# **Государственное бюджетное общеобразовательное учреждение города Москвы «Школа № 1505 «Преображенская»**

**РАЗРАБОТКА ПЛЕНОК ИЗ ВОДОРАСТВОРИМОГО ПОЛИМЕРА ДЛЯ СУБЛИНГВАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ**

Выполнила:

Гаязова Алина Рустамовна,

ученица 10 класса «В», школа № 1505

Научные руководители:

Шинкарева Мария Владимировна,

Аспирант, НОЦ БиоИнж, НИТУ «МИСИС»

Зайцева Светлана Владимировна,

Аспирант, НОЦ БиоИнж, НИТУ «МИСИС»

Научный консультант:

Сенатов Фёдор Святославович,

к.ф.-м.н., директор НОЦ БиоИнж, НИТУ «МИСИС»

**Москва, 2022/2023 г.**

**СОДЕРЖАНИЕ**

| ВВЕДЕНИЕ | **3** |
| --- | --- |
| Раздел 1. Литературный обзор | **4** |
| 1.1. Сублингвальная доставка | **4** |
| 1.2. Альгинат натрия | **6** |
| Раздел 2. Материалы и методы | **7** |
| 2.1. Место и сроки выполнения | **7** |
| 2.2. Оборудование и материалы  | **7** |
| 2.3. Получение пленок из альгината натрия и формирование образцов | **7** |
| 2.4. Исследование дезинтеграции и растворения полученных пленок | **8** |
| 2.5. Оценка выхода лекарственного препарата из образцов | **8** |
| Раздел 3. Результаты | **10** |
| 3.1. Характеристики полученных пленок | **10** |
| 3.2. Время дезинтеграции и полного растворения | **11** |
| 3.3. Выход лекарственного препарата | **11** |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | **13** |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | **14** |

**ВВЕДЕНИЕ**

Пленки, растворяющиеся во рту, представляют собой уникальные фармацевтические препараты, которые были введены в конце 1970-х для обеспечения легкого и удобного способа введения лекарств . Посредством сублингвальной доставки лекарственные средства поступают непосредственно в системный кровоток, проникая через слизистую, имеющую множество сосудов, что приводит к быстрому введению лекарственного средства. Улучшенная биодоступность и абсорбция проявляются за счет предотвращения эффекта первого прохождения [1]. Также сублингвальное введение препарата, учитывая его прямое попадание в кровь, может быть альтернативой инъекции, что актуально для людей с трипанофобией и людей, имеющих дисфагию [2]. Помимо этого сублингвальная доставка была признана потенциальной альтернативой для доставки белков, таких как инсулин для лечения диабета или вакцинных антигенов [3].

В течение последнего десятилетия многие фармацевтические компании пересматривают стратегии производства носителей и средств доставки своих препаратов, чтобы повысить их эффективность. Хотя исследователи направляют большие усилия на разработку систем для сублингвальной доставки, лишь немногие препараты появились на рынке в настоящее время [2]. Это может быть связано с отсутствием оптимального носителя лекарств, поиску которого и посвящена настоящая работа.

На основании выше изложенного была сформулирована цель работы – разработка биорезорбируемых полимерных пленок для сублингвальной доставки.

 Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Анализ литературы с целью подбора материала;
2. Получение пленок методом литья и формирование образцов;
3. Исследование скорости растворения пленок в фосфатно-солевом буфере при 37ºС;
4. Оценка выхода лекарственного препарата из полученных пленок.

Рабочая гипотеза: в результате работы будут получены биорезорбируемые полимерные пленки, которые станут оптимальной системой для сублингвальной доставки лекарств.

**Раздел 1. Литературный обзор**

**1.1. Сублингвальная доставка**

Сублингвальная доставка - приём определённого лекарства путем размещения его под языком. Слизистая оболочка ротовой полости считается потенциальным местом для доставки веществ, поскольку она позволяет обойти эффект первого прохождения (процесс трансформации лекарства, который приводит к его инактивации еще до того, как лекарство попадает в системный кровоток, в основном, место, где это происходит - печень), обладает низкой ферментативной активностью, физиологическим диапазоном pH, высокой проницаемостью и находится в легком физическом доступе. Она составляет 15% всей слизистой и пронизана большим количеством сосудов [4].

В отличие от суровой среды желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в ротовой полости довольно благоприятные для доставки лекарств условия, поскольку ЖКТ имеет такие минусы, как изменение рН от 1–2 до 7–7,4, наличие многочисленных пищеварительных ферментов и кишечную флору.

Важным фактором для сублингвальной доставки является слюна. По сравнению с секретом желудочно-кишечного тракта, слюна представляет собой относительно подвижную жидкость с меньшим содержанием ферментов, что особенно благоприятно для доставки белков и пептидов (семейство веществ, молекулы которых построены из двух и более остатков аминокислот, соединённых в цепь пептидными связями —CNH).

Слюна обеспечивает богатую водой среду ротовой полости, которая может быть выгодной для высвобождения лекарств из систем доставки, особенно на основе гидрофильных полимеров. Однако поток слюны может привести к преждевременному проглатыванию препарата до его эффективного всасывания [4]. Таким образом, несмотря на некоторые сложности, среда ротовой полости представляет собой относительно удобные для доставки условия.

Системы для сублингвальной доставки можно разделить на системы быстрого высвобождения лекарственного препарата, пульсирующего высвобождения с быстрым попаданием в системный кровоток и последующим поддержанием концентрации лекарственного препарата в пределах терапевтического профиля, контролируемого высвобождения [4].

В настоящее время несколько компаний занимаются разработкой и коммерциализацией технологий для сублингвальной доставки. Большинство коммерчески доступных систем представляют собой твердые лекарственные формы, такие как таблетки и леденцы [4]. В научной среде активно ведутся разработки систем для сублингвальной доставки, которые представляю собой таблетки, наночастицы, нетканые материалы и жидкости [5].

Перспективными материалами для изготовления системы для сублингвальной доставки считаются гидрофильные полимеры. Помимо гидрофильности, полимер также должен быть биосовместимым, нетоксичным, экономически выгодным и придавать достаточную гибкость готовому продукту [4]. К таковым можно отнести альгинат натрия.

Помимо материала для изготовления продукта, конечно требуется сам препарат, который и надо доставить. Механизм сублингвальной доставки и некоторый другие условия определяют, может ли быть лекарство использовано для доставки. Об этом ниже.

 В проникновении лекарств через слизистую оболочку полости рта преобладают два основных пути: трансцеллюлярный и межклеточный пути (Рис.1). Трансцеллюлярный путь - путь, который позволяет веществам пересекать эпителий через клетки, минуя апикальную и базолатеральную мембраны-тонкий бесклеточный слой толщиной 20—200 нм, отделяющий соединительную ткань от различных клеток.Трансцеллюлярный путь является основным путем проникновения липофильных препаратов.

Межклеточный путь – это путь, который позволяет соединениям диффундировать (смешиваться путем диффузии), проникая через межклеточные липиды. Гидрофильные препараты обычно всасываются через межклеточный путь [6].



Рисунок 1- Иллюстрация межклеточного(a) трансцеллюлярного(b) путей на примере кожи [7]

Не все лекарства подходят для сублингвальной доставки из-за особенностей слизистой оболочки полости рта или неподходящих физико-химических свойств многих лекарственных средств.

Следующие критерии являются существенными при определении возможности доставки препарата сублингвальным путем:

* Потребность в быстром действии препарата;
* Низкая биодоступность из-за эффекта первого прохождения;
* Достаточная эффективность препарата при низкой дозе;
* Хорошая проницаемость через слизистую оболочку;
* Низкая молекулярная масса (<500 Да) [6];
* Растворимость в секрете слюны;
* pH и pKa(константа диссоциации кислоты) слюны (поскольку средний pH слюны составляет 6,0, это способствует всасыванию лекарств, которые не ионизируются; также всасывание препаратов через слизистую оболочку полости рта происходит, если pKa больше 2 для кислоты и меньше 10 для основания) [8].

**1.2. Альгинат натрия**

Альгинат натрия (АН) - полисахарид, натриевая соль альгиновой кислоты, растворимая в воде и не имеющая вкуса и запаха. Добывается из бурых водорослей. В разных странах производство альгинатов осуществляется по собственным технологиям, однако, принципиальная схема выделения альгинатов из водорослей остается неизменной и состоит из следующих основных операций: предварительная обработка водорослей, экстракция альгината (извлечение вещества из раствора или сухой смеси с помощью растворителя, практически не смешивающегося с исходной смесью), осаждение альгиновой кислоты и получение из нее необходимых солей натрия, кальция, калия и др. Далее на морские водоросли воздействуют разбавленным щелочным раствором, который превращает кислоту в соль (например, альгинат натрия) [9].

Обладает мукоадгезивными свойствами (способность некоторых материалов к прилипанию к поверхности слизистых тканей в теле человека или животных).

Альгиновая кислота и ее натриевые и кальциевые соли считаются нетоксичными и биосовместимыми. Альгинат одобрен Европейской фармакопеей (Ph.Eur.) [9].

Альгинаты зарекомендовали себя как наиболее универсальные биополимеры, широко используемые в разных сферах. Они широко используются в фармацевтической, косметической и пищевой промышленности. Альгинат натрия используется в качестве вспомогательного вещества, регулирующего скорость в системах доставки лекарственных средств, связующего и разрыхляющего агента в таблетках, в качестве суспендирующего агента и загустителя в смесях (гели, лосьоны и крема) [9].

**Раздел 2.** **Материалы и методы**

**2.1. Место и сроки выполнения работы**

Работа проводилась с 22 ноября 2022 года по 3 февраля 2023 года.

Практическая часть работы осуществлялась на базе НОЦ Биомедицинской инженерии, НИТУ «МИСИС».

**2.2. Оборудование и материалы**

Материалы:

Альгинат натрия (Sigma Aldrich, Англия);

Глицерин (Женел Трейд, Россия);

Пищевой краситель «Блестящий синий», Е133 (Россия);

Фосфатно-солевой буфер (ФСБ) pH 7,2-7,6 (ЭКО-СЕРВИС, Россия)

Оборудование:

Аналитические весы Adventurer (OHAUS, США);

Магнитная мешалка MSH-300 (Biosan, Латвия);

Стерилизатор модели ​​«Стандарт+» ГП-20 СПУ (Смоленское СКТБ СПУ, Россия);

Орбитальный шейкер OS-20 (Biosan, Латвия);

Чашки Петри 100 мм (Corning, США);

Микрометр (Калибр, СССР);

Пипет-дозатор 200 мкл (Sartorius, Германия);

Спектрофотометр Varioskan LUX (Thermo Fisher Scientific, США).

**2.3. Получение пленок из альгината натрия и формирование образцов**

Пленки из альгината натрия получали методом литья (заливание вещества в жидком агрегатном состоянии в заранее приготовленную литейную форму, полость которой имеет форму заготовки). Были приготовлены 8 растворов различного вида, описанных в таблице 1. Для этого на аналитических весах взвешивали необходимую навеску альгината натрия и наливали дистиллированную воду в лабораторный стакан. Получение раствора происходило путем непрерывного перемешивания на магнитной мешалке в течение 2 часов при 60 ⁰С.

Для приготовления пленок с глицерином и/или красителем их добавляли к раствору после полного растворения альгината натрия и снова перемешивали. Затем полученные растворы объемом 30 мл выливали в чашку Петри диаметром 100 мм и оставляли в стерилизаторе при 60⁰С на 3-5ч. После этого пленки нарезали на квадратики размерами 2х2 см, которые в дальнейшем выступали в качестве образцов. Толщину образцов измеряли с помощью микрометра в 6 различных местах, толщину пленки рассчитывали, как среднее значение.

Таблица 1 ̶ Виды растворов для приготовления пленок

| Образец | Содержание альгината натрия, % | Дистиллированная вода, мл | Краситель, мкл | Глицерин, мкл |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 2%АН  | 2 | 30 мл | - | - |
| 2%АН Гл  | 2 | - | 146 |
| 4%АН  | 4 | - | - |
| 4%АН Гл  | 4 | - | 298 |
| 2%АН Краситель | 2 | 100 | - |
| 2%АН Гл Краситель | 2 | 100 | 146 |
| 4%АН Краситель | 4 | 100 | - |
| 4%АН Гл Краситель | 4 | 100 | 298 |

**2.4. Исследование дезинтеграции и растворения полученных пленок**

Дезинтеграцию (разрушение тел на отдельные частицы) и растворение пленок наблюдали, растворяя полученные образцы в ФСБ и фиксируя время дезинтеграции и растворения. ФСБ готовили согласно инструкции производителя (1 таблетка на 100 мл дистиллированной воды) и подогревали до температуры 37 ºС.

Для растворения образца в чашку Петри диаметром 100 мм, размещенную на орбитальном шейкере, наливали 20 мл подогретого ФСБ, в который погружали образец. Орбитальный шейкер включали на 100 об/мин и наблюдали за растворением пленки, замеряя время растворения при помощи секундомера.

Время дезинтеграции принимали равным отрезку времени, прошедшему с погружения образца в ФСБ до начала разрушения пленки. Время растворения пленки принимали равным отрезку времени, прошедшему от погружения образца в ФСБ до момента, когда частицы пленки становились неразличимы визуально. Все образцы были взяты в трех повторах, а время дезинтеграции и полного растворения рассчитывали как среднее значение.

**2.5. Оценка выхода лекарственного препарата из образцов**

Для данного исследования использовались образцы пленок с красителем, где он выступал в качестве модели лекарственного препарата. Пленки растворяли аналогичным образом, описанным в п. 2.4. Для оценки выхода лекарственного препарата из чашки Петри отбирали пробы в 8 временных точках и размещали их в 96-луночном планшете. Каждая проба составляла 200 мкл. За нулевой контроль брался ФСБ без красителя, за 100%-ый контроль считали пробу, взятую после полного растворения пленки. Оптическая плотность (мера непрозрачности слоя вещества для световых лучей) проб измерялась с помощью многофункционального анализатора при 630 нм.

Выход лекарственного препарата вычисляли с помощью формулы 1:

$Выход =\frac{ОП (проба) -ОП(нулевой контроль)}{ОП(100\% контроль)-ОП(нулевой контроль)},$ (1)

где ОП - оптическая плотность.

Все образцы были взяты в трех повторах, а выход лекарственного препарата рассчитывали, как среднее значение. Для вычислительных действий и построения графиков использовалось программное обеспечение Microsoft Excel.

**Раздел 3. Результаты**

**3.1. Характеристики полученных пленок**

Полученные пленки имели гладкую глянцевую поверхность, легко изымались из чашки Петри. Фотографии полученных пленок представлены на рисунке 1.



Рисунок 2 – Пленка без добавления красителя (слева), пленка с добавлением красителя(справа)

При нарезке пленок на образцы размерами 2х2 см было выяснено, что пленки из 4% раствора АН были более хрупкими по сравнению с пленками из 2% раствора АН. Пленки без глицерина были более хрупкими по сравнению с пленками с глицерином, что объясняется тем, что глицерин является пластификатором. Фотографии полученных образцов представлены на рисунке 2.



Рисунок 3 – Готовые образцы пленок

В таблице 2 представлены результаты измерения толщин пленок, полученные с помощью микрометра. Толщины всех пленок находятся в пределах диапазона от 5 до 200 мкм, который оптимален для пленок для сублингвальной доставки [10].

Таблица 2 – Толщины полученных пленок

| Образец | Толщина(мкм) |
| --- | --- |
|
| 2%АН  | 46±11 |
| 2%АН Гл  | 62±20 |
| 4%АН  | 117±48 |
| 4%АН Гл  | 140±46 |
| 2%АН Краситель | 40±9 |
| 2%АН Гл Краситель | 72±16 |
| 4%АН Краситель | 107±19 |
| 4%АН Гл Краситель | 160±13 |

**3.2. Время дезинтеграции и полного растворения**

Время дезинтеграции и полного растворения различались у разных образцов. Фиксированные значения этих параметров представлены в таблице 3. По данным из таблицы видно, что увеличение концентрации альгината натрия и наличие глицерина в составе пленки увеличивает время дезинтеграции и полного растворения.

Таблица 3 - Время дезинтеграции и полного растворения

|  | 2%АН Краситель | 2%АН Гл Краситель | 4%АН Краситель | 4%АН Гл Краситель |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Время дезинтеграции | 54 сек | 2 мин 50 сек | 1 мин 32 сек | 3 мин 26 сек |
| Время полного растворения |  3 мин | 9 мин 20 сек | 6 мин 32 сек | 14 мин 30 сек |

**3.3. Выход лекарственного препарата**

С помощью программного обеспечения Microsoft Excel был построен график зависимости выхода лекарственного препарата в процентах от времени растворения образца(Рисунок 3).

На графике мы можем наблюдать постепенный выход препарата по мере растворения образца. Отсутствуют какие-либо признаки резкого выхода препарата, что говорит о том, что он достаточно хорошо распределился в растворе до формирования пленки.



Рисунок 4 – Зависимость выхода красителя от времени растворения

**Заключение**

В результате анализа ряда вышеперечисленных фактов из литературного обзора сублингвальная доставка представляет собой привлекательную стратегию для введения лекарств. Помимо легкого средства введения лекарственных препаратов без потребности в воде, такие пленки могут обеспечить быстрое действие лекарства в результате стремительного распада пленки и высвобождения лекарственного препарата.

Далее о практической части. В ходе работы был получен и исследован ряд пленок из альгината натрия. Толщины всех пленок соответствуют диапазону пленок для сублингвальной доставки. При нарезке пленок на образцы самыми хрупкими оказались пленки из 4% раствора АН. Добавление глицерина не особенно повлияло на удобство в работе с пленками, приготовленными из 4% раствора АН. Это важный фактор, так как пленки должны содержать определенную дозу лекарства, а также не должны ломаться при транспортировке.

Время дезинтеграции и полного растворения пленок увеличивалось по мере увеличения концентрации альгината натрия и наличия глицерина. Пленки, в которые был добавлен глицерин, обладают большей стабильностью по сравнению с остальными пленками, что является плюсом, так как это препятствует потенциальному вымыванию кусочков пленки из-под языка.

Также надо отметить, что, основываясь на графике выхода красителя, пленки, полученные в данной работе, характеризуются постепенным выходом лекарственного препара. Такие пленки не подойдут для лекарств, требующих мгновенного выхода, например, инсулина или препаратов от мигрени.

В данной работе в качестве модели лекарства использовался краситель, но при добавление различных лекарственных препаратов вышеперечисленные показатели могут меняться и для каждого лекарства надо проводить отдельное исследование, чтобы понять точный состав подходящего для изготовления пленок раствора.

В конечном счете, пленки из альгината натрия имеют возможность успешно использоваться для сублингвальной доставки и требуют дальнейших исследований.

В заключение хочу поблагодарить Сенатова Ф. С. за доступ к оборудованию, Шинкареву М.В. и Зайцеву С.В. за консультирование работы, помощь в проведении практической части.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Bala R., Pawar P., Khanna S., Arora S. Orally dissolving strips: A new approach to oral drug delivery system / R. Bala et al. // International Journal of Pharmaceutical Investigation. - 2013. – T. 3 - №2. - P. 67.
2. Alqahtani M., Kazi M., Alsenaidy M. A., Ahmad, M. Advances in Oral Drug Delivery / M. Alqahtani et al. // Frontiers in Pharmacology. - 2021. – T. 12. - P. 12.
3. Paris A., Caridade S. G., Colomb E., Bellina M. Sublingual protein delivery by a mucoadhesive patch made of natural polymers / M. Alqahtani et al. // Acta Biomaterialia. - 2021. – T. 128. - P. 222–235.
4. Patel V., Liu F., Brown M. B. Advances in oral transmucosal drug delivery // Journal of Controlled Release. - 2011. – T. 153. - №2. - P. 106–116.
5. Hanson S. G., Singh S., Tabet A., Sastry K. J. Mucoadhesive wafers composed of binary polymer blends for sublingual delivery and preservation of protein vaccines. / Sastry K. J. et al. // Journal of Controlled Release. - 2021. – T. 330. - P. 427–437.
6. Zhijun W., Moses S. C. Overview and appraisal of the current concept and technologies for improvement of sublingual drug delivery // Therapeutic delivery. - 2013. – T. 5 - №7. - P. 807–816.
7. Zoabi A., Touitou E., Margulis K. Recent Advances in Nanomaterials for Dermal and Transdermal Applications. // Colloids and Interfaces. - 2021. – T. 5.- №1. - P. 18.
8. Bala R., Pawar P., Khanna S., Arora S. Sublingual mucosa as a route for systemic drug delivery // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. - 2013. – T. 3 - №2. - P. 18–22.
9. Tønnesen H., Karlsen J. Alginate in Drug Delivery Systems // Drug Development and Industrial Pharmacy. - 2002. – T. 28.- №6. - P. 621–630.
10. Lai K. M., Fang Y., Han H., Li Q. Orally-dissolving film for sublingual and buccal delivery of ropinirole. / Li Q. et al. // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. - 2018. – T. 163. - P. 9–18.