носовой перегородки из голов овец. Все ткани были использованы в течение суток после убоя животных. Головы получали из местной скотобойни и транспортировали в лабораторию в переносном холодильнике с температурным режимом от 3 до 4 °С. Носовую перегородку (1,5 × 1,0 см) извлекали с помощью ножниц. Флуоресцеинат натрия (Sigma-Aldrich, Великобритания) был использован в исследованиях по изучению мукоадгезивных свойств. Искусственную назальную жидкость (ИНЖ) готовили в соответствии с данными литературы следующего состава: 7,45 г NaCl, 1,29 г KCl и 0,24 г безводного CaCl₂ в 1000 мл деионизированной воды с доведением pH до 5,7 с помощью 1 М HCl и 1 М NaOH.

Синтез модифицированного EPO (BEPO) осуществляли в течение 24 ч при температуре 50 °С. Готовили раствор EPO его растворением в ТГФ [32]. Раствор 4БФБК в ТГФ готовили с прибавлением ТЭА для связывания выделяющегося бромистого водорода. К раствору EPO прибавляли раствор 4БФБК капельно при постоянном перемешивании. Затем в течение 7 дней проводили диализную очистку полученного продукта с применением диализной мембраны (ММО = 12–14 кДа; Medicell International Ltd., Великобритания) со сменой жидкости 3 раза в день. Диализ проводили в течение 3 дней против 7 мМ раствора HCl и деионизированной воды. В результате выпадал осадок, который отделяли от раствора и проводили диализ осадка и раствора последовательно против раствора этилового спирта (70 %), а затем деионизированной воды. Содержимое диализной мембраны подвергали заморозке при –50 °С в течение 24 ч. Затем высушивали лиофильно при –50 °С и 0,05 мБар в лиофильной сушилке Heto Power Dry LL 3000 (Thermo Electron Corporation, США) в течение 5 дней.

ИК-спектроскопию тонкоизмельченных порошков ЕРО и ВЕРО, полученных с помощью мельницы ShakIR (PIKE Technologies, США), проводили на приборе Nicolet iS5 (Thermo Fisher Scientific, США) с одиночным отражающим кристаллом ZnSe в диапазоне спектра от 4000 до 400 см⁻¹ с приставкой нарушенного полного внутреннего отражения. Для обработки полученных результатов ИК-спектроскопии использовали программное обеспечение OMNIC spectra (Thermo Scientific, США).

¹H-ЯМР-спектроскопию растворов ЕРО и ВЕРО в дейтерированном хлороформе проводили на приборе DPX 400 МГц (Bruker, Германия).

Изучение мукоадгезивных свойств ЕРО и ВЕРО проводилось по способности их удержания на слизистой оболочке носовой перегородки овец [13, 16]. Для этого готовили растворы полимеров ЕРО и ВЕРО с флуоресцеинатом натрия. 10 мг сополимера растворяли в 10 мл раствора флуоресцеината натрия (0,1 мг/мл), доводили pH растворов до значения 5,7 с применением растворов 1 М HCl и 1 М NaOH и оставляли на ночь до полного растворения. 50 мкл раствора ЕРО или ВЕРО наносили на изолированную слизистую носа овец и помещали в инкубатор SI60 (Stuart, Великобритания) при температуре 37,0 ± 0,5 °C. Затем с использованием шприцевого дозатора (Legato 110, KD Scientific Inc, США) в течение 30 мин проводили орошение слизистой ИНЖ со скоростью 0,2 мл/мин и на системе визуализации высокого разрешения CAMAG® TLC Visualizer 3 (CAMAG, Швейцария) получали флуоресцентные изображения. Каждый эксперимент повторяли трижды. Обработка полученных макроскопических изображений для построения графиков проводилась с использованием программного обеспечения ImageJ 1.53e (ImageJ, США). Статистиче-

ский анализ был выполнен с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и двустороннего *t*-критерия Стьюдента с использованием программного обеспечения Microsoft Excel, где *p* < 0,05 считалось значимым. Все результаты исследования представлены как среднее значение ± стандартное отклонение (СО).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате синтеза был получен ВЕРО со степенью присоединения ФБК к диметиламиногруппам ЕРО 25 % (ВЕРО25) и 50 % (ВЕРО50) (рисунок 1). Выход ВЕРО25 составил 41 %, ВЕРО50 – 31 %.

Образование химически модифицированной формы ЕРО было подтверждено методами ИК- и ¹H-ЯМР-спектроскопии. ИК-спектры были отдельно записаны для лиофильно высушенных осадков и растворов, образовавшихся в ходе диализной очистки (рисунок 2). Характеристические полосы при 2820, 2822, 2870 и 2769 см⁻¹ подтверждают наличие диметиламино групп в структуре ЕРО [33]. Пики при 963, 964, 989, 990 и 991 см⁻¹ указывают на наличие четвертичных аммониевых групп [34]. А полосы в области 1605 см⁻¹ соответствуют связям С—С ароматической системы, что указывает на присоединение ФБК к ЕРО [29].

На ¹H-ЯМР-спектрах ВЕРО можно наблюдать образование дополнительных пиков в диапазоне 7,8 и 7,5 ppm, которые отсутствуют на спектре ЕРО (рисунок 3). 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 [29].

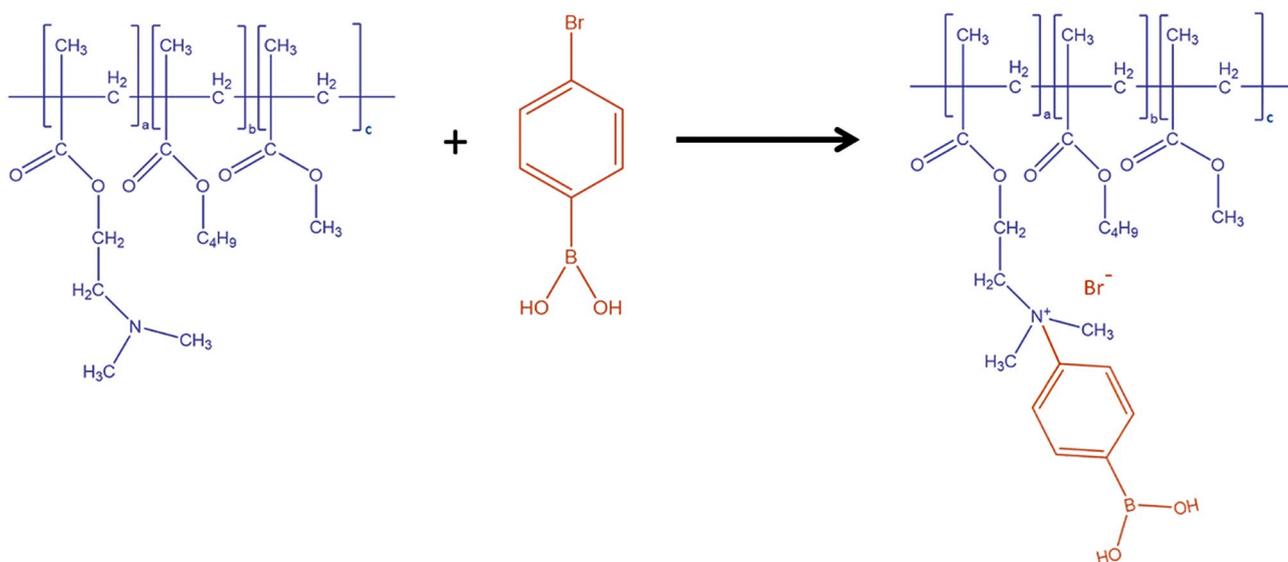


Рисунок 1. Схема синтеза модифицированного Eudragit® ЕРО с применением 4-бромфенилборовой кислоты

Figure 1. Synthesis scheme for modified Eudragit EPO® using 4-bromophenylboronic acid

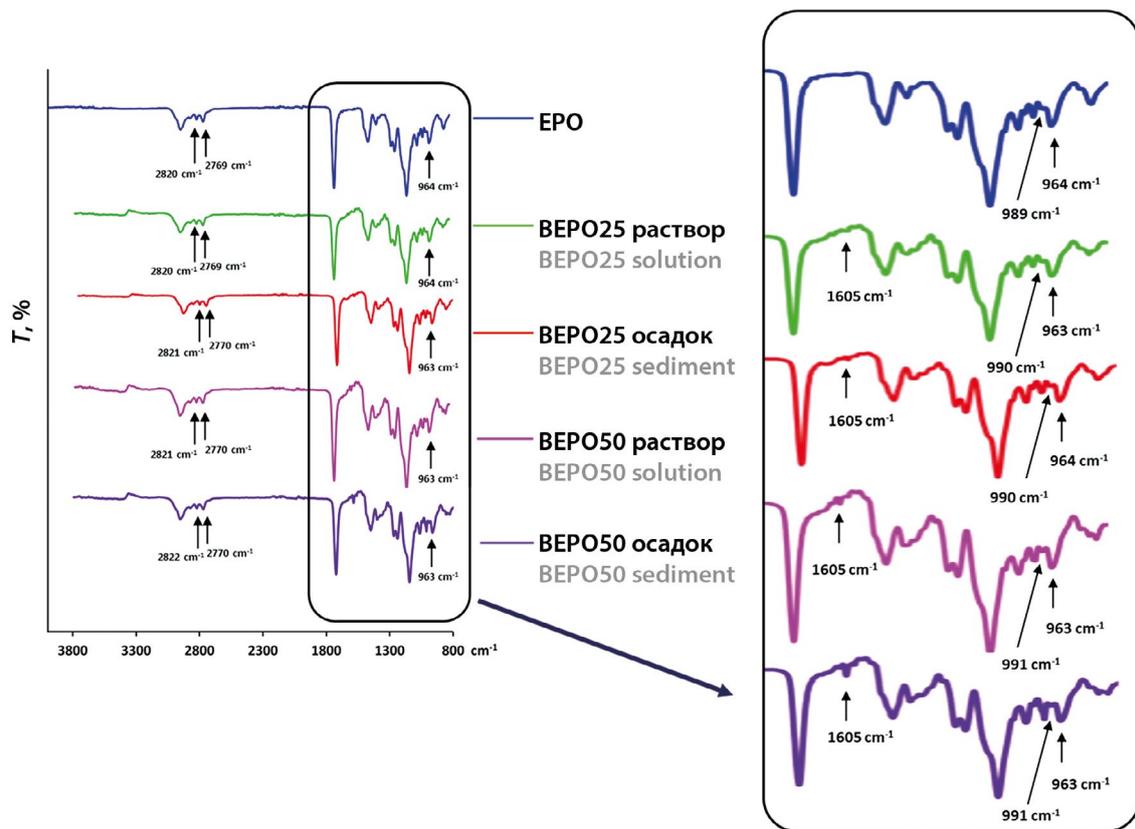


Рисунок 2. ИК-спектры EPO, BEPO25 и BEPO50

Figure 2. ATR-FTIR spectra of EPO, BEPO25 and BEPO50

В ходе термического анализа на термограмме ТГА немодифицированного EPO первая потеря массы происходит при 264–311 °C (27,7 %), что может быть связано с образованием шестичленных циклических ангидридов [35]. Вторая потеря массы наблюдается при 402–453 °C (69,6 %), что указывает на дальнейшее и полное разложение терполимера. На ТГА-термограммах образцов BEPO25 и BEPO50 (рисунок 4) 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 образцов модифицированного EPO демонстрируют сопоставимые с исходным EPO результаты, что свидетельствует о термической стабильности полученных модифицированных форм EPO.

На мДСК-термограмме исходного EPO наблюдалось наличие T_c при $51,7 \pm 3,3$ °C, что согласуется с предыдущими работами [36]. В ходе модификации EPO 4БФБК происходит возрастание T_c для BEPO25 до $52,7 \pm 2,1$ °C и для BEPO50 – до $55,1 \pm 1,5$ °C, что, по-видимому, может быть связано с уменьшением содержания диметиламино групп в составе EPO и является результатом присоединения ФБК (рисунок 5).

Ввиду разработки модифицированного полимера, обладающего улучшенными мукоадгезивными свой-

вами, нами была проведена оценка удерживаемости EPO и BEPO на поверхности изолированной слизистой носа овцы после ее орошения ИНЖ. Данный метод исследования находит широкое применение при изучении способности различных систем к адгезии на поверхности слизистых оболочек [12–13, 16, 29, 37]. Для этого, в анализируемый состав вводится флуоресцеинат натрия, который обладает яркой желто-зеленой флуоресценцией при длине волны от 520 до 530 нм. После нанесения растворов EPO и BEPO с флуоресцеинатом натрия на изолированную слизистую носа овцы и орошения ее ИНЖ получают флуоресцентные изображения в УФ-свете и проводят оценку удерживаемости полимеров на ее поверхности. В ходе исследования мукоадгезивных свойств свободный EPO смывается ИНЖ в течение первых 5 мин эксперимента, в то время как BEPO удерживается на поверхности слизистой в течение 30 мин. Флуоресцентные изображения слизистой с нанесенными EPO и BEPO в смеси с флуоресцеинатом натрия до и после орошения ее ИНЖ представлены на рисунке 6, а полученные результаты обработки флуоресцентных фотографий – на рисунке 7. Гидроксильные группы в составе ФБК образуют ковалентные связи с остатками олигосахаридов слизистой, что и придает BEPO мукоадгезивные свойства [17].

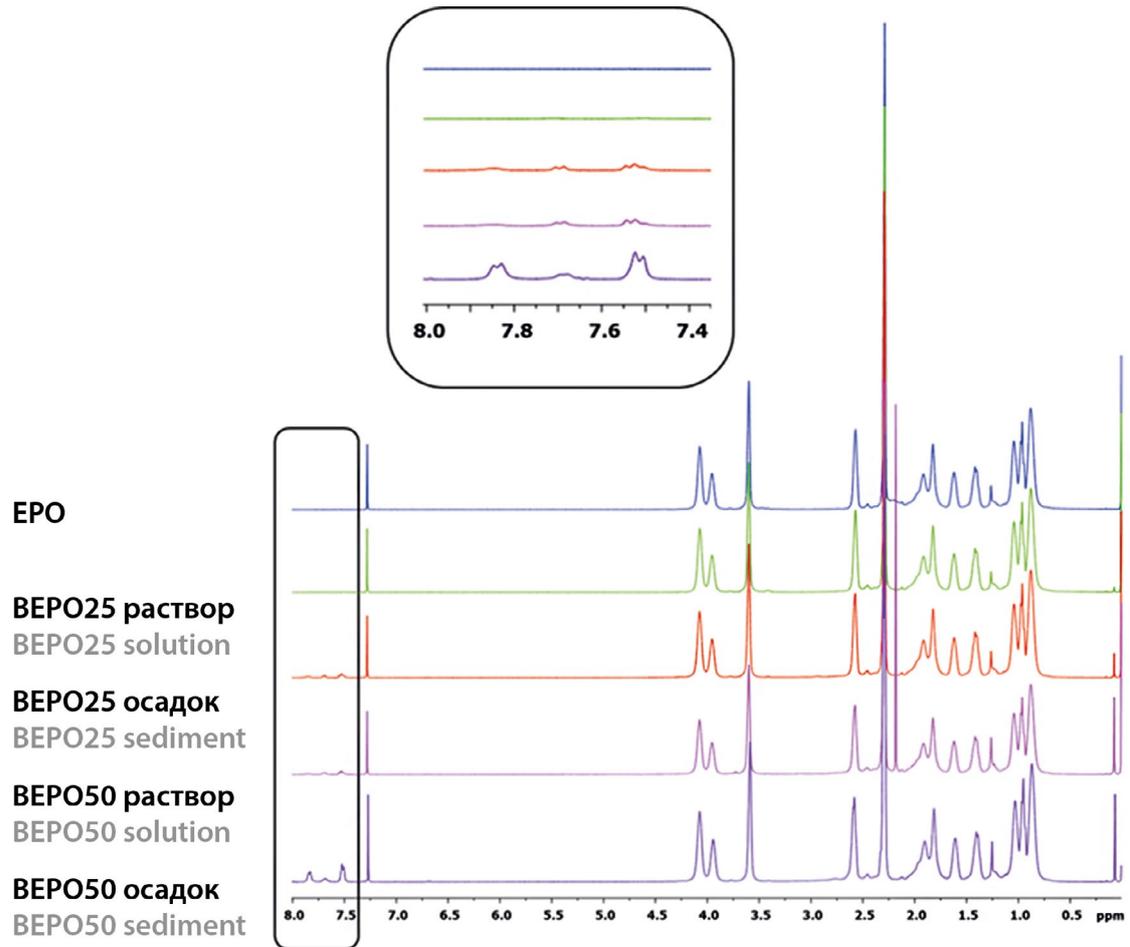


Рисунок 3. ¹H-ЯМР-спектры EPO, BEPO25 и BEPO50 (CDCl₃, 400 МГц)
Figure 3. ¹H-NMR spectra of EPO, BEPO25 and BEPO50 (CDCl₃, 400 MHz)

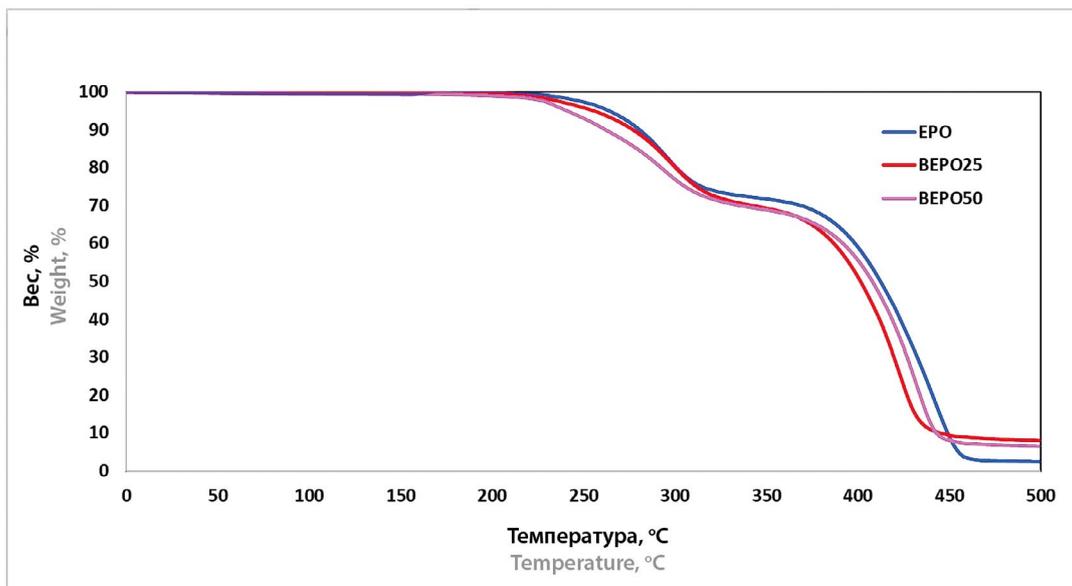


Рисунок 4. ТГА термограммы EPO, BEPO25 и BEPO50
Figure 4. TGA thermograms of EPO, BEPO25 and BEPO50

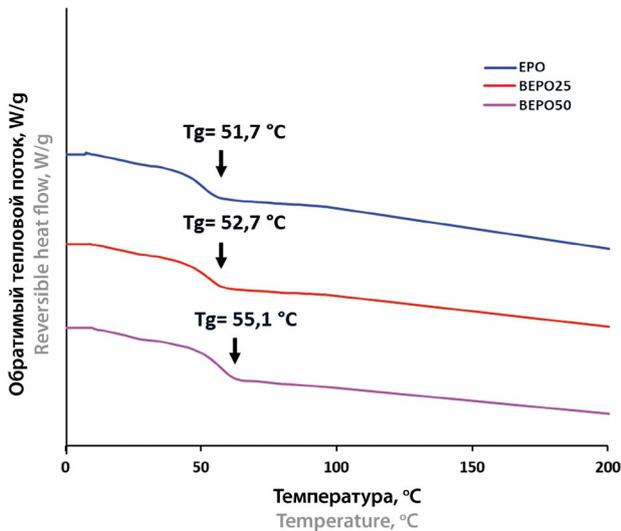


Рисунок 5. мДСК-термограммы EPO, BEPO25 и BEPO50
Figure 5. mDSC thermograms of EPO, BEPO25 and BEPO50

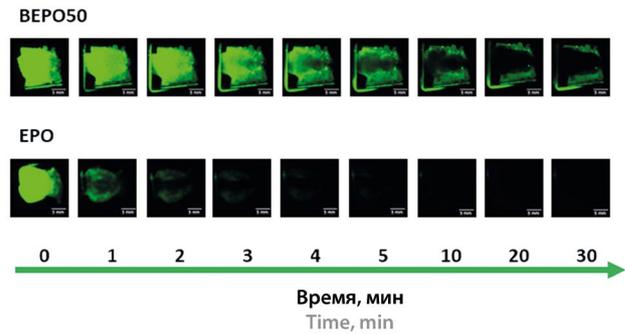


Рисунок 6. Флуоресцентные изображения слизистой оболочки носа овцы с нанесенными 1 мг/мл растворами EPO и BEPO50 с 0,1 мг/мл флуоресцеинатом натрия после орошения ИНЖ. Масштаб – 500 мкм

Figure 6. Fluorescent images of the sheep nasal mucosa with EPO and BEPO50 1 mg/mL solutions with 0.1 mg/mL sodium fluorescein after washing with ANF. Scale bar is 500 μm

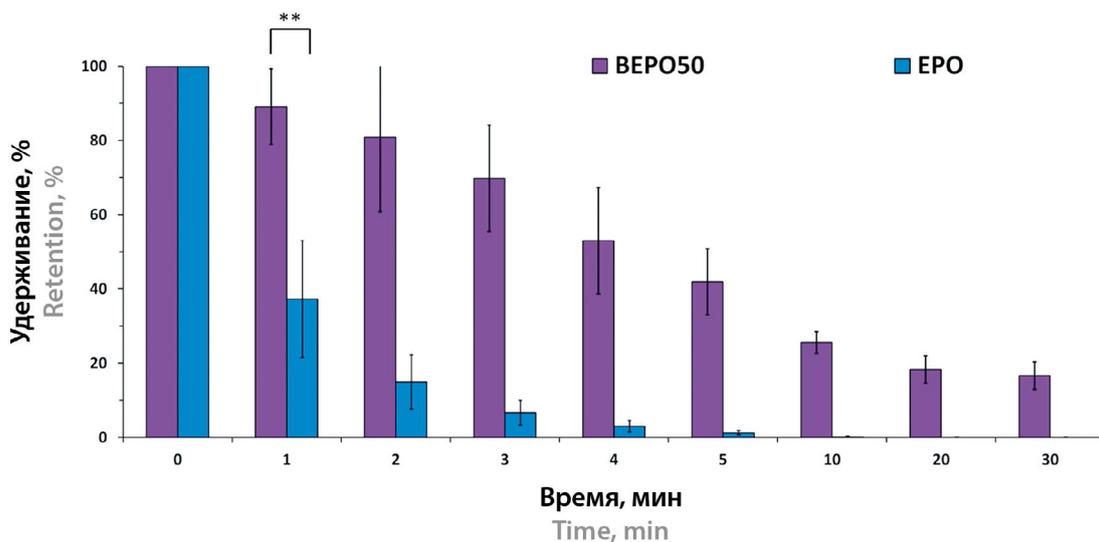


Рисунок 7. Удерживаемость 1 мг/мл растворов EPO и BEPO50 с 0,1 мг/мл раствором флуоресцеината натрия в течение 30 мин на слизистой оболочке носа овцы после орошения ИНЖ, pH 5,7 (n = 3, среднее значение ±CO, «**» означает p < 0,005)

Figure 7. Retention of 1 mg/mL EPO and BEPO50 solutions with 0.1 mg/mL sodium fluorescein solution during 30 minutes on sheep nasal mucosa after washing with ANF, pH 5.7 (n = 3, mean ±SD, "****" represents p < 0.005)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, была получена модифицированная форма EPO – BEPO, которая обладает улучшенными мукоадгезивными свойствами на изолированной слизистой оболочке носа овец. Дальнейшие исследования фармацевтико-технологических и биофармацевтических свойств BEPO для применения в качестве нового перспективного носителя в системах интраназальной доставки лекарств позволят увели-

чить время удерживания, полноту всасывания препаратов и, соответственно, биодоступность препарата и эффективность фармакотерапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Smart J. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005;57(11):1556–1568. DOI: 10.1016/j.addr.2005.07.001.

2. Sandri G., Rossi S., Ferrari F., Bonferoni M. C., Muzzarelli C., Caramella C. Assessment of chitosan derivatives as buccal and vaginal penetration enhancers. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2004;21(2–3):351–359. DOI: 10.1016/j.ejps.2003.10.028.
3. Lee J.W., Park J.H., Robinson J.R. Bioadhesive-based dosage forms: The next generation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2000;89(7):850–866. DOI: 10.1002/1520-6017(200007)89:7<850::AID-JPS2>3.0.CO;2-G.
4. Brannigan R.P., Khutoryanskiy V.V. Progress and Current Trends in the Synthesis of Novel Polymers with Enhanced Mucoadhesive Properties. *Macromolecular Bioscience*. 2019;19(10):1900194. DOI: 10.1002/mabi.201900194.
5. Brako F., Raimi-Abraham B., Mahalingam S., Craig D.Q.M., Edirisinghe M. Making nanofibres of mucoadhesive polymer blends for vaginal therapies *European Polymer Journal*. 2015;70:186–196. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2015.07.006.
6. Bernkop-Schnürch A. Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005;57(11):1569–1582. DOI: 10.1016/j.addr.2005.07.002.
7. Leitner V.M., Guggi D., Bernkop-Schnürch A. Thiomers in noninvasive polypeptide delivery: In vitro and in vivo characterization of a polycarbophil-cysteine/glutathione gel formulation for human growth hormone. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2004;93(7):1682–1691. DOI: 10.1002/jps.20069.
8. Ivanov A. E., Galaev I. Yu., Mattiasson B. Interaction of sugars, polysaccharides and cells with boronate-containing copolymers: from solution to polymer brushes. *Journal of Molecular Recognition*. 2006;19(4):322–331. DOI: 10.1002/jmr.792.
9. Kazybayeva D. S., Irmukhametova G. S., Khutoryanskiy V.V. Thiol-Ene "Click Reactions" as a Promising Approach to Polymer Materials. *Polymer Science, Series B*. 2022;64(1):1–16. DOI: 10.1134/S1560090422010055.
10. Lowe A.B. Thiol-ene "Click" Reactions and Recent Applications in Polymer and Materials Synthesis: A First Update. *Polymer Chemistry*. 2014;5(17):4820–4870. DOI: 10.1039/c4py00339j.
11. Hoyle C. E., Bowman C. N. Thiol-ene click chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*. 2010;49(9):1540–1573. DOI: 10.1002/anie.200903924.
12. Tonglairoum P., Brannigan R.P., Opanasopit P., Khutoryanskiy V.V. Maleimide-bearing nanogels as novel mucoadhesive materials for drug delivery. *Journal of Materials Chemistry B*. 2016;4(40):6581–6587. DOI: 10.1039/C6TB02124G.
13. Kaldybekov D. B., Tonglairoum P., Opanasopit P., Khutoryanskiy V.V. Mucoadhesive maleimide-functionalised liposomes for drug delivery to urinary bladder. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018;111:83–90. DOI: 10.1016/j.ejps.2017.09.039.
14. Davidovich-Pinhas M., Bianco-Peled H. Novel mucoadhesive system based on sulfhydryl-acrylate interactions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2010;21(7):2027–2034. DOI: 10.1007/s10856-010-4069-6.
15. Eshel-Green T., Bianco-Peled H. Mucoadhesive acrylated block copolymers micelles for the delivery of hydrophobic drugs. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2016;139:42–51. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2015.11.044.
16. Porfiryeva N. N., Nasibullina S. F., Abdullina S. G., Tukhbatullina I. K., Moustafine R. I., Khutoryanskiy V.V. Acrylated Eudragit® E PO as a novel polymeric excipient with enhanced mucoadhesive properties for application in nasal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;562:241–248. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.03.027.
17. Springsteen G., Wang B. A Detailed Examination of Boronic Acid-Diol Complexation. *Tetrahedron*. 2002;58(26):5291–5300. DOI: 10.1016/S0040-4020(02)00489-1.
18. Kuzimenkova M. V., Ivanov A. E., Thammakhet C., Mikhailovska L. I., Galaev I. Yu., Thavarungkul P., Kanatharana P., Mattiasson B. Optical responses, permeability and diol-specific reactivity of thin polyacrylamide gels containing immobilized phenylboronic acid. *Polymer*. 2008;49(6):1444–1454. DOI: 10.1016/j.polymer.2008.02.009.
19. Siegel R. A., Gu Yu., Lei M., Baldi A., Nuxoll E. E., Ziaie B. Hard and soft micro- and nanofabrication: An integrated approach to hydrogel-based biosensing and drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 2010;141(3):303–313. DOI: 10.1016/j.jconrel.2009.12.012.
20. Ali S. R., Ma Yu., Parajuli R. R., Balogun Y., Lai W. Y.-C., He H. A nonoxidative sensor based on a self-doped polyaniline/carbon nanotube composite for sensitive and selective detection of the neurotransmitter dopamine. *Analytical Chemistry*. 2007;79(6):2583–2587. DOI: 10.1021/ac062068o/
21. Li Y., Pfüller U., Larsson E. L., Jungvid H., Galaev I. Yu., Mattiasson B. Separation of mistletoe lectins based on the degree of glycosylation using boronate affinity chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2001;925(1–2):115–121. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)00967-0.
22. Srivastava A., Shakya A. K., Kumar A. Boronate affinity chromatography of cells and biomacromolecules using cryogel matrices. *Enzyme and Microbial Technology*. 2012;51(6–7):373–381. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2012.08.006.
23. Li C., Liu Z., Yan X., Lu W., Liu Y. Mucin-controlled drug release from mucoadhesive phenylboronic acid-rich nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;479(1):261–264. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.12.011.
24. Cheng C., Zhang X., Xiang J., Wang Y., Zheng C., Zhen-tan L., Li C. Development of novel self-assembled poly(3-acrylamidophenylboronic acid)/poly(2-lactobionamidoethyl methacrylate) hybrid nanoparticles for improving nasal adsorption of insulin. *Soft Matter*. 2012;8(3):765–773. DOI: 10.1039/c1sm06085f.
25. Zheng C., Guo Q., Wu Z., Sun L., Zhang Z., Li C., Zhang X. Amphiphilic glycopolymer nanoparticles as vehicles for nasal delivery of peptides and proteins. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013;49(4):474–482. DOI: 10.1016/j.ejps.2013.04.027.
26. Liu S., Jones L., Gu F.X. Development of mucoadhesive drug delivery system using phenylboronic acid functionalized poly(D,L-lactide)-*b*-dextran nanoparticles. *Macromolecular Bioscience*. 2012;12(12):1622–1626. DOI: 10.1002/mabi.201200216.
27. Liu S., Chang C.N., Verma M. S., Hileeto D., Muntz A., Stahl U., Woods J., Jones L.W., Gu F.X. Phenylboronic acid modified mucoadhesive nanoparticle drug carriers facilitate weekly treatment of experimentally induced dry eye syndrome. *Nano Research*. 2015;8(2):621–635. DOI: 10.1007/s12274-014-0547-3.
28. Prospero-Porta G., Kedzior S., Muirhead B., Sheardown H. Phenylboronic-Acid-Based Polymeric Micelles for Mucoadhesive Anterior Segment Ocular Drug De-

- livery. *Biomacromolecules*. 2016;17(4):1449–1457. DOI: 10.1021/acs.biomac.6b00054.
29. Kolawole O. M., Lau W. M., Khutoryanskiy V. V. Synthesis and Evaluation of Boronated Chitosan as a Mucoadhesive Polymer for Intravesical Drug Delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019;108(9):3046–3053. DOI: 10.1016/j.xphs.2019.05.006.
 30. Jiang W., Liang M., Lei Q., Deng D., Li C., Li Yu., Yuan S., Wu K., Li G., Wu S., Phenylboronic acid-functionalized chitosan for enabling transmucosal delivery for cancer therapy. *Materials & Design*. 2023;229:111843. DOI: 10.1016/j.matdes.2023.111843.
 31. Li A., Chen W., Shi H., Ye Y., Gong P., Jiang B., Xiao B. Synthesis, properties, and applications of a polyampholyte hydroxypropyl chitosan derivative with the phenylboronic acid functional group. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;258(1):128721. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.128721.
 32. Moustafine R. I., Gordeeva D. S., Khutoryanskiy V. V., Semina I. I., Karpov A. G. Method for obtaining a carrier of biologically active compounds. Patent RUS № 2817985 C 1. 23.04.2024. Available at: <https://patenton.ru/patent/RU2817985C1.pdf>. Accessed: 06.07.2024.
 33. Moustafine R. I., Bobyleva V. L., Bukhovets A. V., Gari-pova V. R., Kabanova T. V., Kemenova V. A., Van den Mooter G. Structural transformations during swelling of poly-complex matrices based on countercharged (meth)acrylate copolymers (Eudragit®EPO/Eudragit® L 100-55). *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2011;100(3):874–885. DOI: 10.1002/jps.22320.
 34. Moustafine R. I., Bodrov A. V., Kemenova V. A., Rombaut P., Van den Mooter G. Drug release modification by interpolymer interaction between countercharged types of Eudragit® RL 30D and FS 30D in double-layer films. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012;439(1–2):17–21. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.09.044.
 35. Lin S.-Y., Yu H., Li M.-J. Formation of six-membered cyclic anhydrides by thermally induced intramolecular ester condensation in Eudragit E film. *Polymer*. 1999;40(12):3589–3593.
 36. Menjoge A. R., Kulkarni M. G. Mechanistic investigations of phase behavior in Eudragit® E blends. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007;343(1–2):106–121. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2007.05.033.
 37. Cook M. T., Schmidt S. A., Lee E., Samprasit W., Opanasopit P., Khutoryanskiy V. V. Synthesis of mucoadhesive thiol-bearing microgels from 2-(acetylthio)ethylacrylate and 2-hydroxyethylmethacrylate: novel drug delivery systems for chemotherapeutic agents to the bladder. *Journal of Materials Chemistry B*. 2015;3(32):6599–6604. DOI: 10.1039/c5tb00834d.