Государственное бюджетное общеобразовательное учреждение города Москвы «Школа № 2070 имени Героя Советского Союза Г.А. Вартаняна»

**Определение эффективности назального спрея с наночастицами хитозана**

(работа выполнена при содействии кафедры фармакологии МГИМУ имени Сеченова)

Выполняла работу: Дадашева Алия Джалал Гызы,

10 класс ГБОУ «Школа 2070»

Руководитель работы: Тюнеева Мария Сергеевна

учитель химии ГБОУ «Школа 2070»

Москва, 2024

Оглавление

[Введение 3](#_Toc185393945)

[1. Литературный обзор 5](#_Toc185393946)

[1. Назальная доставка лекарственных препаратов. 5](#_Toc185393947)

[1.2. Физико-химические характеристики активных компонентов, влияющие на абсорбцию в носовой полости: 5](#_Toc185393948)

[1.3. Гематоэнцефалический барьер 5](#_Toc185393949)

[1.4. Преимущества назального введения лекарственных препаратов. 6](#_Toc185393950)

[1.5. Виды назальных систем доставки лекарственных препаратов 6](#_Toc185393951)

[1.6. Отличительные свойства хитина и хитозана. 11](#_Toc185393952)

[1.7. Наночастицы хитозана как доставка лекарственных препаратов 13](#_Toc185393953)

[1.8. Способы получения наночастиц хитозана. 14](#_Toc185393954)

[2. Практическая часть. 14](#_Toc185393955)

[3. Список литературы. 18](#_Toc185393956)

# Введение

1.Актуальность.

Разработка систем доставки лекарств на основе наночастиц биополимеров является одним из интенсивно развивающихся направлений современной биотехнологии. Свойства многих лекарств можно улучшить за счет систем доставки, повышающих время циркуляции лекарства в крови, увеличивающих специфичность доставки в целевой орган, экранирующих препарат от ферментных систем крови и органов, снижающих общую токсичность препаратов и уменьшающих нежелательные эффекты, связанные с неспецифическим действием метаболитов препарата. Область применения систем доставки очень широка, начиная от доставки терапевтических лекарств (противоопухолевых, противоинфекционных), вакцинирующих агентов (пептидов, белков), модулирующих функцию клеток (РНК, ДНК), стимуляторов (иммуномодуляторов, гормонов, ферментов) и до косметических применений гели, пенки и кремы с гиалуроновой кислотой. коллагеном, белками кожи).

Большинство систем доставки основаны на использовании биополимеров небелковой природы (липиды, полисахарилы), поскольку на белки реагирует иммунная система продукцией антител и активацией клеток иммунной системы с высвобождением растворимых факторов (цитокинов и монокинов). Липиды и полисахариды не распознаются иммунной системой и могут использоваться для экранирования активно распознаваемых иммунной системой молекул. а также лекарств (противоопухолевых, противотуберкулезных, иммунодепрессантов и др.). Системы доставки могут быть также использованы для пролонгирования времени циркуляции жизненно важных белков, например, инсулина, гормонов щитовидной железы, гормонов роста и пр., при заболеваниях, требующих замешающей терапии. Для я введения в клинику таких систем доставки требуется понимание поведения самой системы в организме, а также системы с включенными в нее активными субстанциями. В последние годы достигнут значительный прогресс в этом направлении.

Наночастицы имеют размер от 1 до 100 нм. Они обладают уникальными свойствами по сравнению с их объемными эквивалентами из-за уменьшения размера до атомного уровня. Свойства материалов изменяются в наномасштабе. Это происходит потому, что объемные материалы имеют относительно постоянные свойства независимо от их размера, но по мере уменьшения размера процент поверхностных атомов по сравнению с объемным материалом увеличивается. Это вызывает неожиданные свойства наночастиц.

В настоящее время применение наноматериалов привлекает все большее внимание в фармацевтических и биомедицинских исследованиях. Наночастицы (NP) размером <100 нм представляют наилучшую способность к соблюдению пациентом режима лечения, улучшенному биораспределению и доставки лекарств в конкретную точку. Несколько передовых наноматериалов используются в биомедицинской и фармацевтической промышленности. Гораздо большее количество процессов становится эффективным или более экономичным благодаря наночастицам.

Хитозан, из-за его уникальных свойств, был оценен как наиболее совместимый и приемлемый материал для наночастиц. А использование биополимеров, таких как крахмал, целлюлоза, фиброины шелка, коллаген, желатин, альбумин и наноматериалы на основе хитозана (Ch), придают синтетическим наночастицам биосовместимость, биоразлагаемость и низкую токсичность.

2. Цель и задачи проекта

Цель: Изучить и получить наночастицы хитозана и на основе исследования определить эффективность назального спрея с их содержанием.

Задачи:

1. Провести литературный обзор
2. Используя возможности лаборатории выделить наночастицы хитозана
3. С помощью Эффекта Тиндаля и оптической микроскопии доказать наличие наночастиц хитозана
4. Доказать эффективность назального спрея с содержание наночастиц хитозана

# 1. Литературный обзор

## 1. Назальная доставка лекарственных препаратов.

1.1. Физические факторы, влияющие на абсорбцию.

1) Мукоцилиарный клиренс (МЦК) — это неспецифический механизм, осуществляющий местную защиту слизистой оболочки органов дыхания от внешних воздействий, включая инфекции.

2) Кровеносная система слизистой оболочки носа. Доказано, что введение в состав интраназального препарата сосудосуживающего компонента обеспечивает удержание основного препарата на эпителии слизистой носа и, как следствие, активизирует его поступление в кровь и доставку лекарственного вещества в ЦНС.

3) Ферментативное расщепление. Для того, чтобы предотвратить ферментативное расщепление в носовой полости, в состав препаратов вводят ингибиторы ферментов.

4) Белки-транспортеры — способствуют активному выведению препаратов в межклеточную среду и снижению их накопления в клетках. В интраназальные препараты могут вводиться ингибиторы белков-транспортеров, позволяющие затормозить процесс выброса препарата из клетки.

## 1.2. Физико-химические характеристики активных компонентов, влияющие на абсорбцию в носовой полости:

1) Липофильность и гидрофильность.

Слизистая носа обладает липофильными свойствами, поэтому степень поглощения препаратов снижается с уменьшением степени липофильности активных веществ.

2) Молекулярная масса.

Низкомолекулярные препараты (до 300 Да) легче всасываются, чем высокомолекулярные.

3) Другие характеристики активного вещества, такие как вязкость и кислотность, также могут влиять на его всасываемость в носовой полости. Наличие дополнительных веществ, например, усилители абсорбции или ингибиторы ферментов, тоже оказывают влияние на абсорбцию препарата.

## 1.3. Гематоэнцефалический барьер

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) - это сложная гетерогенная система головного мозга (ГМ) с несколькими уровнями избирательного транспорта, регуляции и защиты, способная поддерживать гомеостаз центральной нервной системы (ЦНС) [1].

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) представляет собой уникальную структуру, играющую ключевую роль в поддержании гомеостаза центральной нервной системы (ЦНС). Он формируется из специализированных эндотелиальных клеток, которые образуют стенки капилляров головного мозга, и служит защитным экраном между кровотоком и нейронными тканями. Основная функция ГЭБ заключается в фильтрации веществ, обеспечивая защиту мозга от потенциально токсичных соединений, одновременно позволяя проходить необходимым питательным веществам и газам. [2]

ГЭБ состоит из плоских эндотелиальных клеток, соединенных плотными контактами, что предотвращает свободное проникновение веществ из крови в мозг. Эти клеточные соединения значительно уменьшают проницаемость барьера, тем самым защищая нейроны от вредных веществ, таких как токсины и патогены. Однако, это также создает преграды для доставки некоторых лекарств, что является серьезной проблемой в нейрологии и фармацевтике. ГЭБ активно регулирует транспорт веществ, обеспечивая при этом селективность. Например, глюкоза и кислород могут свободно проходить через барьер благодаря специальным транспортным белкам, в то время как глутаминовая кислота, уровень которой может повышаться при инсульте, не может его преодолеть. Это подчеркивает важность ГЭБ в защите мозга, а также в поддержании нормального функционирования нейронов. [3]

Проницаемость ГЭБ варьируется в зависимости от возраста. У новорожденных она значительно выше, что объясняет предрасположенность к инфекционным заболеваниям, таким как менингит и энцефалит. В то же время, у пожилых людей проницаемость ГЭБ снижается, что может способствовать развитию нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера. Это явление связано с изменениями в клеточной структуре и функциях, что подчеркивает динамичность ГЭБ и его способность адаптироваться к изменениям в организме. [1-4]

ГЭБ не является статичной структурой; он активно взаимодействует с окружающей средой, включая астроциты и нейроны. Эти клетки играют важную роль в регуляции проницаемости барьера, передавая сигналы, которые могут изменять его характеристики. Например, при воспалительных процессах, таких как инфекция или травма, проницаемость ГЭБ может увеличиваться, позволяя иммунным клеткам и молекулам достигать пораженных участков. Это подчеркивает, что ГЭБ не только защищает, но и реагирует на изменения в состоянии организма.

Одной из основных проблем в нейрофармакологии является доставка лекарств через ГЭБ. Поскольку многие потенциально эффективные препараты не могут преодолеть барьер в терапевтических концентрациях, разработка новых методов доставки становится актуальной. Исследователи активно работают над созданием наночастиц, которые могут транспортировать лекарства через ГЭБ, а также над использованием ультразвука и магнитных полей для временного увеличения проницаемости барьера. В последние годы также наблюдается интерес к использованию молекул, которые могут связываться с специфическими рецепторами на поверхности эндотелиальных клеток ГЭБ, что может облегчить транспорт активных веществ. Эти исследования открывают новые горизонты в лечении заболеваний ЦНС, таких как рак, инсульт и нейродегенеративные расстройства. [3-7]

Гематоэнцефалический барьер является жизненно важным компонентом, обеспечивающим защиту и поддержку центральной нервной системы. Его сложная структура и динамичные функции делают его как защитником, так и препятствием для терапии. Понимание механизмов работы ГЭБ и разработка новых подходов к доставке препаратов через него могут значительно изменить подходы к лечению заболеваний мозга и улучшить качество жизни пациентов с неврологическими расстройствами.

## 1.4. Преимущества назального введения лекарственных препаратов.

1) Отсутствие деградации препарата, наблюдаемой в желудочно-кишечном тракте.

2) Отсутствие метаболизма первого прохождения через печень.

3) Быстрое всасывание лекарства, быстрое начало терапевтического действия.

4) Высокая биодоступность малых молекул, повышение биодоступности более крупных молекул с помощью введения в состав усилителя проницаемости.

5) Возможность доставки лекарственных средств, которые не всасываются перорально, в системный кровоток путем назального введения.

6) Проведенные к настоящему времени исследования показывают, что назальный путь введения является альтернативой парентеральному, особенно белковых и пептидных препаратов.

7) Удобство для пациентов, возможность назального введения при тошноте, рвоте, при сложностях глотания.

Таким образом назальное введение предлагает привлекательную альтернативу или дополнение к стратегиям, основанным только на рецептурах, с целью улучшить проникновение лекарств в ЦНС.

## 1.5. Виды назальных систем доставки лекарственных препаратов

1) Назальные капли.

Назальные капли представляют собой одну из наиболее доступных и удобных форм доставки лекарственных средств. Их простота применения и относительно низкая стоимость делают их популярным выбором для лечения различных заболеваний носовой полости. Благодаря своей жидкой форме, капли легко распределяются по слизистой оболочке носа, достигая даже труднодоступных задних отделов, где активен мукоцилиарный клиренс – механизм самоочищения дыхательных путей. Это способствует более эффективному воздействию лекарства и его быстрому выведению, предотвращая системное всасывание и минимизируя побочные эффекты. Для введения назальных капель обычно используются пипетки или флаконы с дозирующим устройством. Пипетки, несмотря на свою простоту, могут быть менее точными в дозировании, в то время как современные флаконы с распылителями или дозирующими системами обеспечивают более контролируемое и равномерное распределение лекарства. Несмотря на удобство, назальные капли имеют ряд ограничений. Главный недостаток – сложность точного дозирования. Объем капли может варьироваться в зависимости от различных факторов, таких как вязкость раствора, температура окружающей среды и даже угол наклона головы пациента. Это может привести к недо- или передозировке, особенно у детей и пожилых людей. Еще один важный недостаток – риск контаминации, особенно при использовании многодозовых флаконов. Попадание бактерий в раствор может привести к развитию инфекции, что особенно опасно для пациентов с ослабленным иммунитетом. Поэтому для многоразовых флаконов важно соблюдать правила гигиены и не допускать контакта кончика пипетки или дозатора с поверхностями. Кроме того, некоторые капли могут содержать консерванты, которые у некоторых пациентов вызывают аллергические реакции или раздражение слизистой оболочки носа. [1,5,6].

2) Назальный спрей.

Растворы и суспензии могут быть использованы в качестве назальных спреев. Наличие дозирующих механизмов позволяет обеспечивать равномерное и точное распределение препарата в объемах от 25 до 200 мкл. Выбор дозирующего устройства и соответствующего механизма зависит от размера частиц и их морфологии (в случае суспензий), а также от вязкости самого препарата. Выведение спреев происходит медленнее, так как осаждение происходит в передней части носовой полости. [5].

Назальные спреи и капли считаются эффективными методами для доставки медикаментов через нос, однако, если их использовать неправильно, могут возникнуть ряд проблем. Например, неравномерное распределение препарата в носовой полости, вытекание его из носа или появление неприятного вкуса при попадании в горло. Эти факторы могут существенно снизить как эффективность самого лечения, так и соблюдение предписанного режима терапии. [6].

Свойства состава назального спрея, такие как тиксотропия, поверхностное натяжение и вязкость, потенциально могут влиять на размер капель и однородность дозирования [7,8]. Другие факторы, такие как мощность устройства, размер отверстия и конструкция, также могут влиять на размер капель, что влияет на распределение и осаждение капель [1,9].

- Микро- и наноэмульсии.

Вязкость назальных эмульсий часто является их достоинством при местном использовании. Важнейшими аспектами являются физическая стабильность эмульсионных систем и целевая доставка. Мукоадгезивная микроэмульсия может значительно продлить время контакта с носовой слизистой, что свидетельствует о быстром и полном усвоении активных веществ. В проведенном исследовании авторы статьи продемонстрировали положительные результаты интраназального применения мукоадгезивных микроэмульсий для эффективного лечения разнообразных заболеваний мозга. [5,10].

- Суспензии.

B статье [11] получали мукоадгезивный препарат на основе наносуспензии с улучшенной биодоступностью лоратадина. По итогам работы биодоступность наносуспензии при назальном введении оказалась в 5,54 раза выше по сравнению с пероральным введением.

Результаты, полученные в этом исследовании, указывают на перспективны назальных систем доставки на основе наносусьензии для лоратадина.

- Гели.

Гель представляет собой мягкий, твердый или полутвердый материал, состоящий из двух или более компонентов, один из которых представляет собой жидкость, присутствующую в значительном количестве. Полутвердые характеристики гелей можно определить с точки зрения двух динамических механических свойств: модуля упругости и модуля вязкости G» [6,12]. Реологические свойства гелей зависят от типа полимера, его концентрации и физического состояния геля. Биоадгезивные полимеры показали перспективы при разработке назальных составов, так как могут контролировать скорость и степень высвобождения лекарств, что приводит к снижению частоты приема лекарств и улучшению соблюдения пациентами режима лечения [8]. Более того, длительное время контакта в месте абсорбции может улучшить биодоступность лекарства за счет замедления мукоцилиарного движения [13].

- Липосомы.

Липосомы представляют собой спонтанно образующиеся сферические везикулы с гидрофильным ядром и оболочкой, состоящей из одного (одноламеллярного) или нескольких (мультиламеллярных) фосфолипидных бислоев [6]. Благодаря такой амфифильной структуре липиды могут служить носителями гидрофильных, липофильных и амфипатических лекарственных средств.

- Аэрогели.

В статье приведены результаты разработки систем доставки на основе белковых аэрогелей [14]. Белковые аэрогели получали гелеобразованием при воздействии температуры с последующей сверхкритической сушкой. Полученные частицы белковых аэрогелей имеют удельную поверхность до 350 м2/г при объеме пор до 2,9 см2/г, а также пористость до 95%. Результаты исследований in vivo показали, что кломипрамин - антидепрессант, достигает максимальных концентраций в плазме крови ткани головного мозга крыс на 30 минуте после назального введения.

Результаты исследования отражают перспективное применение полученных инновационных систем назальной доставки для лечения социально значимых заболеваний.

8) Наночастицы.

Наночастицы представляют собой отдельные твердые тела, которые четко отделены от окружающей среды, их размеры варьируются от 1 до 1000 нм.

Среди интраназальных систем доставки лекарств мукоадгезивные наночастицы хитозана (НЧ) обладают способностью снижать мукоцилиарный клиренс, временно проходить через плотные соединения клеток и обеспечивать путь транспорта АФС от мембраны носа в мозг парацеллюлярным путем. Это достигается благодаря размеру наночастиц, повышенной проницаемости и способности инкапсулировать различные АФС [15,16]. Венлафаксин - антидепрессант двойного действия (ингибитор обратного захвата серотонина и норадреналина). Пероральная терапия венлафаксина сталкивается с некоторыми проблемами, такими как медленное начало действия и побочные эффекты, такие как тахикардия, повышение артериального давления, утомляемость, головная боль, головокружение и низкая биодоступность (40-45%). В статье [17] получили наночастицы хитозана с внедренным венлафаксином для усиления проникновения венлафаксина в мозг с помощью интраназальной доставки. Одну фазу, которая содержала раствор поликатиона хитозана, смешивали с другой, которая содержала раствор полианиона триполифосфата натрия при комнатной температуре и венлафаксина. Венлафаксин растворяли в растворе хитозана при соотношении лекарственного средства и полимера 1:1 перед добавлением триполифосфата натрия. Соотношение мозг/кровь для венлафаксина (внутривенно), венлафаксина (внутривенно) и НЧ хитозана венлафаксина (интраназально) составило 0,03, 0,07 и 0,16 соответственно через 0,5 часа, что соответствует улучшенной проницаемости в мозг при использовании НЧ с внедренным венлафаксином, что указывает на более высокую эффективность транспорта лекарств в мозг.

В другой статье авторы [18] исследовали наночастицы альгината и хитозана с внедренным венлафаксином, для лечения депрессии через интраназальный путь доставки из носа в мозг. Фармакодинамические исследования антидепрессивной активности наночастиц альгината и хитозана недренным венлафаксином проводились in vivo помощью теста принудительного плавания. Результаты теста показали, что лечение при назальном введении наночастиц альгината и хитозана с внедренным венлафаксином значительно улучшало параметры поведенческого анализа,

включая плавание, лазание и неподвижность.

В данном исследовании [19] получали наночастицы PLGA-хитозана, с внедренным десвенлафаксином, методом испарения эмульсии растворителя. Показано, что наночастицы PLGA-хитозана с внедренным десвенлафаксином при интраназальном введении значительно уменьшали симптомы депрессии. Показано высокое содержание десвенлафаксина в мозге в разные моменты времени, что продемонстрировало его эффективность при лечении депрессии.

Таблица 1 – разработанные препараты назального ведения для различного применения

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Цель | Симптомы | АФС |
|  | Лечение боли | Производные морфина  (фентанил, диаморфин)  Кеторолак |
|  | Прорывная боль при раке | Фентанил гель |
| Мозг/центральная нервная система | Гормогальное лечение гипофиза | Гонадорелины, такие как бусерелин при раке простаты и нафарелин при стимуляции эндометриозе, преждевременном половом созревании. |
|  | Мигрень | Суматриптан, золмитриптан, буторфанол |
|  | Окситоцин | Десмопрессин(никтурия,  Несахарный диабет) |
|  | Симптомы отмены никотина | Никотин |
|  | Неотложное лечение интермиттирующих  стереотипных частой судорожной активности | Диазепам, мидазолам |
|  | Устойчивая к лечению депрессия | Эскетамин |
|  | Тревога, связанная с анестезией | Дексмедетомидин (утвержденный раствор для внутривенного повторно заполняемый вназальном MAD) |
|  | Передозировка опиоидами | Налоксон |
|  | Диабетический гастропарез | Метоклопрамид |
|  | Заложенность носа и ринорея, вызванная Инфекциями(противоотечные средства) | Адренергические вещества(ксилометазолин, эфедрин, оксиметазолин) Блокатор 1-гистаминовых рецепторов (азеластин) Антихолинергические средства (ипратропия бромид)  Ментол |
| Местное лечение | Носовая инфекция | Неомицина сульфат и хлоргексидина дигидрохлорид (крем) |
|  | Солевой раствор | Влажность и очистка |
|  | Профилактика и лечение аллергического ринита, полипов носа и синусита. | Производные кортикоидов (будесонид, беклометазон, мометазон, триамцинолон, флутиказон) Блокатор 1-гистаминовых рецепторов (азеластин)/стабилизатор тучных клеток (кромогликат) |
|  | Остеопороз | Кальцитонин |
| Системное лечение | Глипогликемия | Глюкагон |
|  | Вакцинация | Вакцина против гриппа А и В |

## 

## 1.6. Отличительные свойства хитина и хитозана.

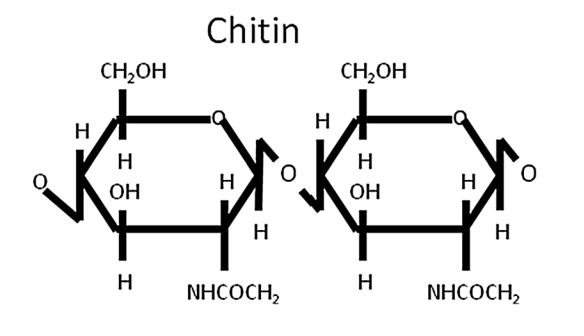
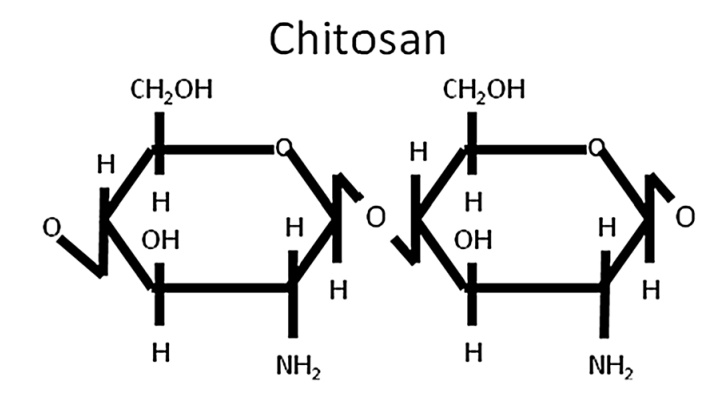


Рис. 1

Хитин (рис. 1) был впервые обнаружен в 1811 году Анри Браконно, проводя исследования грибов. Позднее, в 1859 году, профессор К. Руже обнаружил, что щелочная обработка хитина дает вещество, которое в отличие от хитина может растворяться в кислотах. Хоппе Сейлер назвал этот деацетилированный хитин «Хитозаном» [20]. Хитин — наиболее распространенный биополимер в природе после целлюлозы. Он является основным компонентом кутикул насекомых, клеточных стенок грибов, дрожжей или зеленых водорослей [21]. Биополимер также присутствует в панцирях крабов и креветок [22]. Хитозан, с другой стороны, гораздо менее распространен в природе. Он был обнаружен только в клеточных стенках некоторых грибов. Хитин представляет собой гомополимер остатков N-ацетилглюкозамина, связанных между собою глюкозидными связями -β-(1-4) [23-25]. Существует три основных класса хитина: α, β и γ. α-Хитин имеет антипараллельные цепи, тогда как β-хитин имеет внутрислойные водородные связи параллельными цепями. γ-Хитин представляет собой комбинацию α и β хитина и имеет параллельную и антипараллельную структуру [26]. Превращение хитина в хитозан достигается путем деацетилирования. Процесс может быть как химическим, с использованием концентрированного раствора гидроксида натрия (25–50%) и высокой температуры (90–120 ºC), так и биохимическим, с использованием деацетилаз.(рис. 2)

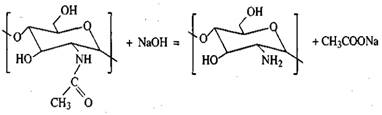


Рис. 2

Хитозан — модифицированный биополимер. Это белый, твердый, неэластичный и азотистый полисахарид. Он содержит три функциональные группы: аминогруппу и первичные и вторичные гидроксильные группы в положениях C2, C3 и C6. Биополимер представляет собой катионный линейный сополимер, состоящий из случайного распределения β (1→4) связанных 2-амино-2-дезокси-D-глюкозы (Dглюкозамина) и 2-ацетамидо-2-дезокси-D-глюкозы (N- ацетил-D-глюкозамина). Хитозан нерастворим в воде, органических растворителях и водных основаниях, однако наличие свободных аминогрупп вдоль цепи делает его, в отличие от хитина, растворимым в разбавленных кислых растворителях. [23-25]. В отличие от ряда используемых биополимеров (полимолочной кислоты, полиэтиленгликоля и др.), имеющих 1-2 реакционноспособные группы на молекулу полимера, хитозан имеет реакционноспособную группу (гидроксильную и/или аминогруппу) в каждом звене. В силу структуры хитозана возможно получение его производных с различным зарядом и гидрофобностью.

Наличие гидроксильных и аминогрупп позволяет ему образовывать водородные и ковалентные связи. При кислом рН (ниже значения рКа хитозана 6,2) аминофункции протонируются. В нейтральном или щелочном диапазоне рН хитозан не заряжен и поэтому нерастворим в водных растворителях. Положительный заряд хитозана обеспечивает ионное взаимодействие между молекулой и отрицательно заряженной поверхностью слизистой оболочки носа, обеспечивающее наличие мукоадгезивного эффекта [28]. Хитозан обладает хорошей биосовместимостью, легко разлагается естественными ферментами организма, не вызывает раздражения и не токсичен. Кроме того, приводятся данные по биодеградации хитозана и его свойствам связываться с клетками in vitro, а также результаты экспериментов in vivo по биосовместимости и противоопухолевой активности.

Молекулярная масса и вязкость в водном растворе также играют важную роль в биохимическом и фармакологическом применении хитозана. Другие основные параметры: кристалличность, зольность, влажность, содержание тяжелых металлов и т. д. [27]. В дополнение к многочисленным сферам применения хитозан также является экологически чистым решением для борьбы с загрязнением, вызванным переработкой морепродуктов. Ежегодно в мире производится 60 000–80 000 тонн отходов ракушек. Такое огромное количество отходов делает деградацию медленным процессом и экологической проблемой. Превращение отходов ракушек в хитин является эффективным решением этой проблемы.

Хитозан находит многогранное применение благодаря своей нетоксичности, биоразлагаемости и антимикробным свойствам. Помимо мукоадгезивных свойств он способен взаимодействовать с плотными соединениями и открывать их, что приводит к увеличению всасывания лекарств. Это свойство делает хитозан хорошо подходящим в качестве системы доставки лекарств для более крупных молекул. Его особенно используют для доставки лекарств антигенов, пептидов и белков.

Хитозан используется в биомедицинской промышленности, сельском хозяйстве, генной инженерии, пищевой промышленности, контроле загрязнения окружающей среды, очистке воды, производстве бумаги, фотографии и т. д.

## 1.7. Наночастицы хитозана как доставка лекарственных препаратов

Доставка лекарственного препарата в определенное место в организме является серьезным осложнением при лечении различных заболеваний [36]. Использование объекта доставки лекарств для уже разработанных лекарственных терапевтических средств обеспечивает улучшение производительности с точки зрения эффективности, безопасности пациента и сокращения количества побочных эффектов. Объекты доставки лекарств, созданные с использованием полимеров, могут усилить фармакокинетику препарата, повысить терапевтический индекс, снизить побочные эффекты и, соответственно, повысить ресурсность всей системы [37]. Как средство доставки терапевтических препаратов, ChNP привлекают внимание из-за их значимости в хранении белковых терапевтических средств, а также генетических и неблагоприятных противоопухолевых химических средств, посредством различных путей поступления, таких как пероральный, назальный и внутривенный [38]. Доставка этого терапевтического средства с помощью Ch в пораженный участок исключительно эффективна из-за положительного заряда NP, что дает им преимущество в виде высокого сродства к отрицательно заряженным клеточным мембранам [39]. Гидрофобная природа Ch влияет на эффективную инкапсуляцию гидрофильных терапевтических средств в ChNP. Еще одним преимуществом ChNP является то, что Ch может увеличивать проницаемость лекарственных средств через абсорбирующий эпителий, разрушая межклеточные плотные контакты посредством транспорта белков плотных

контактов из плазматической мембраны в цитоскелет [36-39]

Наночастицы хитозана (ChNP) обладают характеристиками хитозана и свойствами наночастиц, такими как поверхностный и интерфейсный эффект, малый размер и квантово-размерные эффекты

В исследовании [29] наночастицы хитозана изучали как систему доставки лекарственного вещества природного вещества пиперина. Пиперин алкалоид с нейропротекторным потенциалом для лечения болезни Альцгеймера. Его трудно применять перорально из-за химической структуры вещества. Пиперин имеет очень низкую биодоступность при пероральном приеме из-за его гидрофобности и высокого эффекта первого прохождения. Комбинация наночастицами хитозана защищает препарат от ферментативной деградации и уменьшает раздражение, вызываемое пиперином. В результате исследований in vivo показано, что концентрация пиперина в организме крыс при сочетании с системой доставки лекарств на основе наночастиц хитозана была в 20 раз больше по сравнению с пероральным введением.

Другие исследования показали, что ChNP, загруженные инсулином, также были разработаны для улучшения системной доставки инсулина через носовой ход. Было показано, что НП снижают уровень глюкозы в крови на 52,9% у крыс и на 72,6% у овец, но эти показатели реакции были не лучше, чем у инсулина, растворенного в растворе Х (40,1% у крыс, 53,0% у овец) [35]. Тем не менее, это исследование продемонстрировало потенциал ChNP к перемещению через носовой эпителий в системный кровоток.

Потенциальное использование наночастиц хитозана в качестве носителей проложило путь к разработке широкого спектра коллоидных средств доставки [30]. Наночастицы хитозана могут пересекать биологические барьеры, защищая макромолекулы от деградации в биологических средах. Он также может доставлять лекарства или макромолекулы путем контролируемого высвобождения в целевой участок. Небольшой размер ChNP также делает его эффективным в межфазном взаимодействии с клеточной мембраной, поскольку мелкие частицы будут поглощаться клеткой путем эндоцитоза. Было опубликовано несколько исследований, посвященных способности наночастиц хитозана улучшать биодоступность лекарственных препаратов, изменяя их фармакокинетику и защищая инкапсулированные лекарственные средства. Помимо использования в качестве носителя для пероральной доставки, ChNP также может применяться в других слизистых оболочках, таких как легкие и носовые пути, для доставки пептидов и белков [31].

## 1.8. Способы получения наночастиц хитозана.

Хитозан обладает способностью образовывать гель при контакте с анионами и формировать шарики. Это свойство позволяет использовать его для доставки лекарств. Но все же большой размер этих шариков (1–2 мм) ограничивает его применение

Наночастицы хитозана (ChNP) были впервые описаны в 1994 году Ойей и его коллегами. Они использовали ChNP, полученные путем эмульгирования и сшивания, для внутривенной доставки противоракового препарата 5-фторурацила. С тех пор для синтеза ChNP было использовано много разныхметодов. Например, ионотропное гелеобразование, микроэмульсия, эмульгирование диффузией растворителя, полиэлектролитный комплекс и обратный мицеллярный метод. Из них наиболее широко используемыми являются ионотропное гелеобразование и полиэлектролитный комплекс. Эти методы просты и не требуют применения больших усилий сдвига или использования органических растворителей [33].

# 2. Практическая часть.

В последнее время все больше внимания уделяется наноструктурированным полимерам. Благодаря своей большой удельной поверхности, наночастицы обладают уникальными свойствами, отличными от обычных полимеров, и значительно увеличенной эффективностью. Это открывает широкие перспективы для их использования в различных областях науки и техники, в том числе для создания лекарственных препаратов. Такие структуры большое сродство с клеточной мембраной, а их маленький размер позволяет легко проникать внутрь клетки.

Реактивы: 2% уксусная кислота, хитозан-форте (содержащий инулин, поливинилпирролидон, магниевую соль, стеариновую кислоту) 0,1н NH4OH.

Оборудование: pH-метр Releon, магнитная мешалка, делительная воронка, фильтровальная бумага, электронные весы, химические стаканы, ступка, диализные мешок, пульверизатор, оптический микроскоп, лазер.

Методика выполнения эксперимента:

1. Пробоподготовка.

- Измельчены таблетки «хитозан-форте» в ступке.

- Полученный порошок разведен в горячей дистиллированной воде для расстворения ненужных компонентов

- Проведено фильтрование с помощью фильтровальной бумаги и делительной воронки для получения чистого низкомолекулярного хитозана.

2. Полученный хитозан (0,1 г. средняя молекулярная масса 10 кДа) растворен в 100 мл 2% уксусной кислоты (СН3СООН). (Рис. 3)

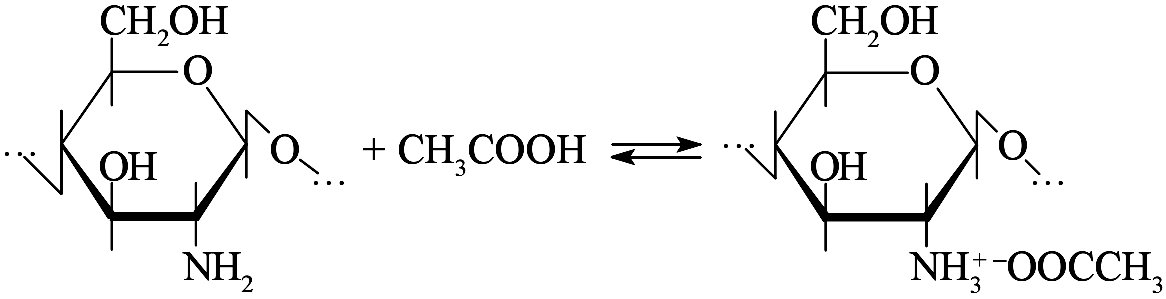


Рис. 3

3. В полученный раствор при перемешивании с помощью магнитной мешалки (300 об/мин) со скоростью 0,1 мл/мин при температуре 20°С до рН 7,0. в течение 2 часов прибавлен 0,1 н. аммиачного раствора (NH4OH) до получения коллоидного раствора. (рис. 4)



Рис. 4

4. Полученная дисперсия центрифургирована

5. Твердый остаток редиспергирован в бидистилляте (0,1 г в 100 мл) и отфильтрован через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. (рис. 5)



Рис. 5

6. Для доказательства наличия наночастиц были использованы эффект Тиндаля и оптическая микроскопия.

1) Эффект Тиндаля - рассеивание видимого света взвешенными частицами микроскопически малого размера, диаметр которых сопоставим с длинами волн видимого света.

Свет лазера рассеивается, что доказывает наличие в растворе наночастиц. (рис. 7)

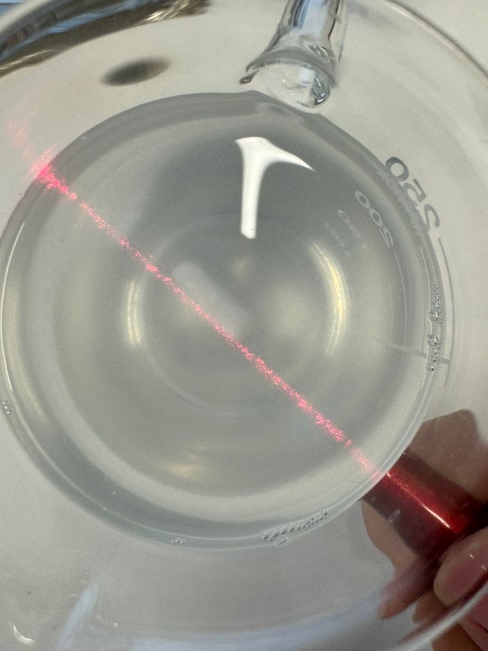
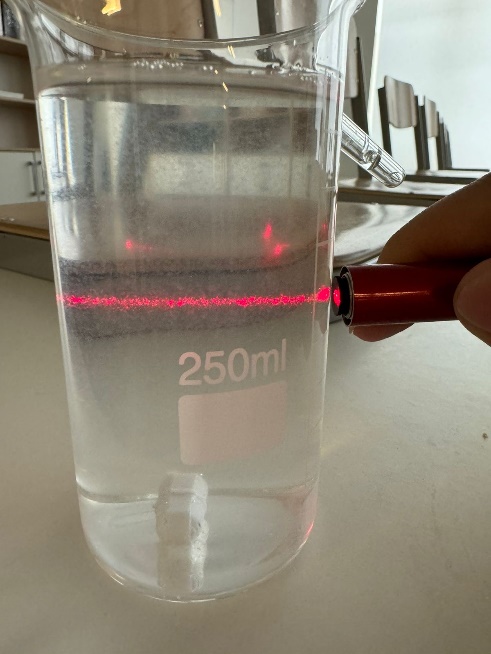


Рис. 7

2) Оптическая микроскопия - методы наблюдения частиц, не различимых человеческим глазом, с использованием оптического микроскопа.

С помощью пульверизатора на предметное стекло был распылен коллоидный раствор. После чего изучен под оптическим микроскопом для доказательства наличия наночастиц. (рис. 8)

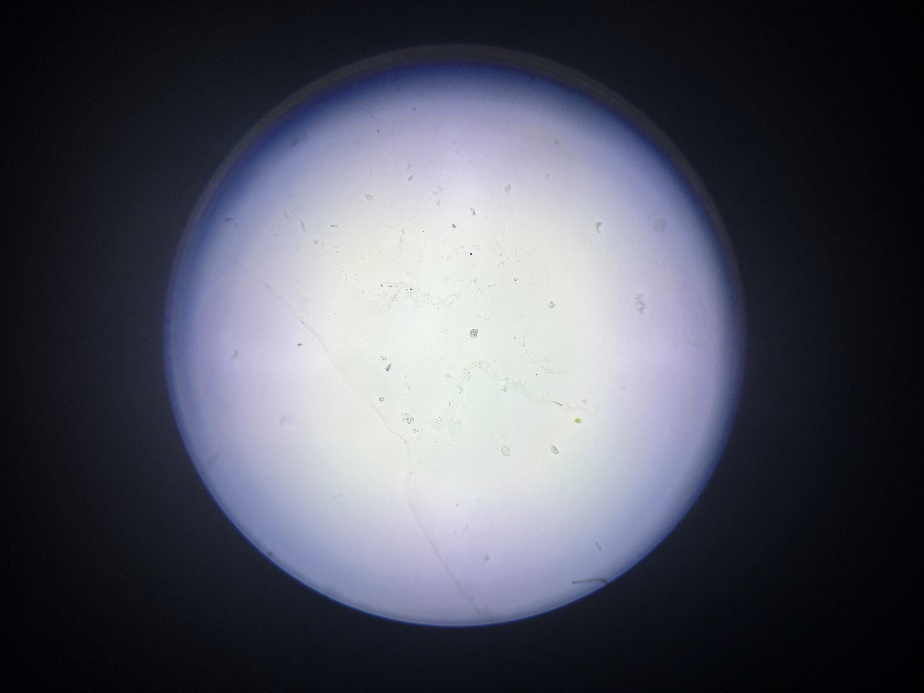


Рис. 8

Однако основной проблемой при получении наночастиц является их чрезвычайно высокая склонность к агрегации в силу высокой удельной поверхностной энергии, поэтому через сутки после проведения исследования произошла их коагуляция наночастиц хитозана. (рис. 9)

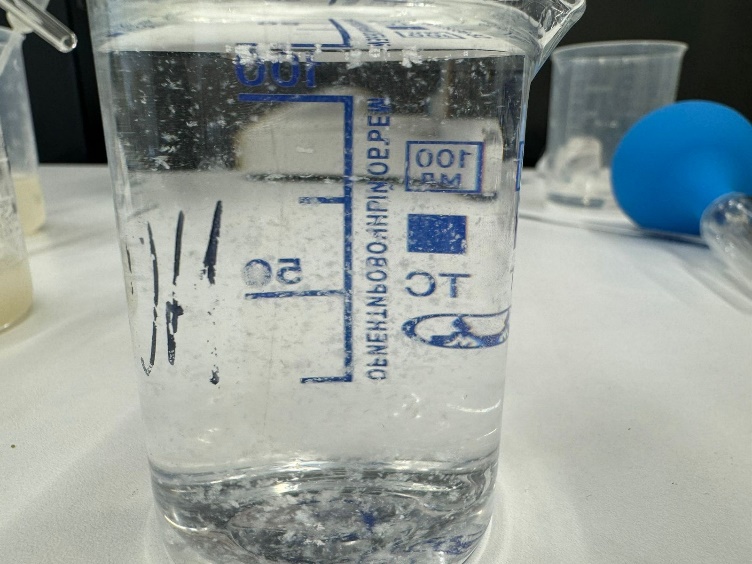


Рис. 9

Поэтому одной из главных задач при получении наночастиц является обеспечение их стойкости к агрегации. Для достижения этой цели можно создать условия, которые будут препятствовать агрегации. К таким условиям относят, например, создание двойного электрического слоя или использование структурных барьеров. Самым перспективным из них считается первый вариант.

3. Заключение

Доставка лекарственных препаратов в целевые участки организма представляет собой сложную задачу в лечении различных заболеваний. Использование систем доставки, основанных на полимерах, позволяет улучшить эффективность, безопасность и снизить количество побочных эффектов. Хитозановые наночастицы (ChNP) являются перспективными средствами для доставки как белковых, так и химических препаратов через различные пути введения — пероральный, назальный и внутривенный. Положительный заряд ChNP обеспечивает высокую аффинность к отрицательно заряженным клеточным мембранам, что делает их особенно эффективными для целевой доставки. Их гидрофобные свойства способствуют эффективной инкапсуляции гидрофильных лекарственных средств. Кроме того, хитозан может повышать проницаемость лекарств через эпителиальный барьер, воздействуя на межклеточные плотные контакты, что способствует улучшению транспортировки активных веществ в клетки. Это делает ChNP многообещающим инструментом для обеспечения более эффективной и безопасной доставки терапевтических средств.

В результате проведенной работы, были решены следующие задачи:

-Был проведен литературный обзор по теме: хитин, хитозан, его наночастицы и свойства

-Были получены наночастицы хитозана

-На основе првоведенных исследований была доказана эффективность назального спрея с наночастицами хитозана

# 

# 4. Список литературы.

1. Gorbachev V.I., Bragina N. V. Blood-brain barrier from the point of view of anesthesiologist. Review. Part 1 // Annals of Critical Care. - 2020. - № 3.- P. 35-45.

2. Kuvacheva N.V. et al. The permeability of the blood-brain barrier is normal, with impaired brain development and neurodegeneration// Journal of Neurology and Psychiatry named after S.S. Korsakov. - 2013. - Vol. 113, No. 4. - C. 80-85.

3. Weiss N. et al. The blood-brain barrrier in brain homeostasis and neurological diseases // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. - 2009. - Vol. 1788, № 4. - P. 842-857

4. Warren K.E. Beyond the Blood: Brain Barrier: The Importance of Central Nervous System (CNS) Pharmacokinetics for the Treatment of CNS Tumors, Including Diffuse Intrinsic Pontine Glioma // Front Oncol. - 2018. - Vol. 8.

5. Tandel H., Florence K., Misra A. Protein and Peptide Delivery through Respiratory Pathway // Challenges in Delivery of Therapeutic Genomics and Proteomics. Elsevier. - 2011. - P. 429-479.

6. Saalbach K. P. Nasal and pulmonary routes of drug delivery // Novel Platforms for Drug Delivery Applications. Elsevier. - 2023. - P. 569-606.

7. Djupesland P.G. Nasal drug delivery devices: characteristics and performance in a clinical perspective - a review // Drug Deliv Transl Res. - 2013. - Vol. 3, № 1. - P. 42-62.

8. Rassu G. et al. Solid microparticles based on chitosan or methyl-B- cyclodextrin: A first formulative approach to increase the nose-to-brain transport of deferoxamine mesylate // Journal of Controlled Release. - 2015. - Vol. 201. - P. 68-77.

9. Kublik H., Vidgren M.T. Nasal delivery systems and their effect on deposition and absorption // Adv Drug Deliv Rev. - 1998. - Vol. 29, № 1-2. - P. 157-177.

10. Jogani V. V. et al. Intranasal Mucoadhesive Microemulsion of Tacrine to Improve Brain Targeting // Alzheimer Dis Assoc Disord. - 2008. - Vol. 22, № 2. - P. 116-124.

11. Alshweiat A. et al. Nasal delivery of nanosuspension-based mucoadhesive formulation with improved bioavailability ofatadine: Preparation, characterization, and in vivo evaluation // Int J Pharm. - 2020. - Vol. 579.

12. Chaturvedi M., Kumar M., Pathak K. A review on mucoadhesive polymer used in nasal drug delivery system // J Adv Pharm Technol Res. - 2011. - Vol. 2.

13. Patil S., Sawant K. Mucoadhesive Microspheres: A Promising Tool in Drug Delivery // Curr Drug Deliv. - 2008. - Vol. 5, № 4. - P. 312-318.

14. Lovskaya D. et al. Preparation of Protein Aerogel Particles for the Development of Innovative Drug Delivery Systems // Gels. - 2002. - Vol. 8, № 12.

15. Xu J., Tao J., Wang J. Design and Appplication in Delivery System of Intranasal Antidepressants // Front Bioeng Biotechnol. - 2020. - Vol. 8.

16. Chen J. et al. Spatiotemporally Targeted Nanomedicine Overcomes Hypoxia- Induced Drug Resistance of Tumor Cells after Disrupting Neovasculature // Nano Lett. - 2020. - Vol. 20, № 8. - P. 6191-6198.

17. Haque S. et al. Venlafaxine loaded chitosan NPs for brain targeting: Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation // Carbohydr Polym. - 2012. - Vol. 89, № 1. - P. 72-79.

18. Haque S. et al. Development and evaluation of brain targeted intranasal alginate nanoparticles for treatment of depression // J Psychiatr Res. - 2014. - Vol. 48, № 1. - Р. 1-12.

19. Tong G.-F., Qin N., Sun L.-W. Development and evaluation of Desvenlafaxine loaded PLGA-chitosan nanoparticles for brain delivery // Saudi Pharmaceutical Journal. - 2017. - Vol. 25, № 6. - P. 844 851.

20. Badawy MEI, Rabea EI (2011) A biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. Int J Carbohydr Chem 2011:1–29

21. Einbu A, Vayrum KM (2008) Characterization of chitin and its hydrolysis to glcnac and glcn. Biomacromol 9(7):1870–1875

22. Van SN, Minh HD, Anh DN (2013) Study on chitosan nanoparticles on biophysical characteristics and growth of robusta cofee in green house. Biocatal Agric Biotechnol 2(4):289–294

23. Yen MT, Mau JL (2007) Selected physical properties of chitin prepared from shiitake stipes. LWT Food Sci Technol 40(3):558–563

24. Yen MT, Yang JH, Mau JL (2008) Antioxidant properties of chitosan from crab shells. Carbohydr Polym 74(4):840–844

25. Yen MT, Yang JH, Mau JL (2009) Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. Carbohydr Polym 75(1):15–21

26. Franca EF, Lins RD, Freitas LCG, Straatsma TP (2008) Characterization of chitin and chitosan molecular structure in aqueous solution. J Chem Theory Comput 4(12):2141–2149

27. Rinaudo M (2006) Chitin and chitosan: properties and applications. Prog Polym Sci 31(7):603–632

28. Ways T., Lau W., Khutoryanskiy V. Chitosan and its derivatives for

application in mucoadhesive drug delivery systems // Polysers (Basel). - 2018. -

Vol. 10, № 3. - P. 1-37.

29. Elnaggar Y.S.R. et al. Intranasal Piperine-Loaded Chitosan Nanoparticles as

Brain-Targeted Therapy in Alzheimer's Disease: Optimization, Biological Efficacy,

and Potential Toxicity // J Pharm Sci. - 2015. - Vol. 104, № 10, - P. 3544-3556.

30. Malmiri HJ, Jahanian MAG, Berenjian A (2012) Potential applications of chitosan nanoparticles as novel support in enzyme immobilization. Am J Biochem Biotechnol 8(4):203–219

31. Fernandez-Urrusuno R, Calvo P, Remuan-Lopez C, Vila-Jato JL, Alonso MJ (1999) Enhancement of nasal absorption of insulin using chitosan nanoparticles. Pharm Res 16(10):1576–1581

32. Kalyan, S.; Sharma, P.; Garg, V.; Kumar, N.; Varshney, J. Recent advancement in Chitosan based formulations and its pharmaceutical application. Der Pharm. Sin. 2010, 1, 195–210.

33. Buga AM, Docea AO, Albu C, Malin RD, Branisteanu DE, Ianosi G, Ianosi SL, Iordache A, Calina D. Molecular and cellular stratagem of brain metastases associated with melanoma. Oncol Lett. 2019;17(5):4170–5.

34. Langer, R.; Peppas, N.A. Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems. Biomaterials 1981, 2, 201–214. [CrossRef]

35. Wen, H.; Jung, H.; Li, X. Drug delivery approaches in addressing clinical pharmacology-related issues:

Opportunities and challenges. AAPS J. 2015, 17, 1327–1340. [CrossRef]

36. Sung, H.-W.; Sonaje, K.; Liao, Z.-X.; Hsu, L.-W.; Chuang, E.-Y. pH-responsive nanoparticles shelled with chitosan for oral delivery of insulin: From mechanism to therapeutic applications. Acc. Chem. Res. 2012, 45, 619–629. [CrossRef] [PubMed]

37. Assa, F.; Jafarizadeh-Malmiri, H.; Ajamein, H.; Vaghari, H.; Anarjan, N.; Ahmadi, O.; Berenjian, A. Chitosan magnetic nanoparticles for drug delivery systems. Crit. Rev. Biotechnol. 2017, 37, 492–509. [CrossRef]

38. Smith, J.; Wood, E.; Dornish, M. Effect of chitosan on epithelial cell tight junctions. Pharm. Res. 2004, 21,

39. Kaiser, M.; Pereira, S.; Pohl, L.; Ketelhut, S.; Kemper, B.; Gorzelanny, C.; Galla, H.-J.; Moerschbacher, B.M.; Goycoolea, F.M. Chitosan encapsulation modulates the effect of capsaicin on the tight junctions of MDCK cells. Sci. Rep. 2015, 5, 10048. [CrossRef]