

Формулы Фармации. 2021. Т. 3, № 4. С. 10-19

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Обзорная статья

УДК 615.324:615.37(045)

DOI:<https://doi.org/10.17816/phf100734>

Направления применения хитозана в качестве полимерного носителя для повышения биодоступности лекарственных препаратов

© 2022. Татьяна Михайловна Устинова¹, Николай Григорьевич Венгерович^{1, 2},
Дмитрий Константинович Глинко¹

¹Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку:

Татьяна Михайловна Устинова, gniiivm_15@mil.ru

АННОТАЦИЯ. Пероральная доставка лекарственных препаратов – динамичная область исследования, но сопряжена с многочисленными проблемами при ее использовании: ферментативная деградация, гидролиз, низкая проницаемость эпителия в желудочно-кишечном тракте. В обзоре представлен анализ научных статей, посвященный развитию направленной доставки лекарственных средств с помощью биоразлагаемого полимера хитозана. Применение хитозана, отдельно или в виде композитов, подходит для различных форм доставки лекарственных средств. При пероральном способе поступления хитозан выступает как мукоадгезивный полимер, который обладает контролируемым и направленным высвобождением. В публикациях, вышедших в течение последних пяти лет, отражены различные подходы к доставке инсулина и лекарственных препаратов. Основной технологической стратегией при доставке инсулина являлась его защита от pH условий ЖКТ, а также повышение проницаемости через трансклеточные и/или параклеточные пути. Отмечено, что применение биополимера и его производных обладало контролируемым профилем абсорбции. В публикациях, посвященных доставке лекарственных средств, большая часть исследований касается разработки и модификации методов их получения. По представленным экспериментальным данным частицы получались с четко выраженными сферическими формами и емкостью микрочастиц от 85 до 97%. В ряде научных публикаций приводятся данные относительно использования хитозана в качестве мукоадгезивного покрытия для различных нано- или микрочастиц различной природы. Также отмечено, что использование микрочастиц хитозана способствовало уменьшению нежелательных побочных эффектов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хитозан, инсулин, лекарственные препараты, пероральное введение, полимерный носитель, биодоступность, микрочастицы, наночастицы

СОКРАЩЕНИЯ:

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт;
ЛС – лекарственное средство;
BCS – биофармацевтическая классификация;
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;
РНК – рибонуклеиновая кислота;
ЛП – лекарственные препараты.

ВВЕДЕНИЕ

Абсорбция перорального лекарственного препарата – это процесс, на который влияют физико-химические и биофармацевтические свойства лекарственного средства и его взаимосвязь с ЖКТ. К основным параметрам, контролирующим абсорбцию ЛС, относят растворимость, растворение и проницаемость через кишечный барьер.

В настоящее время существует система биофармацевтической классификации, разработанная Gordon Amidom и соавт. в 1995 году, в основе которой лежит распределение фармацевтических субстанций по параметрам водной растворимости и кишечной проницаемости. В соответствии с этими свойствами все ЛС разделены на четыре класса [1]:

- I – высокая растворимость, высокая проницаемость;
- II – низкая растворимость, высокая проницаемость;
- III – высокая растворимость, низкая проницаемость;
- IV – низкая растворимость, низкая проницаемость.

Данная классификация представляет собой основу, которую можно использовать для прогнозирования проблем биодоступности субстанций при разработке новых лекарственных форм [2]. Подсчитано, что от 70 до 90% разрабатываемых ЛС характеризуется низкой растворимостью и относится ко II и IV классам по классификации BCS. Совершенствование технологий синтеза позволяет создавать более сложные соединения, что приводит к росту числа малорастворимых лекарственных субстанций, низкая растворимость которых связана со сложной химической структурой, размером, высокомолекулярной массой, липофильностью, Н-связыванием с растворителем, внутримолекулярным Н-связыванием, межмолекулярным Н-связыванием (кристаллическая упаковка), кристалличностью, полиморфными формами, ионным зарядом, рН [3].

Препараты IV класса BCS (например, амфотерицин В, флуресемид, ацетазоламид) обладают многими характеристиками, препятствующими эффективной пероральной доставке. Часть проблем связана с низкой растворимостью в воде, плохой проницаемостью, неустойчивой и низкой всасываемостью, значениями положительного пищевого эффекта, который приводит к низкой изменчивости биодоступности.

Составление и разработка эффективной системы доставки для препаратов класса IV BCS представляет непростую задачу. В настоящее время используют следующие подходы к данному типу ЛС:

- разработка систем доставки на основе липидов, полимеров и полимерных матриц;
- инженерия кристаллов (нанокристаллы и сокристаллы);
- разработка самоэмульгирующихся систем и твердых дисперсий [4].

Особенности физико-химических свойств действующего вещества имеют важное значение при разработке лекарственной формы [5]. Новые низкомолекулярные фармакологические субстанции характеризуются высокими молекулярными массами и липофильностью по сравнению с ЛС, синтезированными до 1990 года. Они создают различные биофармацевтические сложности: плохая растворимость и биодоступность. Также возникают и технологические затруднения при их производстве. При разработке ЛС с оптимальными биоло-

гическими характеристиками, разработчики должны стремиться к оптимизации молекулярных характеристик и, возможно, использовать технологии, повышающие их растворимость.

В настоящее время пероральное введение сталкивается с новыми проблемами, в частности, касающимися доставки макромолекул и биотехнологических препаратов из-за их плохой абсорбируемости и чувствительности к разложению. Системы наночастиц на основе полисахаридов позволяют решать задачи, связанные с биотехнологическими лекарствами, а также с небольшими молекулами с проблемами стабильности/всасывания в кишечнике. Происходит это за счет использования способности полимера образовывать нековалентные связи с функциональными группами в химической структуре [6].

Цель исследования – изучение имеющихся в научной литературе данных для оценки использования биодеградируемого полимера – хитозана в качестве носителя для пероральной доставки инсулина и низкомолекулярных соединений.

ХИТОЗАН И ЕГО СВОЙСТВА

Нано- и микроматериалы на основе хитозана (рис. 1) или его производных широко исследуются в качестве перспективных носителей из-за их биоразлагаемости, хорошей биосовместимости, низких иммуногенности и токсичности. Хитозан, отдельно или в виде композитов, является подходящим субстратом для изготовления различных типов лекарственных форм, таких как: гидрогели, мембраны, шарики, пористая пена, нано- и микрочастицы, гели in situ, губки и нановолокна/каркасы. Наночитозаны на основе хитозана интенсивно изучаются как системы контролируемого и направленного высвобождения для различных лекарств (противовоспалительных, антибиотических, противораковых и др.), а также для белков/пептидов, факторов роста, вакцин, малых ДНК и коротких интерферирующих РНК [7, 8].

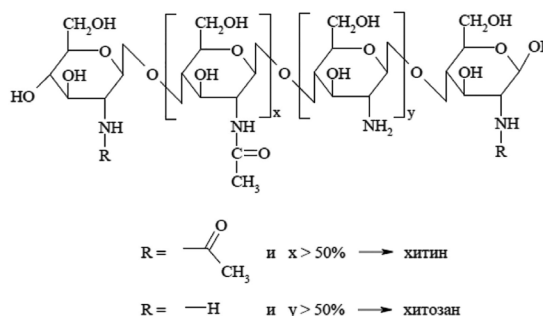


Рис. 1. Структура макромолекулы хитозана
 Fig. 1. Chitosan molecular structure

Хитозан и его производные относят, в отношении перорального способа доставки, к мукоадгезивным водорастворимым или водонерастворимым полимерам, которые представляют собой набухающие сети, соединенные с сшивающими агентами. Такие полимеры обладают оптимальной полярностью, что гарантирует достаточное смачивание слизи и оптимальную тягучесть, которая обеспечивает взаимную адсорбцию и проникновение полимера в слой слизи.

Мукоадгезия – сложный процесс, включающий химические взаимодействия между муцином и полимерами (рис. 2). Результат и степень мукоадгезивного связывания основаны на различных свойствах полимеров. Эволюция таких систем прошла путь от гидрофильных полимеров первого поколения, способных образовывать неспецифические взаимодействия, до более специфических систем второго поколения на основе лектинов или новых материалов, полученных путем модификации полимеров различными функциональными группами, такими как тиоловые [9, 10].

К свойствам хитозана можно отнести его способность ковалентно сшиваться с диальдегидами (глиоксалем или глутаральдегидом, ионно-сшитым с триполифосфатом), химически и механически усиливая матрицу. Ковалентно сшитые гидрогели более стабильны и подходят для доставки белков в кишечник.

Другие химические модификации хитозана (триметилированный, тиолированный и карбоксиметилированный) больше изучены для доставки бычьего и сывороточного альбумина, кальционина лосося и различных пептидов [11].

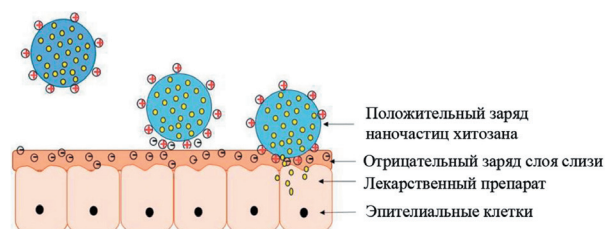


Рис. 2. Механизм мукоадгезивного действия хитозана
Fig. 2. The mechanism of action of the mucoadhesive property of chitosan

Контролируемого высвобождения ЛС из хитозана при пероральном введении можно достичь при использовании следующих форм: твердые дисперсии, сшитые гидрогели или наночастицы. На доставку ЛП оказывают воздействие несколько факторов: молекулярная масса полимера, степень диацелирования, замещение полисахаридов, размер наночастиц, пористая структура. Данные параметры влияют на скорость высвобождения из твердой матрицы. Длина и конформация полисахаридных цепей сказываются на доступности функциональных групп хитозана для молекул действующего вещества, что имеет решающее значение для устранения электростатических взаимодействий и последующего включения молекул лекарственного препарата в эти системы. Кроме того, различные методы приготовления могут привести к различным взаимодействиям и пористым структурам образованных частиц. Характеристики пористых микроструктур (распределение пор по размерам, пористость, извилистость и др.) влияют на проникновение в матрицу растворителя, растворение молекул лекарственного препарата и последующее высвобождение этих молекул в среду [12].

АДРЕСНАЯ ДОСТАВКА ИНСУЛИНА

Значительное количество публикаций посвящено исследованиям использования различных составов хитозана для улучшения пероральной доставки инсулина (табл. 1). Среди всех путей введения пероральный наиболее предпочтителен, так как имитирует эндогенный путь введения инсулина. Однако пероральное введение ограничено ферментативной деградацией и низкой проницаемостью в кишечнике.

В последнее время в научных публикациях использование полисахаридов представляется технологической стратегией

Экспериментальные данные наночастиц хитозана, содержащих инсулин
Experimental data of chitosan nanoparticles containing insulin

Табл. 1.

Table 1.

Носитель	Метод приготовления	Размер частиц, нм	Эффективность включения, %	Высвобождение инсулина in vitro	Источник
Хитозан (25–65 кДа), степень диацелирования 83–86% Альгинат молекулярная масса – 1,03×10 ⁵ г/моль	Полиэлектролитное комплексообразование	216	78,3	Первоначальный выброс инсулина максимально 26,7% при pH 1,2 с последующим и пролонгированным высвобождением в течение 24 ч	13
Хитозан 25 кДа Хрондроитин сульфат 20–30 кДа Полиэтиленгликоль 5000 Да	Ионное гелеобразование	356,5±43,4	-	При pH 2,5 высвобождение инсулина из микроразмешенного составило 48,1. При pH 6,8–51,2% через два часа	14
Хитозан (90 кДа), степень диацелирования 85% Триполифосфат	Моментальное комплексообразование с использованием многоходовой вихревой смеси	42,6±2,7	91±1,7	Высвобождение инсулина при pH 2,5–16%	15
Хитозан (28 кДа) Лиценовые липосомы L-аргенин	Хитозан-инсулиновую дисперсию добавляли к лецитин липосомальной дисперсии	105±17	20	Высвобождение в фосфат буферной смеси pH 6,8 достигало 30 минут	16
Низкомолекулярный хитозан (50–190 кДа) степень диацелирования ≥75% i-каррагинин	Полиэлектролитное комплексообразование	613±41	86,9±2,6	В смеси моделирующей желудочный сок высвобождение составило 4,91±0,24% через два часа	17
Хитозан альгинат полиуретан	Полиэлектролитное комплексообразование	90–110	90	При pH 1,2 высвобождение 13,7% до 1 часа, 50% последующие десять часов	18
Хитозан (150 кДа), степень диацелирования 95%	Коацервация	534±24	79,96±3,96	При pH 2 высвобождение 14,03%, При pH 6,8 высвобождение 85% в течение десяти часов	19

для защиты инсулина от pH условий ЖКТ, а также повышения его проницаемости через трансцеллюлярные и/или параклеточные пути, безопасности и селективности нацеливания инсулина [20]. В ряде работ показаны различные вариации частиц хитозана с инкапсулированным инсулином, предназначенные для контролируемого и пролонгированного высвобождения.

Так, в одной из работ была предложена комплексная полиэлектролитная система нано- и микрочастиц хитозан-пектин без использования химически сшивающих агентов. В результате были получены частицы небольшого размера (в пределах 240–1900 нм) с максимальным выходом продукции около 34%. Максимальную эффективность капсулирования (около 62%) системы наблюдали при соотношении зарядов (p+/p-), равном 5. Полученная система являлась стабильной в различных средах, особенно в искусственной созданной желудочной жидкости (pH 1,2). При моделировании кишечной жидкости (pH 6,8) контролируемое высвобождение инсулина происходило в течение двух часов [21].

В работе Yang и соавт. изучали привитый гидрогель хитозана с карбоксиметил- β -циклодекстрином. В опытах *in vitro* высвобождение инсулина из гидрогеля зависело от pH среды. Инсулин успешно удерживался внутри гидрогелей в желудочной среде и медленно высвобождался после попадания в кишечные условия. Полученные микрочастицы гидрогеля не проявляли цитотоксичности и транспортировались через монослой клеток Caco 2, в основном параклеточным путем. Отмечено, что введение гидрогеля хитозана диабетическим мышам способствовало обеспечению значительного и устойчивого (в диапазоне от шести до двенадцати часов) снижения уровня глюкозы в крови [22].

Для контролируемого высвобождения инсулина успешно применяются также и гибридные полимер-липидные системы. Их преимуществами являются повышение мукоадгезивности и липофильности [23].

Разработка нано- или микросистем позволяет защищать инсулин и от ферментативной деградации. Предложенная система микрочастиц, покрытых альгинатом, плуроником F-68 и хитозаном, позволяла увеличивать всасывание инсулина в кишечнике. По результатам высвобождения *in vitro* было показано, что растворение инсулина в искусственной желудочной жидкости с pH=1,2 было замедленным за счет альгинатного ядра и его покрытия хитозаном, и быстро высвобождалось в кишечной жидкости с pH=6,8 [24]. Для увеличения эффективности инкапсуляции было рассмотрено получение микрочастиц хитозана и муцина улитки. Такие частицы имели эффективность инкапсуляции и загрузку инсулина более 75 и 28% соответственно. При этом в опытах *in vitro* было показано длительное высвобождение инсулина, более 80% в течение 12 часов [25].

Анализ литературы показал эффективность применения хитозана и его производных для получения контролируемого профиля абсорбции инсулина и его защиты от ферментативной деградации. По сравнению с индивидуальным введением инсулина использование микрочастиц хитозана позволило улучшить его биодоступность и снизить уровень глюкозы в крови.

Полученные данные связывают с мукоадгезивными свойствами хитозана, которые позволяют увеличить время пребывания микрочастиц с инсулином в области абсорбции кишечника, что облегчает доставку его по трансцеллюлярному пути, либо внутриклеточно в кровеносные капилляры в печень.

На I и II фазах доклинических и клинических испытаний находится ряд разработок, улучшающих доставку инсулина с помощью мукоадгезивных полимеров, но из-за недостаточ-

ного финансирования фармакодинамических и фармакокинетических исследований на животных и людях и появления побочных эффектов исследования приостановлены.

ПРИМЕНЕНИЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЛП

Хитозан используется в качестве носителя и для низкомолекулярных малорастворимых соединений, позволяя улучшить их пероральную биодоступность. Представленные в научной литературе данные указывают, что основная часть исследований направлена на разработку и модификацию методов получения микрочастиц хитозана.

Так в статьях Lopodota A. и соавт. и Szekalska M. представлены данные по разработке метода получения частиц распылительной сушкой. В ходе исследований четко выраженные частицы, которые обладали замедленным высвобождением активных компонентов и обеспечивали улучшенные мукоадгезивные свойства [26, 27].

В большинстве исследований используют различные модификации получения частиц эмульсионным методом с помощью сшивающих агентов (триполифосфата или глутарового альдегида). В результате получают четко выраженные сферические формы частиц с эффективностью загрузки от 85 до 97%, но степень набухания зависит от степени сшивания и от морфологии частиц.

Микрочастицы могут преодолевать желудочный барьер без разложения активного начала, которое защищено полимерной матрицей [28, 29]. На примере исследования Sorrea R. и соавт. представлена оптимизация состава полученных эмульсионным способом микрочастиц хитозана, покрытых pH-зависимым полимером зудрагитом. Основными параметрами, влияющими на образование микрочастиц хитозана с заданными свойствами, являлись соотношение ЛС/хитозан, ПАВ и концентрация глутарового альдегида. Приготовленные микросферы имели дискретную сферическую форму с шероховатой внешней поверхностью. Профиль высвобождения из непокрытых микросфер был медленным, но не зависел от pH растворяющей жидкости, процесс высвобождения занимал 24 часа. С увеличением концентрации полимера до определенного момента увеличивалась, а затем снижалась эффективность захвата ЛС. Другие переменные, такие как концентрация эмульгатора, скорость перемешивания и концентрация сшивки, также влияли на эффективность захвата и высвобождение ЛС [30].

В ряде статей исследованы механизмы абсорбции модифицированных частиц хитозана. Синтезированные гибридные микрогели на основе хитозана и наночастиц SiO₂ были модифицированы винильными группами, которые обладали чувствительностью к pH среде (особенно в кислых средах). Такой состав обеспечивал высвобождение ЛС в течение 45 минут [31].

В другом исследовании для улучшения пероральной доступности представлена разработка полимерных сокристаллов хитозан-телмисартана, которые обладали повышенной концентрацией ЛС в плазме (1,47 мкг/мл) по сравнению с чистым препаратом (0,96 мкг/мл). Тем самым применение сокристаллов способствовало увеличению растворимости. За счет изменения плотного соединения происходила парацеллюлярная абсорбция [32].

В статье Liu M. и соавт. представлены данные по использованию хитозана в качестве функционального нанохелата для увеличения проницаемости циклоспорина А за счет положительного заряда хитозана, способного вызывать свертываемость анионных липидов с образованием нанохелатов со

средним размером $114,2 \pm 0,8$ нм без потребности в ионах кальция. Такие функциональные нанохелаты, индуцированные хитозаном, увеличивали всасываемость циклоспорина А в ЖКТ. Поглощение хитозан-индуцированных нанохелатов клетками Caco-2 происходило за счет клатрин- и caveол-опосредованного эндоцитоза, а не посредством макропиноцитоза [33]. Микрочастицы хитозана способны переносить кварцетин в качестве противоопухолевого объекта через различные эпителиальные системы и высвободить его в устойчивом контролируемом состоянии в целевой участок [34].

В ряде научных публикаций приводятся данные использования хитозана в качестве мукоадгезивного покрытия для различных нано- или микрочастиц различной природы. Такую стратегию использовали для улучшения растворимости и биодоступности фенофибрат (II класс по классификации BSC). Было показано, что наноструктурированный липидный носитель, покрытый хитозаном, способствовал обеспечению контролируемого высвобождения. Такую структуру получали методом ультразвуковой обработки с использованием хитозана (в качестве биоразлагаемого полимера), стеариновой кислоты (твердого липида), олеиновой кислоты (жидкого липида) и твина 80. Для изучения эффективности инкапсулирования и условий растворимости отношения стеариновая кислота/олеиновая кислота варьировали как 80/20, 70/30, 60/40 и 50/50 (мг/мг), регулируя соотношение хитозана. Все полученные составы наноллипидных носителей имели размер частиц приблизительно 200 нм с индексом полидисперсности ниже 0,3 и эффективностью инкапсуляции выше 85%. Фармакокинетические и фармакодинамические параметры наноллипидного состава фенофибрат после перорального приема были выше по сравнению с его неинкапсулированной формой [35].

В другом исследовании приведены фармакокинетические данные покрытых хитозаном микрочастиц гидроксипропилметиллюлозы с леводопой, поддерживающих относительно высокие уровни леводопы в кровотоке. Кинетика высвобождения ЛС из микрочастиц показала контролируемый и продолжительный выход 80% в течение 12 часов. В результате фармакокинетических исследований *in vivo* у крыс, получавших микрочастицы, отмечали более высокую АУС и более высокий *Stax* по сравнению с зарегистрированным лекарственным препаратом «Синемет» [36].

Схожие данные были получены у микрочастиц, нагруженных кальций-связываемыми фосфолептидами казеина. Исследования высвобождения показали устойчивое контролируемое высвобождение кальция и его поглощение [37].

В исследованных нами публикациях микрочастицы хитозана, в основном, получали ионным гелеобразованием с использованием сшивающих агентов. Изучены pH-зависимая стабильность, характеристики морфологии, контролируе-

мое высвобождение. Также использование микрочастиц хитозана и его различных матриц способствуют уменьшению нежелательных побочных эффектов. Данные исследования проводили на поперечно сшитых триполифосфатом частицах хитозана, нагруженных венлафаксином [38].

Таким образом, при использовании хитозана для доставки низкомолекулярных соединений особое внимание уделяется разработке метода получения частиц и его анализу. Приведены данные о характеристиках модифицированных, гибридных частиц и сокристаллов хитозана для направленной доставки ЛС и профили высвобождения из них.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По своему химическому составу хитозан уникален по сравнению с другими полисахаридами, используемыми для пероральной доставки ЛС. Его структура допускает определенные модификации посредством модуляции хитозанового амина или гидроксила функциональных групп. Для фармацевтического применения эти химические фрагменты могут использоваться для конъюгирования лекарственных средств напрямую или через линкеры. Обилие аминогрупп в составе хитозана позволяет осуществлять конъюгацию с другими молекулами через метаакрирование и карбоксиметилирование.

В основу стратегий при использовании хитозана в качестве носителя положены защита ЛС от pH условий ЖКТ, а также повышение биодоступности посредством увеличения проницаемости через трансклеточные и/или параклеточные пути, безопасности и селективности. Разработаны различные полиэлектролитные системы с хитозаном, а также дополнительные покрытия (альгинат, эудрагит) частиц.

Таким образом, исследование привлеченных публикаций не позволило выявить какой-либо наиболее оптимальный способ получения модифицированных форм или нано- или микрочастиц хитозана. Их формирование осуществлялось посредством ионного гелеобразования, приготвлением эмульсии вода/масло и с использованием распылительной сушки. Эффективность инкапсуляции находится в диапазоне от 28 до 62% в зависимости от способа получения, однако эффективность захвата получаемых частиц высока и составляет до 97%. Во многих исследованиях представлены данные профиля высвобождения лекарственного средства: получаемые частицы обладали контролируемым и пролонгированным высвобождением с выходом до 80% препарата в течение 12 часов. Представленные подходы и фактические данные позволяют рассматривать хитозан в качестве полимерного носителя для повышения биодоступности ЛП, разрабатываемых или модифицируемых для энтерального пути введения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Раменская Г. В. Биофармацевтическая классификация лекарственных веществ. Обзор / Г. В. Раменская, И. Е. Шохин, Ю. И. Кулунич // Сеченовский вестник. – 2011. – № 1 (3) – 2 (4). – С. 57–59.
2. U.S. Food & Drug Administration. 2022. URL: <https://www.fda.gov>
3. Gupta S., Kesarla R., Omri A. Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems // ISRN Pharm. 2013 Dec 26. Vol. 2013. P. 848043. <https://doi.org/10.1155/2013/848043>

4. Ghadi R., Dand N. BCS class IV drugs: Highly notorious candidates for formulation development // Journal of Controlled Release. 2017. Vol. 248. P. 71–95. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.01.014>

5. Shekhawat P. B., Pokharkar V. B. Understanding peroral absorption: regulatory aspects and contemporary approaches to tackling solubility hurdles // Acta Pharmaceutica Sinica B. 2017. Vol. 7, no. 3. P. 260–280. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.09.005>

6. Bianchera A., Bettini R. Polysaccharide nanoparticles for oral controlled drug delivery: the role of drug-polymer and

- interpolymer interactions // *Expert Opin Drug Deliv.* 2020 Oct. Vol. 17, no. 10. P. 1345–1359. <https://doi.org/10.1080/17425247.2020.1789585>
7. Iacob A. T., Lupascu F. G., Apotrosoaei M. Recent Biomedical Approaches for Chitosan Based Materials as Drug Delivery Nanocarriers. *Pharmaceutics.* 2021 Apr 20. Vol. 13, no. 4. P. 587. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13040587>
8. Lang X., Wang T., Sun M., et al. Advanced and applications of chitosan-based nanomatetias as oral delivery carries: A review // *Int J Biol Macromol.* 2020 Jul 1. Vol. 154. P. 433445. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.148>
9. Russo E., Selmin F., Baldassari S. A focus on mucoadhesive polymers and their application in bucal dosage forms // *Journal of drug delivery Science and Technol.* 2016. Vol. 32, Part B. P. 113125. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2015.06.016>
10. Vimal Y. K., Gupta A. B., Kumar R., et al. Mucoadhesive polymers: Meance of improving the mucoadhesive properties of drug delivery systems // *J Chem Pharm Res.* 2010. Vol. 2, no. 5. P. 418–432.
11. Liu L., Yao W., Rao Y., et al. pH-responsive carriers for oral drug delivery: challenges and opportunities of current platforms // *Drug deliv.* 2017 Nov. Vol. 24, no. 1. P. 569–581. <https://doi.org/10.1080/107175544.2017.1279238>
12. Lucio D., Oharriz M. Chitosan: strategies to increase and modulate drug release rate // *Biological activities and application of marine polysaccharides / ed. Shalaby E. A. Croatia: InTechOpen,* 2017. 326 p. <https://doi.org/10.5772/65714>
13. Mukhopadhyay P. Chakraborty S., Bhattacharya S., et al. PH-Sensitive Chitosan/AlginateCore-Shell Nanoparticles for E_cient and Safe Oral Insulin Delivery // *Int. J. Biol. Macromol.* 2015. Vol. 72. P. 640–648. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.08.040>
14. Pereira De Sousa I., Moser T., Steiner C., et al. Insulin Loaded Mucus Permeating Nanoparticles: Addressing the Surface Characteristics as Feature to ImproveMucus Permeation // *Int. J. Pharm.* 2016 Vol. 50. P. 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.01.022>
15. He Z., Santos J. L., Tian H., et al. Scalable Fabrication of Size-Controlled Chitosan Nanoparticles for Oral Delivery of Insulin. *Biomaterials.* 2017. Vol. 130. P. 28–41. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.03.028>
16. Al-Remawi M., Elsayed A., Maghrabi I, et al. Chitosan/ Lecithin Liposomal Nanovesicles as an Oral Insulin Delivery System // *Pharm. Dev. Technol.* 2017. Vol. 22. P. 390–398. <https://doi.org/10.1018/10837450.2016.1213745>
17. Sahoo P., Leong K. H., Nyamathulla S., et al. Optimization of PH-Responsive Carboxymethylated Iota-Carrageenan/ Chitosan Nanoparticles for Oral Insulin Delivery Using Response Surface Methodology // *React. Funct. Polym.* 2017. Vol. 119. P. 145–155. <https://doi.org/10/1016/j.reactfunctpolym.2017.08.014>
18. Chen T., Li S., Zhu W., et al. Self-Assembly PH-Sensitive Chitosan/Alginate Coated Polyelectrolyte Complexes for Oral Delivery of Insulin // *J. Microencapsul.* 2019. Vol. 36. P. 96–107. <https://doi.org/10.1080.02652048.2019.1604846>
19. Wong C. Y., Al-Salami H., Dass C. R. Formulation and Characterisation of Insulin-Loaded Chitosan Nanoparticles Capable of Inducing Glucose Uptake in Skeletal Muscle Cells in Vitro // *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2020. Vol. 57. P. 101738. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101738>
20. Meneguín A. B., Silvestre A. L. P., Sposito L., et al. The role of polysaccharides from natural resources to design oral insulin micro- and nanoparticles intended for the treatment of Diabetes mellitus: A review // *Carbohydr Polym.* 2021 Mar 15. Vol. 256. P. 117504. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117504>
21. Maciel V. B. V, Yoshida C. M. P, Pereira S.M.S.S, et al. Electrostatic Self-Assembled Chitosan-Pectin Nano- and Microparticles for Insulin Delivery. *Molecules.* 2017 Oct 12. Vol. 22, no. 10. P. 1707. <https://doi.org/10.3390/molecules22101707>
22. Yang Y., Liu Y., Chen S., et al. Carboxymethyl β -cyclodextrin grafted carboxymethyl chitosan hydrogel-based microparticles for oral insulin delivery // *Carbohydr Polym.* 2020 Oct 15. Vol. 246. P. 116617. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116617>
23. Grigoras A. G. Polymer-lipid hybrid systems used as carriers for insulin delivery. *Nanomedicine.* 2017 Nov. Vol. 13, no. 8. P. 2425–2437. <https://doi.org/10.1016/j.nanj.2017.08.005>
24. Aafar M. H. M, Hamid K. A. Chitosan-Coated Alginate Nanoparticles Enhanced Absorption Profile of Insulin Via Oral Administration. *Curr Drug Deliv.* 2019. Vol. 16, no. 7. P. 672–686. <https://doi.org/10.2174/1567201816666190620110748>
25. Mumuni M. A., Kenechukwu F. C., Ernest O. C., et al. Surface-modified mucoadhesive microparticles as a controlled release system for oral delivery of insulin // *Heliyon.* 2019 Sep 12. Vol. 5, no. 9. P. e02366. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02366>
26. Lopodota A., Cutrignelli A., Laquintana V., et al. Spray Dried Chitosan Microparticles for Intravesical Delivery of Celecoxib: Preparation and Characterization // *Pharm Res.* 2016 Sep. Vol. 33, no. 9. P. 2195–2208. <https://doi.org/10.1007/S11095-016-1956-7>
27. Szekealska M., Sosnowska K., Zakrzewska A., et al. The Influence of Chitosan Cross-linking on the Properties of Alginate Microparticles with Metformin Hydrochloride-In Vitro and In Vivo Evaluation. *Molecules.* 2017 Jan 22. Vol. 22, no. 1. P. 182. <https://doi.org/10.3390/molecules22010182>
28. Wang F., Yang S., Hua D., et al. A novel preparation method of paclitaxel-loaded folate-modified chitosan microparticles and in vitro evaluation // *J Biomater Sci Polym Ed.* 2016. Vol. 27, no. 3. P. 276–289. <https://doi.org/10.1080/09205063.2015.1121366>
29. Iurciuc-Tincu C. E., Atanase L. I., Ochiuz L., et al. Curcumin-loaded polysaccharides-based complex particles obtained by polyelectrolyte complexation and ionic gelation. I-Particles obtaining and characterization // *Int J Biol Macromol.* 2020 Mar 15. Vol. 147. P. 629–642. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.247>
30. Correa R. F., Colucci, G., Halla, N., et al. Development of Chitosan Microspheres through a Green Dual Crosslinking

Strategy Based on Tripolyphosphate and Vanillin // *Molecules*. 2021. Vol. 26. P. 2325. <https://doi.org/10.3390/molecules26082325>

31. Galdioli Pella M. C., Simao A. R., Lima-Tenorio M. K., et al. Chitosan hybrid microgels for oral drug delivery // *Carbohydr Polym*. 2020 Jul 1. Vol. 239. P. 116236. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116236>

32. Ganesh M., Ubaidulla U., Rathanam G., et al. Chitosan-telmisartan polymeric cocrystal for improving oral absorption: in vitro and in vivo evaluation // *In J Biol Macromol*. 2019 Jun 15. Vol. 131. P. 879–885. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.141>

33. Liu M., Zhong X., Yang Z. Chitosan functionalized nanocochleates for enhanced oral absorption of cyclosporine A // *Sci Rep*. 2017 Jan 23. Vol. 7. P. 41322. <https://doi.org/10.1038/srep41322>

34. Rashedi J., Ghorbanihaghjo A., Asgharzadeh M., et al. Chitosan and quercetin: potential hand in hand encountering tumors in oral delivery system // *Curr Pharm Des*. 2019. Vol. 25, no. 28. P. 3074–3086. <https://doi.org/10.2147/1381612825666190829144508>

35. Pyo Y. C., Tran P., Kim D. H., et al. Chitosan-coated nanostructured lipid carriers of fenofibrate with enhanced oral bioavailability and efficacy // *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2020 Dec. Vol. 196. P. 111331. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111331>

36. Dankyi B. O., Amponsah S. K., Allotey-Babington G. L., et al. Chitosan-Coated Hydroxypropylmethyl Cellulose Microparticles of Levodopa (and Carbidopa): In Vitro and Rat Model Kinetic Characteristics // *Curr Ther Res Clin Exp*. 2020 Nov 3. Vol. 93. P. 100612 <https://doi.org/10.1016/j.curtheres.2020.100612>

37. Zhu B., Hou T., He H. Calcium-binding casein phosphopeptides-loaded chitosan oligosaccharides core-shell microparticles for controlled calcium delivery: Fabrication, characterization, and in vivo release studies // *Int J Biol Macromol*. 2020 Jul 1. Vol. 154. P. 1347–1355. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.014>

38. Aranaz I., Paños I., Peniche C., et al. Chitosan Spray-Dried Microparticles for Controlled Delivery of Venlafaxine Hydrochloride // *Molecules*. 2017 Nov 15. Vol. 22, no. 11. P. 1980. <https://doi.org/10.3390/molecules.22111980>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Татьяна Михайловна Устинова – канд. биол. наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, gniiivm_15@mil.ru;

Николай Григорьевич Венгерович – д-р мед. наук, заместитель начальника научно-исследовательского отдела Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры промышленной экологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, nickolai.vengerovich@pharminnotech.com;

Дмитрий Константинович Глинко – научный сотрудник научно-исследовательского отдела Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, gniiivm_15@mil.ru.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 15.02.2022 г., одобрена после рецензирования 12.03.2022 г., принята к публикации 18.04.2022 г.

Pharmacy Formulas. 2022. Vol. 3, no. 4. P. 10-19

PHARMACEUTICAL SCIENCES

Review article

Applications of chitosan as a polymer carrier for increasing the drugs' bioavailability

© 2022. Tatiana M. Ustinova¹, Nikolai G. Vengerovich^{1,2}, Dmitriy K. Glinko¹¹State Scientific Research and Test Institute of Military Medicine, Ministry for Defense of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia²Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Tatiana M. Ustinova, gniiivm_15@mil.ru

ABSTRACT. Oral drug delivery is a dynamic research area, yet associated with multiple issues in its using: enzymatic degradation, hydrolysis, low permeability of intestinal epithelium. The review presents a research papers' analysis on the development of targeted drug delivery using a biodegradable polymer chitosan. Chitosan application, singly or in composites, is suitable for various drug delivery systems. Upon oral delivery, chitosan serves as a mucoadhesive polymer with controlled and targeted release. During the last five years, various approaches to the delivery of insulin and other drugs had been reported in literature. The main technological strategy for insulin delivery was its protection against intestinal pH, as well as increasing of permeability via transcellular and/or paracellular pathways. It is observed that application of the biopolymer and its derivatives has a controlled absorption profile. In publications on the drugs delivery, most of the research is focused on development and modification of methods for their producing. According to the presented experimental data, there were obtained particles with well-defined spherical shapes and microparticles' capacity of 85–97%. A number of research articles provide data on the chitosan application as a mucoadhesive coating for various nano- or microparticles. It was also noted that application of chitosan microparticles contributed to diminishing adverse side effects.

KEYWORDS: chitosan, insulin, drugs, oral delivery, polymer carrier, bioavailability, microparticles, nanoparticles

REFERENCES

1. Ramenskaja G. V., Shohin I. E., Kulunich Ju. I. The biopharmaceutical classification of medicinal substances. Review. Sechenovskij vestnik = Sechenov Medical Journal. 2011;1(3),2(4):57-59. (In Russ.).
2. U.S. Food & Drug Administration. 2022. URL: <https://www.fda.gov>
3. Gupta S., Kesarla R., Omri A. Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems. ISRN Pharm. 2013 Dec 26;2013:848043. <https://doi.org/10.1155/2013/848043>
4. Ghadi R., Dand N. BCS class IV drugs: Highly notorious candidates for formulation development. Journal of Controlled Release. 248. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.01.014>
5. Shekhawat P. B., Pokharkar V. B. Understanding peroral absorption: regulatory aspects and contemporary approaches to tackling solubility hurdles. Acta Pharmaceutica Sinica B. 2017;7(3):260-280. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.09.005>
6. Bianchera A., Bettini R. Polysaccharide nanoparticles for oral controlled drug delivery: the role of drug-polymer and interpolymer interactions. Expert Opin Drug Deliv. 2020 Oct;17(10):1345-1359. <https://doi.org/10.1080/17425247.2020.1789585>
7. Iacob A. T., Lupascu F. G., Apotrosoaei M. Recent Biomedical Approaches for Chitosan Based Materials as Drug Delivery Nanocarriers. Pharmaceutics. 2021 Apr 20;13(4):587. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13040587>
8. Lang X., Wang T., Sun M., et al. Advanced and applications of chitosan-based nanomatetias as oral delivery carries: A review. Int J Biol Macromol. 2020 Jul 1;154:433-445. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.148>
9. Russo E., Selmin F., Baldassari S. A focus on mucoadhesive polymers and their application in bucal dosage forms. Journal of drug delivery Science and Technology. 2016;32,Part B:113-125. <https://doi.org/doi:10.1016/j.jddst.2015.06.016>
10. Vimal Y. K., Gupta A. B., Kumar R., et al. Mucoadhesive polymers: Meance of improving the mucoadhesive properties of drug delivery systems. J Chem Pharm Res. 2010;2: 418-432.

11. Liu L., Yao W., Rao Y., et al. pH-responsive carriers for oral drug delivery: challenges and opportunities of current platforms. *Drug deliv.* 2017 Nov;24(1):569-581. <https://doi.org/10.1080/107175544.2017.1279238>
12. Lucio D., Oharriz M. Chitosan: strategies to increase and modulate drug release rate. In: Shalaby E. A., ed. *Biological Activities and Application of Marine Polysaccharides*. Croatia: InTechOpen, 2017. 326 p. <https://doi.org/10.5772/65714>
13. Mukhopadhyay P., Chakraborty S., Bhattacharya S., et al. PH-Sensitive Chitosan/AlginateCore-Shell Nanoparticles for Efficient and Safe Oral Insulin Delivery. *Int. J. Biol. Macromol.* 2015;72:640-648. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.08.040>
14. Pereira De Sousa I., Moser T., Steiner C., et al. Insulin Loaded Mucus Permeating Nanoparticles: Addressing the Surface Characteristics as Feature to Improve Mucus Permeation. *Int. J. Pharm.* 2016;500:236-244. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.01.022>
15. He Z., Santos J. L., Tian H., et al. Scalable Fabrication of Size-Controlled Chitosan Nanoparticles for Oral Delivery of Insulin. *Biomaterials.* 2017;130:28-41. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.03.028>
16. Al-Remawi M., Elsayed A., Maghrabi I., et al. Chitosan/Lecithin Liposomal Nanovesicles as an Oral Insulin Delivery System. *Pharm. Dev. Technol.* 2017;22:390-398. <https://doi.org/10.1018/10837450.2016.1213745>
17. Sahoo P., Leong K. H., Nyamathulla S., et al. Optimization of PH-Responsive Carboxymethylated Iota-Carrageenan/Chitosan Nanoparticles for Oral Insulin Delivery Using Response Surface Methodology. *React. Funct. Polym.* 2017;119:145-155. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2017.08.014>
18. Chen T., Li S., Zhu W., et al. Self-Assembly PH-Sensitive Chitosan/Alginate Coated Polyelectrolyte Complexes for Oral Delivery of Insulin. *J. Microencapsul.* 2019;36:96-107. <https://doi.org/10.1080.02652048.2019.1604846>
19. Wong C. Y., Al-Salami H., Dass C. R. Formulation and Characterisation of Insulin-Loaded Chitosan Nanoparticles Capable of Inducing Glucose Uptake in Skeletal Muscle Cells in Vitro. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2020;57:101738. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101738>
20. Meneguín A. B., Silvestre A. L. P., Sposito L., et al. The role of polysaccharides from natural resources to design oral insulin micro- and nanoparticles intended for the treatment of Diabetes mellitus: A review. *Carbohydr Polym.* 2021 Mar 15;256:117504. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117504>
21. Maciel V. B. V., Yoshida C. M. P., Pereira S.M.S.S, et al. Electrostatic Self-Assembled Chitosan-Pectin Nano- and Microparticles for Insulin Delivery. *Molecules.* 2017 Oct 12;22(10):1707. <https://doi.org/10.3390/molecules22101707>
22. Yang Y., Liu Y., Chen S., et al. Carboxymethyl β -cyclodextrin grafted carboxymethyl chitosan hydrogel-based microparticles for oral insulin delivery. *Carbohydr Polym.* 2020 Oct 15;246:116617. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116617>
23. Grigoras A. G. Polymer-lipid hybrid systems used as carriers for insulin delivery. *Nanomedicine.* 2017 Nov;13(8):2425-2437. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.08.005>
24. Aafar M. H. M., Hamid K. A. Chitosan-Coated Alginate Nanoparticles Enhanced Absorption Profile of Insulin Via Oral Administration. *Curr Drug Deliv.* 2019;16(7):672-686. <https://doi.org/10.2174/1567201816666190620110748>
25. Mumuni M. A., Kenechukwu F. C., Ernest O. C., et al. Surface-modified mucoadhesive microparticles as a controlled release system for oral delivery of insulin. *Heliyon.* 2019 Sep 12;5(9):e02366. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02366>
26. Lopodota A., Cutrignelli A., Laquintana V., et al. Spray Dried Chitosan Microparticles for Intravesical Delivery of Celecoxib: Preparation and Characterization. *Pharm Res.* 2016 Sep;33(9):2195-208. <https://doi.org/10.1007/S11095-016-1956-7>
27. Szekalska M., Sosnowska K., Zakrzaska A., et al. The Influence of Chitosan Cross-linking on the Properties of Alginate Microparticles with Metformin Hydrochloride-In Vitro and In Vivo Evaluation. *Molecules.* 2017 Jan 22;22(1):182. <https://doi.org/10.3390/molecules22010182>
28. Wang F., Yang S., Hua D., et al. A novel preparation method of paclitaxel-loaded folate-modified chitosan microparticles and in vitro evaluation. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2016;27(3):276-89. <https://doi.org/10.1080/09205063.2015.1121366>
29. Iurciuc-Tincu C. E., Atanase L. I., Ochiuz L., et al. Curcumin-loaded polysaccharides-based complex particles obtained by polyelectrolyte complexation and ionic gelation. I-Particles obtaining and characterization. *Int J Biol Macromol.* 2020 Mar 15;147:629-642. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.247>
30. Correa R. F., Colucci, G., Halla, N., et al. Development of Chitosan Microspheres through a Green Dual Crosslinking Strategy Based on Tripolyphosphate and Vanillin. *Molecules.* 2021;26:2325. <https://doi.org/10.3390/molecules26082325>
31. Galdioli Pella M. C., Simao A. R., Lima-Tenorio M. K., et al. Chitosan hybrid microgels for oral drug delivery. *Carbohydr Polym.* 2020 Jul 15;239:116236 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116236>
32. Ganesh M., Ubaidulla U., Rathanam G., et al. Chitosan-telmisartan polymeric cocrystal for improving oral absorption: in vitro and in vivo evaluation. *Int J Biol Macromol.* 2019 Jun 15;131:879-885. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.141>
33. Liu M., Zhong X., Yang Z. Chitosan functionalized nanococheleates for enhanced oral absorption of

cyclosporine A. *Sci Rep.* 2017 Jan 23;7:41322. <https://doi.org/10.1038/srep41322>

34. Rashedi J., Ghorbanihaghjo A., Asgharzadeh M., et al. Chitosan and quercetin: potential hand in hand encountering tumors in oral delivery system. *Curr Pharm Des.* 2019;25(28):3074-3086. <https://doi.org/10.2147/1381612825666190829144508>

35. Pyo Y. C., Tran P., Kim D. H., et al. Chitosan-coated nanostructured lipid carriers of fenofibrate with enhanced oral bioavailability and efficacy. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2020 Dec;196:111331. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111331>

36. Dankyi B. O., Amponsah S. K., Allotey-Babington G. L., et al. Chitosan-Coated Hydroxypropylmethyl Cellu-

lose Microparticles of Levodopa (and Carbidopa): In Vitro and Rat Model Kinetic Characteristics. *Curr Ther Res Clin Exp.* 2020 Nov 3;93:100612. <https://doi.org/10.1016/j.curtheres.2020.100612>

37. Zhu B., Hou T., He H. Calcium-binding casein phosphopeptides-loaded chitosan oligosaccharides core-shell microparticles for controlled calcium delivery: Fabrication, characterization, and in vivo release studies. *Int J Biol Macromol.* 2020 Jul 1;154:1347-1355. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.014>

38. Aranaz I., Paños I., Peniche C., et al. Chitosan Spray-Dried Microparticles for Controlled Delivery of Venlafaxine Hydrochloride. *Molecules.* 2017 Nov 15;22(11):1980. <https://doi.org/10.3390/molecules.22111980>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Tatiana M. Ustinova – Ph. D. in Biology, Senior Researcher of the Research Department, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, gniivm_15@mil.ru;

Nikolai G. Vengerovich – Doctor of Medicine (MD), Deputy Head of the Research Department, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia; Professor of the Industrial Ecology Department, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, nikolai.vengerovich@pharminnotech.com;

Dmitriy K. Glinko – Researcher, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, gniivm_15@mil.ru;

The authors declare no conflicts of interests.

The article was submitted February 15, 2022; approved after reviewing March 12, 2022; accepted for publication April 18, 2022.