

Научная статья
УДК 661.124:615.33
EDN: YSVNQA
DOI: 10.21285/achb.952



Полимерные конъюгаты цефотаксима и кинетика его высвобождения

Т.Г. Тюрина, Т.В. Крюк, Н.О. Шевчук✉

Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко,
Донецк, Донецкая Народная Республика, Российская Федерация

Аннотация. Целью проведенного исследования являлось изучение продуктов взаимодействия в растворе антибиотика цефотаксима с янтарным ангидридом, сополимером малеинового ангидрида и диальдегидной формой пшеничного крахмала. Показано, что в результате реакции цефотаксима с янтарным ангидридом образуется сукцинамид; для сополимера малеинового ангидрида вероятно связывание цефотаксима по типу нековалентного межмолекулярного взаимодействия. Обнаружено образование азометинового производного окисленного полисахарида с цефотаксимом, мольное соотношение исходных глюкозидных звеньев крахмала, диальдегидных непрореагировавших и связанных с цефотаксимом азометиновой связью составляет 0,204:0,606:0,19. Изучено высвобождение лекарственного вещества из полученной матричной формы в различных биорелевантных средах (физраствор, фосфатный буфер, буфер Трис-HCl). Установлено, что количество высвободившегося цефотаксима приближается к 100% за 10 ч, процесс его высвобождения протекает по двум фазам. В течение первой фазы (1–2 ч) в раствор выходит от 70 (pH 7,4–8,0) до 35% (pH 7,14) лекарственного вещества, после чего скорость процесса существенно снижается. Обработка кинетических данных по уравнениям первого порядка и Хигучи показала соответствие обоим моделям. Найденные константы скорости возрастают пропорционально величине pH раствора. Предполагается, что первоначально протекает гидролиз азометиновой связи с отщеплением молекул цефотаксима от полимерной матрицы, затем растворение находящихся на поверхности макромолекул окисленного крахмала, вследствие повышения вязкости слоя раствора, окружающего частицу конъюгата, скорость гидролиза снижается. В целом высвобождение цефотаксима из конъюгата протекает как реакция псевдопервого порядка, сопровождающаяся вкладом диффузионных процессов.

Ключевые слова: конъюгат, цефотаксим, янтарный ангидрид, сополимер малеинового ангидрида, окисленный крахмал, высвобождение

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания Министерства образования и науки Российской Федерации, проект FRES-2023-0002.

Для цитирования: Тюрина Т.Г., Крюк Т.В., Шевчук Н.О. Полимерные конъюгаты цефотаксима и кинетика его высвобождения // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2024. Т. 14. N 4. С. 472–481. DOI: 10.21285/achb.952. EDN: YSVNQA.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Polymeric conjugates of cefotaxime and its release kinetics

Tatyana G. Tyurina, Tatyana V. Kryuk, Natalia O. Shevchuk✉

L.M. Litvinenko Institute of Physical Organic and Coal Chemistry,
Donetsk, Donetsk People's Republic, Russian Federation

Abstract. The present study examines reaction products in the solution of antibiotic cefotaxime with succinic anhydride, maleic anhydride copolymer, and dialdehyde wheat starch. The reaction of cefotaxime with succinic anhydride is shown

© Тюрина Т.Г., Крюк Т.В., Шевчук Н.О., 2024

to produce succinamide; to maleic anhydride copolymer, cefotaxime is likely to bind via noncovalent intermolecular interactions. An azomethine derivative of oxidized polysaccharide with cefotaxime was found to form; the molar ratio of initial glucosidic units in starch, unreacted dialdehyde units, and those bonded to cefotaxime through the azomethine linkage is 0.204:0.606:0.19. Drug release from the obtained matrix form was studied in different biorelevant media (saline, phosphate buffer, and Tris-HCl buffer). The amount of cefotaxime released in ten hours was found to approach 100%. Its release proceeds in two phases. In the first phase (1–2 h), 35 (pH 7.14) to 70% (pH 7.4–8.0) of the drug substance is released into the solution, followed by a significant decrease in the release rate. The processing of kinetic data using the first-order and Higuchi equations revealed consistency with both models. The obtained rate constants increase in proportion to the solution pH. It is assumed that first, the azomethine bond hydrolysis occurs with the release of cefotaxime molecules from the polymer matrix; then, the macromolecules of oxidized starch residing on the surface are dissolved; due to an increase in the viscosity of the solution layer surrounding the conjugate particle, the hydrolysis rate decreases. In general, cefotaxime release from the conjugate proceeds as a pseudo-first-order reaction accompanied by diffusion processes.

Keywords: conjugate, cefotaxime, succinic anhydride, maleic anhydride copolymer, oxidized starch, release

Funding. Ministry of Education and Science of the Russian Federation supported the work (State task FRES-2023-0002).

For citation: Tyurina T.G., Kryuk T.V., Shevchuk N.O. Polymeric conjugates of cefotaxime and its release kinetics. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(4):472–481. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.952. EDN: YSVNQA.

ВВЕДЕНИЕ

Конъюгаты полимер – лекарство считаются эффективными фармацевтическими средствами благодаря возможности адресной доставки, контролируемого высвобождения и снижения токсичности лекарственных препаратов. Данный вид полимерной терапии активно развивается последние 40 лет, в результате чего на рынке появился ряд конъюгатов полимер – фармацевтический агент и полимер – белок; также большое количество подобных систем проходит клинические испытания в настоящее время [1].

Тем не менее существует еще много проблем, которые открывают возможности для дальнейшего развития исследований, направленных на разработку новых полимерных конъюгатов. В частности, проблемой является повышение неэффективности существующего арсенала антибиотиков в результате эволюции патогенов с лекарственной устойчивостью из-за массового употребления антимикробных препаратов [2]. Поскольку открытие новых классов антибиотиков с инновационным механизмом действия – процесс весьма длительный и дорогостоящий, одной из стратегий решения обозначенной проблемы может быть применение известных веществ, обладающих антибактериальной активностью, связанных с полимерным носителем. Полимеры с собственными антимикробными свойствами или способные конъюгироваться с уже существующими антибиотиками создают возможность как для их непосредственного применения в качестве лекарств, так и для имплантации в медицинские устройства для борьбы с инфекцией [3].

В качестве полимерной основы конъюгатов возможно использование высокомолекулярных соединений различной природы при условии, что они отвечают ряду требований, основные из которых – биосовместимость, биоразлагаемость и минимальная токсичность [4]. Среди синтетических полимеров, способных к биоразложению и обладающих иммуногенностью, в системах доставки лекарств рекомендуют использовать α -гидроксикислоты, полиангидриды,

поли(амиды), поли(эфирамиды), поли(алкилцианоакрилаты) и др. [5]. Полимеры, полученные из возобновляемых ресурсов, в частности полисахариды, также обладают огромным потенциалом для создания систем доставки благодаря своей гидрофильности, высокой стабильности, безопасности, отсутствию токсичности и биоразлагаемости [6].

Целью настоящей работы было получение полимерных конъюгатов, проявляющих антимикробное действие, в которых антибактериальным агентом является цефотаксим, полимером – сополимер малеинового ангидрида с винилацетатом или окисленный крахмал. Выбор в качестве антибиотика цефотаксима обусловлен тем, что он обладает широким спектром бактерицидной активности и высокой эффективностью – от 75 до 100% при назначении госпитализированным пациентам с инфекциями средней и тяжелой степени¹. Соплимеры малеинового ангидрида являются физиологически активными, биосовместимыми, хорошо растворимыми в воде, обладают низкой цитотоксичностью и собственной антимикробной активностью; наличие ангидридной группы позволяет вводить в состав сополимера лекарственные вещества, имеющие amino- и гидроксильные группы [7, 8]. Конъюгацию лекарственных субстанций с полисахаридами чаще всего проводят после функционализации их макромолекул, разновидностью которой является окисление диольных групп глюкозных структур [9, 10]. Дегидрированный крахмал, получаемый периодатным окислением полисахарида, проявляет антиоксидантную и антимикробную активность [11], поэтому именно данный вид модифицированного крахмала был выбран нами для получения конъюгата.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали коммерческие продукты: цефотаксим в виде натриевой соли («Биохимик», Россия), пшеничный, картофельный крахмал («Плещеевский крахмальный завод», Россия), янтарный ангидрид (Hangzhou Keying Chem Co., Китай). Соплимер синтезировали по

¹ Padda I.S, Nagalli S. Cefotaxime // Ncbi.nlm.nih.gov. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560653/> (дата обращения: 21.05.2024).

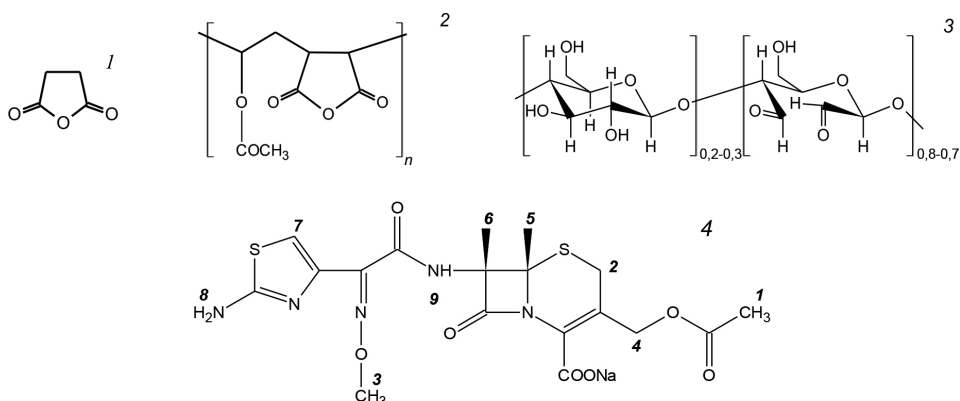


Рис. 1. Янтарный ангидрид (1), сополимер (2), окисленный крахмал (3), цефотаксим (4)

Fig. 1. Succinic anhydride (1), copolymer of maleic anhydride with vinyl acetate (2), oxidized starch (3), and cefotaxime (4)

схеме, описанной в работе [12]. Структуры исходных веществ представлены на рис. 1.

Во всех синтезах соотношение звена полимера и цефотаксима составляло 1:1 моль/моль.

Получение конъюгата сополимер – цефотаксим. Предварительно цефотаксим в форме натриевой соли переводили в H^+ -форму, как описано в работе [13]. Реакцию между сополимером (0,1850 г) и цефотаксимом (0,4575 г) проводили при температуре $50 \pm 0,5$ °C в течение 2 ч в растворе 1,4-диоксана (4 мл). В качестве осадителя использовали CH_2Cl_2 , выделенный продукт сушили в вакуумном сушильном шкафу при 40 ± 1 °C до постоянной массы. Аналогично проводили реакцию между 0,4595 г цефотаксима и 0,1000 г янтарного ангидрида.

Получение конъюгата окисленный крахмал – цефотаксим. Крахмал окисляли и анализировали, как описано в работе [14]. Образование альдегидного производного подтверждено появлением в инфракрасных (ИК) спектрах характеристической полосы валентных колебаний карбонильной группы $-CHO$ (1730 см^{-1}), которая отсутствует в спектре исходного крахмала. Степень окисления в продуктах реакции составляла от 69 до 80 масс.%, выход окисленного крахмала – от 71 до 88 масс.% ($N = 6$). К суспензии 0,1610 г окисленного крахмала в 1,5 мл бидистиллята приливали раствор цефотаксима натрия (0,4775 г в 1,5 мл бидистиллята), добавляли 2 мл янтарно-кислотно-боратного буферного раствора (pH 5,2) и выдерживали при температуре $50 \pm 0,5$ °C в течение 2 ч. Полученную желеобразную массу высаждали в ацетон и высушивали при 50–60 °C.

При комнатной температуре в области 4000–600 см^{-1} с помощью Фурье-спектрометра Tensor 27 (Bruker, Германия) регистрировали ИК-спектры порошкообразных образцов окисленного крахмала, с помощью спектрофотометра Specord 75IR (Carl Zeiss,

Германия) – в таблетках в KBr. Ультрафиолетовые (УФ) спектры растворов в биореlevantных средах регистрировали на спектрофотометре Helios Gamma (Thermo Electron Corporation, США) в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см, спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) 1H – на спектрометре Bruker Avance II (Bruker, Германия, 400 МГц) в среде $DMSO-d_6$ и D_2O .

Отнесение сигналов протонов в спектре цефотаксима проводили, сопоставляя положение, соотношение интегральных интенсивностей сигналов и результатов теоретического моделирования с применением пакета программ ACDLABS².

Высвобождение цефотаксима из матричной формы исследовали по методике, описанной в работе [14], в физрастворе (pH 7,14), фосфатном буфере (pH 7,4) и буфере Трис-НСl (pH 8,02); буферные растворы готовили по схемам, описанным в Государственной фармакопее Российской Федерации³ и Справочнике биохимика Р. Досона и др.⁴.

Обработку данных процесса высвобождения проводили с использованием кинетических моделей первого порядка (1) и Хигучи (2) [15]:

$$\ln \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right) = -k_1 \times t, \quad (1)$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_H \times \sqrt{t}, \quad (2)$$

где t – время высвобождения, ч; M_t/M_∞ – доля цефотаксима, высвободившаяся в момент времени t ; k – кинетическая константа.

Статистический анализ результатов высвобождения проводился с помощью программы Statgraphics Centurion 18⁵. Использовался однофакторный дисперсионный анализ (One-Way ANOVA), уровень значимости 95%, количество параллельных экспериментов 3.

² Bhal S. Multi-technique, vendor-neutral analytical data handling for chemists // Acdlabs.com. Режим доступа: https://www.acdlabs.com/wp-content/uploads/download/app/spectrum/appnote_spectrumproc_multitechnique.pdf (дата обращения: 12.04.2024).

³ Государственная фармакопея Российской Федерации. М.: Минздрав России, 2018. 1807 с.

⁴ Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика / пер. с англ. М.: Мир, 1991. 543 с.

⁵ Statgraphics Centurion 18 // Statgraphics.com. Режим доступа: <https://www.statgraphics.com/centurion-xviii> (дата обращения: 12.04.2024).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Структура и состав конъюгатов были изучены с применением метода ^1H ЯМР-спектроскопии, результаты отнесения сигналов протонов исходного цефотаксима и его фрагментов в составе полученных продуктов представлены в табл. 1.

Таблица 1. Химические сдвиги (δ) протонов цефотаксима и его фрагмента в продуктах модификации янтарного ангидрида и сополимера малеинового ангидрида с винилацетатом (DMSO-d_6)

Table 1. Chemical shifts (δ) of protons of cefotaxime and its fragment in products of modification of succinic anhydride and poly(maleic anhydride-co-vinyl acetate) (DMSO-d_6)

Номер Н (рис. 1)	δ , м.д.		Диапазон δ , м.д.
	цефотаксим	янтарный ангидрид – цефотаксим	
1, 3Н	2,02 с	2,03 с	2,03
2, 2Н	3,55 д	перекрытие с сигналом воды (3,2–3,8 м.д.)	
3, 3Н	3,83 с	3,88 с	3,83 с; 3,81–3,94
4, 2Н	4,69 д 4,96 д	4,81 д 4,99 д	4,68 д; 4,62–4,65; 4,98 д; 5,02–5,05
5, 1Н	5,15 д	5,16 д	5,14 д; 5,15–5,21
6, 1Н	5,78 дд	5,83 дд	5,78 дд; 5,81–5,86
7, 1Н	6,74 с	7,35 с	6,74 с; –
8, 2Н	7,24 с	–	7,23 уш.с; 7,29–7,38
9, 1Н	9,62 д	9,71 д	9,62 д; 9,67–9,76

Для анализа предполагаемого полимерного конъюгата сополимер – цефотаксим предварительно рассмотрели спектры продукта взаимодействия цефотаксима с низкомолекулярной моделью звена малеинового ангидрида – янтарным ангидридом.

На образование нового соединения – амида цефотаксима – указывает изменение вида ИК-спектра продукта по сравнению с исходными реагентами (рис. 2). Отнесение полос в спектре цефотаксима осложняется наличием большого количества функциональных групп, поглощающих в одних и тех же областях (первичная, вторичная аминогруппы, амидная, сложноэфирная группа, СН в ароматических структурах). Тем не менее отчетливо видны изменения в области валентных колебаний C=O : в спектре продукта янтарного ангидрида с цефотаксимом отсутствуют характеристические для ангидрида полосы при 1865 и 1790 cm^{-1} , но появляются полосы при 1779, 1726 cm^{-1} , соответствующие включению в состав продукта группы $\text{CH}_2\text{--COOH}$ (в свободной и Н-связанной форме), перекрывающие присутствующие в спектре цефотаксима полосы при 1745, 1711 cm^{-1} (сложноэфирная группа). Полоса $\nu_{\text{C=O}}$ амида (NH--C=O) при 1530 cm^{-1} , уже имеющаяся в спектре цефотаксима, существенно уширяется в спектре продукта янтарный ангидрид – цефотаксим.

В области колебаний $\nu_{\text{C--H}}$ вид спектра также изменяется: вместо полос при 3460 и 3310 cm^{-1} (ν_{NH_2} и NH) и серии полос в области 3110–3000 cm^{-1} для цефотаксима видим одну широкую интенсивную полосу в области 3660–3050 cm^{-1} , скорее всего, за счет наличия взаимо-

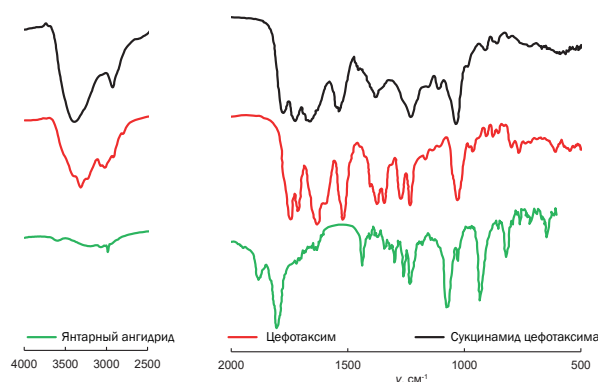


Рис. 2. ИК-спектры янтарного ангидрида, цефотаксима, сукцинамида цефотаксима (в таблетках KBr)

Fig. 2. IR spectra of succinic anhydride, cefotaxime, succinamide of cefotaxime (in KBr tablets)

действия по типу Н-связей между группами COOH двух молекул или COOH и полярными группами фрагмента цефотаксима в составе молекулы сукцинамида.

С большей достоверностью образование сукцинамида цефотаксима доказывают результаты ЯМР-спектроскопии. В ЯМР-спектре выделенного продукта проявляется три набора сигналов: цефотаксима, вошедшего в состав сукцинамида (см. табл. 1), непрореагировавших янтарного ангидрида и цефотаксима.

Образование амида подтверждается в первую очередь отсутствием в спектре продукта взаимодействия цефотаксима с янтарным ангидридом резонанса протонов аминогруппы цефотаксима (8) и смещением сигнала 7 протонов группы СН тиазольного кольца цефотаксима в область слабого поля – с 6,74 до 7,35 м.д. (рис. 3) при постоянстве положения всех остальных сигналов (1–6, 9) свободного цефотаксима. Кроме того, в спектре появляется уширенный синглет с центром при 12,53 м.д. (см. рис. 3), наличие которого обусловлено наложением резонансов протонов групп COOH во фрагменте янтарной кислоты и NH вторичной аминогруппы сукцинамида, а также мультиплет при 2,55–2,65 м.д., относящийся к протонам группы $\text{--CH}_2\text{--CH}_2\text{--}$ фрагмента янтарной кислоты. В целом данные ^1H ЯМР-спектроскопии позволяют говорить о ковалентном связывании янтарного ангидрида и цефотаксима; количество образовавшегося амида составило ~ 55 масс. %.

Для продукта взаимодействия янтарного ангидрида с цефотаксимом характерно существенное изменение вида УФ-спектра в области 250–320 нм по сравнению со спектром лекарственного вещества (рис. 4), что дополнительно подтверждает образование сукцинамида.

В ^1H ЯМР-спектре продукта модификации сополимера антибиотиком также проявляются три разновидности сигналов. В первой группе они полностью совпадают по мультиплетности и положению, а также по соотношению интенсивностей с сигналами 1–9 протонов исходного цефотаксима; во второй группе – с сигналами протонов сополимера. В третью группу входят малоинтенсивные уширенные сигналы, находящиеся рядом с сигналами исходного цефотаксима (рис. 3). Можно полагать, что они относятся к протонам молекул цефотаксима, нековалентно связанного с сополимером (см. табл. 1).

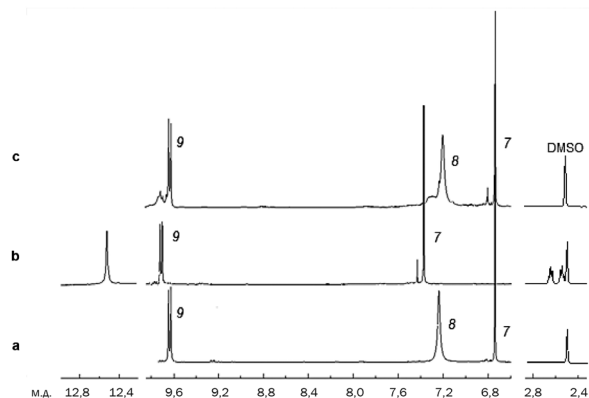


Рис. 3. Фрагменты ^1H ЯМР-спектра цефотаксима (а) и продуктов его взаимодействия с янтарным ангидридом (б), сополимером (с) (DMSO-d_6)

Fig. 3. Fragment of ^1H NMR spectrum of cefotaxime (a) and products of its interaction with succinic anhydride (b), and poly(maleic anhydride-co-vinyl acetate) (c) (DMSO-d_6)

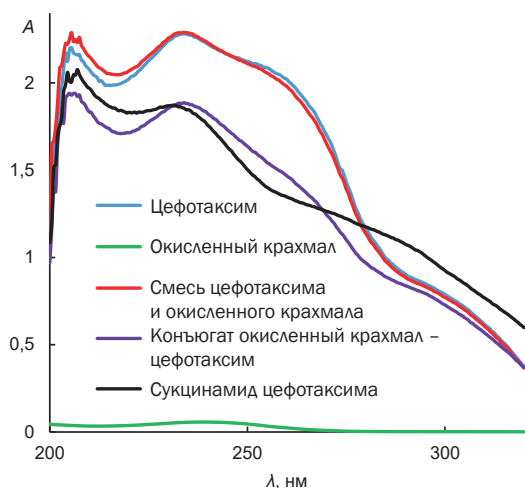


Рис. 4. Электронные спектры растворов цефотаксима, окисленного крахмала, смеси цефотаксима и окисленного крахмала, конъюгата окисленный крахмал – цефотаксим, сукцинамида цефотаксима в фосфатном буфере (pH 7,4) (цефотаксим, моль/л – $1,25 \times 10^{-4}$; окисленный крахмал, осново-моль/л – $2,5 \times 10^{-4}$)

Fig. 4. Electronic spectra of cefotaxime solutions, oxidized wheat starch, mixture of cefotaxime and oxidized starch, oxidized starch-cefotaxime conjugate, and succinamide of cefotaxime in a phosphate buffer (pH 7.4) (cefotaxime, mol/l – $1,25 \times 10^{-4}$; oxidized wheat starch, base-mol/l – $2,5 \times 10^{-4}$)

Таким образом, взаимодействие между цефотаксимом и сополимером малеинового ангидрида, в отличие от его низкомолекулярной модели – янтарного ангидрида, протекает не с образованием амидной связи по звену малеинового ангидрида, а, предположительно, как включение лекарственного вещества в полимерную матрицу за счет комплексообразования с участием amino- и карбоксильных групп цефотаксима (на что указывает наличие в ЯМР спектре сигналов протонов данных групп).

Предварительный расчет методом AM1 показал, что реакция цефотаксима со звеном малеинового

ангидрида в соотношении 1:1 невозможна из-за пространственных затруднений: молекула цефотаксима значительно больше звена сополимера, цепь сополимера не линейна, имеет большое количество кислородсодержащих групп в звеньях как малеинового ангидрида, так и винилацетата. Вследствие особенностей конфигурации молекулы цефотаксима энергетически более предпочтительным является не подход со стороны аминогруппы цефотаксима к звену малеинового ангидрида, необходимому для образования амидной связи, а взаимодействие по типу H-связи с участием нескольких атомов H цефотаксима с группами C=O звеньев винилацетата и малеинового ангидрида.

Количество продукта, выделенного после реакции сополимера с цефотаксимом, составило ~ 5 масс.%. Низкий выход и результаты ЯМР-спектроскопии показывают, что прямое амидирование сополимера является неэффективным способом получения антимикробного конъюгата. Для повышения результативности необходимо проводить активацию группы COOH (например, карбодиимидом [16]), что усложняет процесс синтеза и делает его более дорогостоящим и неэкологичным. С учетом этих обстоятельств далее исследования конъюгата цефотаксима не проводились.

В ^1H ЯМР-спектре продукта взаимодействия цефотаксима с окисленным пшеничным крахмалом подтверждением вхождения цефотаксима в состав полимера является более широкая форма сигналов протонов связанного с матрицей цефотаксима по сравнению с сигналами протонов непрореагировавшего лекарственного вещества. Ранее методом ИК-спектроскопии было показано, что о присоединении цефотаксима к матрице окисленного крахмала свидетельствует изменение формы, уширение и смещение полос $\nu_{\text{C=O}}$ групп COOH и C=O β -лактамного кольца антибиотика (с 1630 до 1600 cm^{-1} и с 1745 до 1760 cm^{-1} соответственно); значительное уменьшение интенсивности полосы OH группы окисленного крахмала (1730 cm^{-1}) [14]. Достаточно доказательными являются также результаты УФ-спектроскопии (см. рис. 4). Изучение электронных спектров исходных веществ и продукта показало, что окисленный крахмал весьма слабо поглощает в УФ-области, спектры цефотаксима и его смеси с окисленным полисахаридом практически накладываются друг на друга, тогда как поглощение конъюгата менее интенсивно, при этом вид его спектра отличается от исходных. Наблюдаемая картина аналогична полученной для спектров конъюгата цефотаксима с картофельным крахмалом [14], что вполне ожидаемо и в обоих случаях свидетельствует о присоединении цефотаксима к полимерной матрице, хотя и в разных соотношениях.

Для расчета количества лекарственного вещества, вошедшего в состав полимерной цепи, была изучена зависимость оптической плотности A при длине волны 234 нм от концентрации цефотаксима [ЦФТ], в результате анализа которой получили калибровочное уравнение с высоким коэффициентом корреляции R^2 :

$$A = 18180 \times [\text{ЦФТ}] + 0,0164; R^2 = 0,9998.$$

Согласно результатам йодометрического титрования и ^1H ЯМР-спектроскопии, молярное соотношение исходных глюкозидных звеньев крахмала, диальдегидных непрореагировавших и связанных с цефотаксимом азоме-

тиновой связью, составляет 0,204:0,606:0,19. Исходя из данных о составе конъюгата, его концентрации в растворе (рассчитанной по массе навески) и величине оптической плотности с учетом приведенного калибровочного уравнения установлено, что в этом продукте содержится как конъюгированный (связанный), так и ассоциированный цефотаксим в соотношении 2:1. Выход конъюгата окисленный крахмал – цефотаксим достаточно высокий – 67 масс.%, что позволяет говорить об эффективности проведенного синтеза.

В дальнейшем методом УФ-спектроскопии изучали высвобождение цефотаксима *in vitro*. При этом оказалось, что сукцинамид цефотаксима весьма устойчив: его УФ-спектр при выдержке в среде фосфатного буфера в течение суток не изменяется, что указывает на отсутствие гидролиза амидной связи.

Результаты выхода цефотаксима из полисахаридной матричной формы с учетом вычета химически не связанного с полимерной цепью лекарственного вещества иллюстрирует рис. 5. Как можно видеть, выделение цефотаксима во всех биореlevantных средах имеет нелинейный характер; можно выделить две фазы этого процесса: быструю, продолжительностью 1–2 ч, и медленную, приближающуюся к равновесной. В щелочной среде (фосфатный буфер, буфер Трис-НСI) на первой стадии в раствор переходит более 70 масс.% цефотаксима, в физрастворе – ~ 35 масс.%, вторая стадия происходит с гораздо меньшей скоростью, при этом через 10 ч во всех средах количество высвободившегося лекарственного вещества достигает практически 100%.

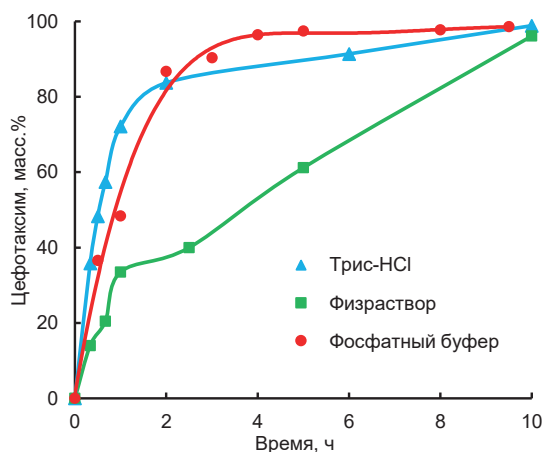


Рис. 5. Профили высвобождения цефотаксима из полисахаридной матрицы

Fig. 5. Release profiles of cefotaxime from the polysaccharide matrix

Полимер в процессе высвобождения цефотаксима постепенно набухает и находится в таком состоянии в течение наблюдаемого периода (10 ч); полное растворение полисахарида происходит по истечении недели выдержки в модельной среде, при этом разрыва полимерной цепи не происходит. Об этом свидетельствует ^1H ЯМР-спектр конъюгата окисленный крахмал – цефо-

таксим, записанный после его длительной (7–10 дней) выдержки в воде. В области 3,2–5,5 м.д., в которой проявляются химические сдвиги протонов ангидроглюкозного звена диальдегидной формы крахмала [17, 18], обнаруживаются уширенные сигналы (выделены пунктиром на рис. 6). Отсутствие характерных для моно- и дисахаридов узких сигналов, например дублетных и триплетных резонансов в области ~ 5,4 и 3,4 м.д. соответственно⁶, подтверждает высокомолекулярную природу вещества.

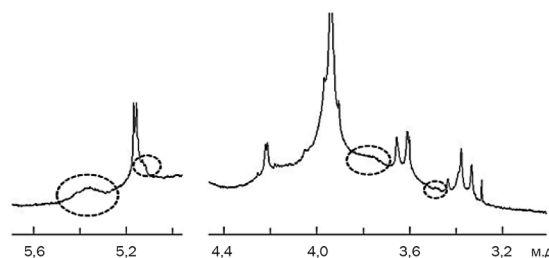


Рис. 6. Фрагменты ^1H ЯМР-спектра конъюгата окисленный крахмал – цефотаксим (D_2O)

Fig. 6. Fragments of ^1H NMR spectrum of the oxidized starch – cefotaxime conjugate (D_2O)

Известно, что в конъюгированных полимерных системах доставки высвобождение лекарственных средств включает этапы разрыва ковалентных связей и диффузии свободно движущихся частиц лекарственного вещества [19]. Обработка экспериментальных данных в координатах уравнений первого порядка и Хигучи подтверждает двухстадийный характер высвобождения цефотаксима из конъюгата (рис. 7). На первой стадии высвобождения модель Хигучи, которая описывает диффузионный характер транспорта выделенного из матрицы вещества [20], демонстрирует такую же хорошую корреляцию, как и модель первого порядка (табл. 2). Это говорит о вкладе в процесс как гидролиза азометиновой связи, так и диффузии высвободившегося цефотаксима.

Константы обоих процессов быстрой стадии k_1 и k_n пропорционально увеличиваются с ростом pH (коэффициент корреляции 0,95 и 0,81 соответственно). Это позволяет предположить, что лимитирующую роль на рассматриваемом этапе играет не массоперенос цефотаксима, а его отщепление от полимерной цепи в результате распада ковалентных связей, который катализируется гидроксильными группами.

Происходящее далее резкое понижение скорости высвобождения, очевидно, связано с уменьшением как количества гидролизующихся групп, так и подвижности молекул низкомолекулярного вещества. Об этом свидетельствует снижение в 2,8–5,5 раза значений константы первого порядка (k'_1 в табл. 2) и снижение коэффициента корреляции для модели Хигучи (см. табл. 2) соответственно. Для этой стадии также найдена линейная зависимость k'_1 от pH (R^2 0,94) при отсутствии подобной корреляции для k'_n , что указывает на основную роль гидролиза азометиновой связи на протяжении всего процесса.

Суммируя вышеизложенное, мы предполагаем следующий механизм высвобождения цефотаксима из

⁶ Тоукач Ф. Спектроскопия ЯМР в исследовании природных углеводов. Иллюстративные материалы к обзорной лекции // Toukach.ru. Режим доступа: <http://toukach.ru/rus/nmrglyco.htm> (дата обращения: 12.06.2024).

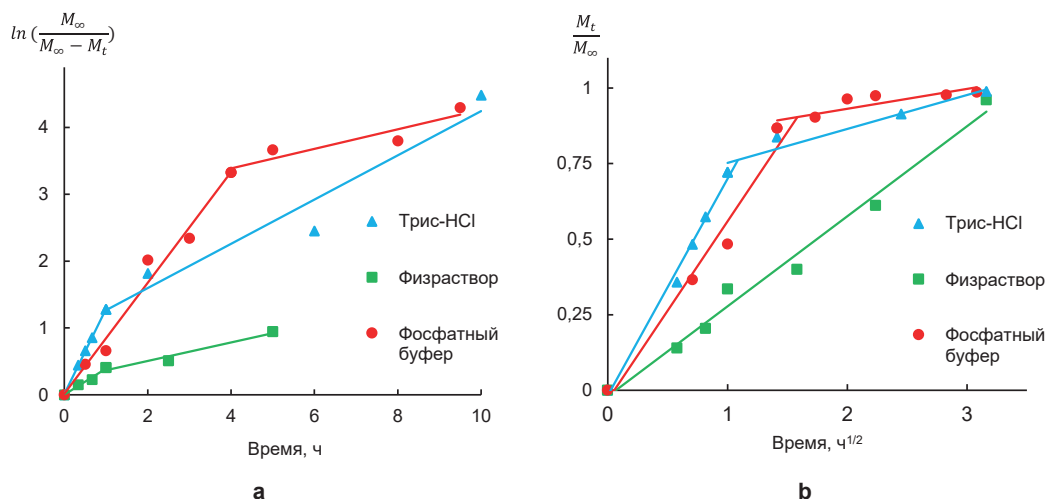


Рис. 7. Кинетические кривые высвобождения цефотаксима из конъюгата окисленный крахмал – цефотаксим, аппроксимированные с помощью математических моделей первого порядка (а) и Хигучи (b)

Fig. 7. Kinetic curves approximation of cefotaxime release from the oxidized starch – cefotaxime conjugate using mathematical models of first-order (a) and Higuchi (b)

Таблица 2. Математическое описание профилей высвобождения цефотаксима из конъюгата окисленный крахмал – цефотаксим

Table 2. Mathematical description of the release profiles of cefotaxime from the oxidized starch – cefotaxime conjugate

Кинетическая модель		pH 7,14	pH 7,4	pH 8,02
Первого порядка (уравнение (1))	$t_1, \text{ч}$	0–1	0–4	0–1
	M_t/M_∞	0–0,34	0–0,96	0–0,72
	$k_1, \text{ч}^{-1}$	$0,39 \pm 0,04$	$0,83 \pm 0,06$	$1,27 \pm 0,02$
	R^2	0,980	0,979	0,999
Хигучи (уравнение (2))	$t_2, \text{ч}$	1–5	4–9,5	1–10
	M_t/M_∞	0,34–0,61	0,96–0,99	0,72–0,99
	$k'_1, \text{ч}^{-1/2}$	$0,14 \pm 0,03$	$0,15 \pm 0,03$	$0,33 \pm 0,06$
	R^2	0,961	0,873	0,945
Хигучи (уравнение (2))	$t_1, \text{ч}$	0–10	0–2	0–1
	M_t/M_∞	0–0,96	0–0,87	0–0,72
	$k_H, \text{ч}^{-1/2}$	$0,30 \pm 0,02$	$0,59 \pm 0,07$	$0,72 \pm 0,04$
	R^2	0,985	0,971	0,992
Хигучи (уравнение (2))	$t_2, \text{ч}$	–	2–9,5	1–10
	M_t/M_∞	–	0,87–0,99	0,72–0,99
	$k'_H, \text{ч}^{-1/2}$	–	$0,07 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,02$
	R^2	–	0,752	0,937

его конъюгата с окисленным крахмалом. В результате контакта конъюгата с биореlevantной средой происходит гидролиз азометиновой связи в звеньях крахмала, находящихся на поверхности макрочастицы порошка конъюгата; образовавшиеся свободные молекулы цефотаксима начинают диффундировать в объем раствора. Через некоторое время, отвечающее перелому на кинетических кривых, набухание и растворение полимера приводит к повышению вязкости раствора вокруг частицы конъюгата и, как следствие, затруднению доступа к нему ионов OH^- , участвующих в гидролизе ковалентных связей окисленного крахмала – цефотаксима. Протекание этих процессов снижает массоперенос цефотаксима с поверхностного слоя матрицы. В целом такую кинетику высвобождения можно назвать смешанной и отнести ее к реакции псевдопервого порядка, осложненной вкладом диффузионных процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показывают, что реакция в растворе между цефотаксимом и сополимером малеинового ангидрида не приводит к получению антимикробного конъюгата. Матричная форма цефотаксима, в которой полимером-носителем является биоразлагаемый природный полисахарид, может рассматриваться как потенциальная система доставки антибиотика с пролонгированным высвобождением. Выделение цефотаксима из конъюгата происходит за счет гидролиза азометиновой связи, связывающей антибиотик с диальдегидом крахмала, однако также зависит от градиента диффузии лекарственного вещества с поверхности полимера в раствор. Высвобождение протекает с высокой скоростью до тех пор, пока на него не начинает оказывать тормозящее действие набухание и растворение матрицы. Кинетика высвобождения описывается реакцией псевдопервого порядка.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bajwa N., Mahal S., Singh P.A., Jyoti K., Dewangan P., Madan J., et al. Drug – polymer conjugates: challenges, opportunities, and future prospects in clinical trials // Polymer-drug conjugates: linker chemistry, protocols and applications / eds J. Madan, A. Baldi, M. Chaudhary, N. Chopra. Cham: Springer, 2023. P. 389–469. DOI: 10.1016/B978-0-323-91663-9.00011-4.
2. Wable R.S., Jamble V.K., More A.V. Antibiotics resistance: global threat to public health // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2024. Vol. 2, no. 2. P. 1–9. DOI: 10.5281/zenodo.10602984.
3. Kamaruzzaman N.F., Tan L.P., Hamdan R.H., Choong S.S., Wong W.K., Gibson A.J., et al. Antimicrobial polymers: the potential replacement of existing antibiotics? // International Journal of Molecular Sciences. 2019. Vol. 20, no. 11. P. 2747. DOI: 10.3390/ijms20112747.
4. Vilar G., Tulla-Puche J., Albericio F. Polymers and drug delivery systems // Current Drug Delivery. 2012. Vol. 9, no. 4. P. 367–394. DOI: 10.2174/156720112801323053.
5. Sung Y.K., Kim S.W. Recent advances in polymeric drug delivery systems // Biomaterials Research. 2020. Vol. 24. P. 12. DOI: 10.1186/s40824-020-00190-7.
6. Tudu M., Samanta A. Natural polysaccharides: chemical properties and application in pharmaceutical formulations // European Polymer Journal. 2023. Vol. 184. P. 111801. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111801.
7. Nagaraja A., Jalageri M.D., Puttaiahgowda Y.M., Reddy K.R., Raghu A.V. A review on various maleic anhydride antimicrobial polymers // Journal of Microbiological Methods. 2019. Vol. 163. P. 105650. DOI: 10.1016/j.mimet.2019.105650.
8. Wal K., Stawiński W., Dmochowska A., Rutkowski P. Advanced antimicrobial materials and applications: maleic anhydride antimicrobial polymers // Advanced antimicrobial materials and applications / eds Inamuddin, M.I. Ahmed, R. Prasad. Singapore: Springer, 2020. P. 171–192. DOI: 10.1007/978-981-15-7098-8_7.
9. Münster L., Fojtů M., Capáková Z., Muchová M., Musilová L., Vaculovič T., et al. Oxidized polysaccharides for anticancer-drug delivery: what is the role of structure? // Carbohydrate Polymers. 2021. Vol. 257. P. 117562. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117562.
10. Falsafi S.R., Topuz F., Rostamabadi H. Dialdehyde carbohydrates – advanced functional materials for biomedical applications // Carbohydrate Polymers. 2023. Vol. 321. P. 121276. DOI: 10.1016/j.carbpol.2023.121276.
11. Yong H., Liu J. Recent advances on the preparation conditions, structural characteristics, physicochemical properties, functional properties and potential applications of dialdehyde starch: a review // International Journal of Biological Macromolecules. 2024. Vol. 259. Part 1. P. 129261. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.129261.
12. Tyurina T.G., Kryuk T.V. Modification of maleic anhydride copolymers with aliphatic alkylamines and sulfanilamide // Russian Journal of Applied Chemistry. 2019. Vol. 92, no. 3. P. 351–359. DOI: 10.1134/S1070427219030054. EDN: VQTDTA.
13. Moghadam P.N., Azaryan E., Zeynizade B. Investigation of poly(styrene-alt-maleic anhydride) copolymer for controlled drug delivery of ceftriaxone antibiotic // Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry. 2010. Vol. 47, no. 8. P. 839–848. DOI: 10.1080/10601325.2010.492265.
14. Крюк Т.В., Тюрина Т.Г., Кудрявцева Т.А. Конъюгат натрия цефотаксима с картофельным крахмалом как потенциальная система доставки антибактериального средства // Химико-фармацевтический журнал. 2021. Т. 55. N 8. С. 50–54. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-8-50-54. EDN: PSOTWZ.
15. Bayer I.S. Controlled drug release from nanoengineered polysaccharides // Pharmaceutics. 2023. Vol. 15, no. 5. P. 1364. DOI: 10.3390/pharmaceutics15051364.
16. Karakus G., Ece A., Yagliglu A.S., Zengin H.B., Karahan M. Synthesis, structural characterization, and antiproliferative/cytotoxic effects of a novel modified poly(maleic anhydride-co-vinyl acetate)/doxorubicin conjugate // Polymer Bulletin. 2017. Vol. 74. P. 2159–2184. DOI: 10.1007/s00289-016-1821-1.
17. Chauhan K., Kaur J., Kumari A., Kumari A., Chauhan G.S. Efficient method of starch functionalization to bis-quaternary structure unit // International Journal of Biological Macromolecules. 2015. Vol. 80. P. 498–505. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.07.011.
18. Tessanan W., Phinyocheep P., Amornsakchai T. Development of biodegradable thermosetting plastic using dialdehyde pineapple stem starch // Polymers. 2023. Vol. 15, no. 18. P. 3832. DOI: 10.3390/polym15183832.
19. Kalosakas G. Interplay between diffusion and bond cleavage reaction for determining release in polymer – drug conjugates // Materials. 2023. Vol. 16, no. 13. P. 4595. DOI: 10.3390/ma16134595.
20. Siepmann J., Peppas N.A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) // Advanced Drug Delivery Reviews. 2001. Vol. 48, no. 2-3. P. 139–157. DOI: 10.1016/S0169-409X(01)00112-0.

REFERENCES

1. Bajwa N., Mahal S., Singh P.A., Jyoti K., Dewangan P., Madan J., et al. Drug–polymer conjugates: challenges, opportunities, and future prospects in clinical trials. In: Madan J., Baldi A., Chaudhary M., Chopra N. (eds). *Polymer-drug conjugates: linker chemistry, protocols and applications*. Cham: Springer; 2023, p. 389–469. DOI: 10.1016/B978-0-323-91663-9.00011-4.
2. Wable R.S., Jamble V.K., More A.V. Antibiotics resistance: global threat to public health. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2024;2(2):1-9. DOI: 10.5281/zenodo.10602984.
3. Kamaruzzaman N.F., Tan L.P., Hamdan R.H., Choong S.S., Wong W.K., Gibson A.J., et al. Antimicrobial polymers: the potential replacement of existing antibiotics? *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(11):2747. DOI: 10.3390/ijms20112747.
4. Vilar G., Tulla-Puche J., Albericio F. Polymers and drug delivery systems. *Current Drug Delivery*. 2012;9(4):367-394. DOI: 10.2174/156720112801323053.
5. Sung Y.K., Kim S.W. Recent advances in polymeric drug delivery systems. *Biomaterials Research*. 2020;24:12. DOI: 10.1186/s40824-020-00190-7.

6. Tudu M., Samanta A. Natural polysaccharides: chemical properties and application in pharmaceutical formulations. *European Polymer Journal*. 2023;184:111801. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111801.

7. Nagaraja A., Jalageri M.D., Puttaiahgowda Y.M., Reddy K.R., Raghu A.V. A review on various maleic anhydride antimicrobial polymers. *Journal of Microbiological Methods*. 2019;163:105650. DOI: 10.1016/j.mimet.2019.105650.

8. Wal K., Stawiński W., Dmochowska A., Rutkowski P. Advanced antimicrobial materials and applications: maleic anhydride antimicrobial polymers. In: Inamuddin, Ahamed M.I., Prasad R. (eds). *Advanced antimicrobial materials and applications*. Singapore: Springer; 2020, p. 171-192. DOI: 10.1007/978-981-15-7098-8_7.

9. Münster L., Fojtů M., Čapáková Z., Muchová M., Musilová L., Vaculovič T., et al. Oxidized polysaccharides for anticancer-drug delivery: what is the role of structure? *Carbohydrate Polymers*. 2021;257:117562. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117562.

10. Falsafi S.R., Topuz F., Rostamabadi H. Dialdehyde carbohydrates – advanced functional materials for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*. 2023;321:121276. DOI: 10.1016/j.carbpol.2023.121276.

11. Yong H., Liu J. Recent advances on the preparation conditions, structural characteristics, physicochemical properties, functional properties and potential applications of dialdehyde starch: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;259:129261. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.129261.

12. Tyurina T.G., Kryuk T.V. Modification of maleic anhydride copolymers with aliphatic alkylamines and sulfanilamide. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2019;92(3):351-359. DOI: 10.1134/S1070427219030054. EDN: VQTDTA.

13. Moghadam P.N., Azaryan E., Zeynizade B. Investigation of poly(styrene-alt-maleic anhydride) copolymer for

controlled drug delivery of ceftriaxone antibiotic. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*. 2010;47(8):839-848. DOI: 10.1080/10601325.2010.492265.

14. Kryuk T.V., Tyurina T.G., Kudryavtseva T.A. Sodium cefotaxime – potato starch conjugate as a potential system for antibacterial drug delivery. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*. 2021;55(8):50-54. (In Russian). DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-8-50-54. EDN: PSOTWZ.

15. Bayer I.S. Controlled drug release from nanoengineered polysaccharides. *Pharmaceutics*. 2023;15(5):1364. DOI: 10.3390/pharmaceutics15051364.

16. Karakus G., Ece A., Yaglioglu A.S., Zengin H.B., Karahan M. Synthesis, structural characterization, and antiproliferative/cytotoxic effects of a novel modified poly(-maleic anhydride-co-vinyl acetate)/doxorubicin conjugate. *Polymer Bulletin*. 2017;74:2159-2184. DOI: 10.1007/s00289-016-1821-1.

17. Chauhan K., Kaur J., Kumari A., Kumari A., Chauhan G.S. Efficient method of starch functionalization to bis-quaternary structure unit. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015;80:498-505. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.07.011.

18. Tessanan W., Phinyocheep P., Amornsakchai T. Development of biodegradable thermosetting plastic using dialdehyde pineapple stem starch. *Polymers*. 2023;15(18):3832. DOI: 10.3390/polym15183832.

19. Kalosakas G. Interplay between diffusion and bond cleavage reaction for determining release in polymer – drug conjugates. *Materials*. 2023;16(13):4595. DOI: 10.3390/ma16134595.

20. Siepmann J., Peppas N.A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2001;48(2-3):139-157. DOI: 10.1016/S0169-409X(01)00112-0.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Тюрина Татьяна Григорьевна,

д.х.н., заведующий отделом,
Институт физико-органической химии
и углехимии им. Л.М. Литвиненко,
283048, Донецкая Народная Республика,
г. Донецк, ул. Розы Люксембург, 70,
Российская Федерация,
t_turina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2950-3616>

Крюк Татьяна Владленовна,

к.х.н., доцент,
старший научный сотрудник,
Институт физико-органической химии
и углехимии им. Л.М. Литвиненко,
283048, Донецкая Народная Республика,
г. Донецк, ул. Розы Люксембург, 70,
Российская Федерация,
ktvl2010@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8538-5856>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Tatyana G. Tyurina,

Dr. Sci. (Chemistry), Head of Department,
L.M. Litvinenko Institute of Physical Organic
and Coal Chemistry,
70, Rosa Luxemburg St., Donetsk,
Donetsk People's Republic, 283048,
Russian Federation,
t_turina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2950-3616>

Tatyana V. Kryuk,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Senior Researcher,
L.M. Litvinenko Institute of Physical Organic
and Coal Chemistry,
70, Rosa Luxemburg St., Donetsk,
Donetsk People's Republic, 283048,
Russian Federation,
ktvl2010@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8538-5856>

Шевчук Наталья Олеговна,
младший научный сотрудник,
Институт физико-органической химии
и углехимии им. Л.М. Литвиненко,
283048, Донецкая Народная Республика,
г. Донецк, ул. Розы Люксембург, 70,
Российская Федерация,
✉ minarina@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0007-3861-0794>

Natalia O. Shevchuk,
Junior Researcher,
L.M. Litvinenko Institute of Physical Organic
and Coal Chemistry
70, Rosa Luxemburg St., Donetsk,
Donetsk People's Republic, 283048,
Russian Federation,
✉ minarina@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0007-3861-0794>

Вклад авторов

Т.Г. Тюрина – постановка задачи,
разработка концепции исследования,
обсуждение результатов.
Т.В. Крюк – проведение экспериментов,
обработка полученных данных, обсуждение
результатов, написание текста статьи.
Н.О. Шевчук – проведение экспериментов,
обработка полученных данных,
обсуждение результатов.

Tatyana G. Tyurina – problem formulation,
research concept development,
results discussion.
Tatyana V. Kryuk – conducting experiments,
data processing, results discussing,
writing the text of manuscript.
Natalia O. Shevchuk – conducting experiments,
data processing, results discussing.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.

Информация о статье

Поступила в редакцию 28.06.2024.
Одобрена после рецензирования 19.09.2024.
Принята к публикации 30.11.2024.

Information about the article

The article was submitted 28.06.2024.
Approved after reviewing 19.09.2024
Accepted for publication 30.11.2024.