

Tiolált oligo és poliszacharidok – a gyógyszerhordozók új generációja.

Kali Gergely*

Department of Pharmaceutical Technology, University of Innsbruck, Institute of Pharmacy, Center for Chemistry and Biomedicine, Innrain 80-82, 6020 Innsbruck, Ausztria

1. Bevezetés

Nazális, orális és perorális gyógyszerbevitelnek rengeteg előnye van a parenterális gyógyszeradagolással szemben, mint például a páciens kényelme, az egyszerű és biztonságos hatóanyag bevitel és dózis variálhatóság, valamint a gazdaságosság.¹ Természetesen ezen adagolási formáknak is vannak hátrányai, amelyek közül talán a legjelentősebb a gyógyszerek lassú felszívódása. Mivel a hatóanyag tartózkodási ideje az orr illetve szájüregben másodpercekben, percekben mérhető, míg a gyomorban 90 ± 35 , a vékonybélben pedig mindössze 180 ± 69 perc,² a gyógyszer felszívódása korlátozott, valamint a helyi hatása is limitált. Egy közös pont mindhárom adagolási mód esetében a nyálkahártya, azaz a mukusz jelenléte, ami egy az abszorpciós membránt fedő és azt védő gél réteg.

A mukusz gél réteggel való kölcsönhatással jelentősen növelhető a tartózkodási idő a nyálkahártyán.³ Ezért általánosan elmondható, hogy megfelelő gyógyszerhordozó megválasztásával a hatóanyag hosszabb tartózkodási ideje, következésképpen jelentősebb felszívódása és helyi hatása érhető el. A mukoadhézió különböző kölcsönhatásokkal kiváltható³, például polimerek interpenetrációja a mukusz gélrétegbe, illetve hidrogénhidak kialakulása már generálhat némileg megnövekedett nyálkahártya tartózkodási időt. Ionos kölcsönhatások, legfőképpen a kationos hordozó és a negatív mukusz között, már lényegesen erősebb adhéziót és hosszabb tartózkodási időt indukálhat. Végül, de egyáltalán nem utolsó sorban, kovalens kötések is kialakulhatnak a gyógyszerhordozó és a nyálkahártya között, jelentős mukoadhéziót eredményezve. A ciszteinben gazdag mukusz glikoproteinek egy egyre szélesebb körben elterjedt mukoadhéziós lehetőséget biztosítanak. Tiol funkciók csoportokkal rendelkező polimerek, röviden tiomerek, jelentős mukoadhéziós potenciált mutatnak, mivel oxidatív diszulfidkötések kialakítására képesek ezen ciszteinekkel.^{1,3-5}

Felfedezésük óta, több módszer is rendelkezésre áll polimerek tiolálására, mint például a tiol-funkciók csoporttal rendelkező molekulák (pl. cisztein, ciszteamin) konjugációja, vagy a direkt hidroxil – tiol szubsztitúció. Minden esetben ezen tiomerekkel jelentős mukoadhéziós képesség növekedéséről számoltak be. Azonban az amid és amin

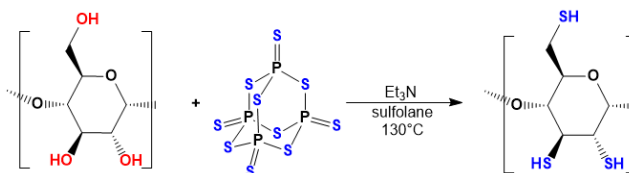
kapcsolódás esetében citotoxikus hatás figyelhető meg, míg a direkt hidroxil-tiol konverzió csökkent vízoldhatóságot okoz, ami gyógyszerhordozóknál nemkívánatos tulajdonság. Azonban egy hátrány minden esetben megmutatkozott, mégpedig a viszonylag alacsony tioláltási fok, ami limitálja a mukoadhézió erősségét.¹

Ezért az elmúlt években csoportunk új tiolálási reakciók kutatására, azok optimalizálására és a hatékonyságának növelésére fektette a hangsúlyt, valamint az előállított polimerek mukoadhéziójának vizsgálatára. Ezen eredményeinket foglaltuk össze a következő fejezetekben.

2. Magas tiolálási fokú oligo- és poliszacharidok szintézise.

A korábban alkalmazott reakciók alacsony hatékonysága, és így az előállított polimerek alacsony tioláltási foka miatt, egy régi reakció újrafelhasználása mellett döntöttünk, ami a hidroxilcsoportok tiollal történő szubsztitúciója foszfor-pentaszulfid (P_2S_5) használatával (**1. ábra**).

Ezt a módszert első munkánkban β -ciklodextrin (β -CD)⁶, majd később karragén⁷ és keményítő⁸ tiolálása során alkalmaztuk, melyek közül a keményítő és a belőle nyert CD rokon poliszacharidok, míg a karragén egy természetes lineáris szulfatált poliszacharid. Az oligo és poliszacharidok felhasználása azért is lényeges, mivel e természetes makromolekulák már jelenleg is a gyógyszerterológia fókuszában vannak, biokompatibilitásuk, alacsony toxicitásuk és lebonthatóságuk miatt. Mindemellett a CDk komplexképzési tulajdonsága hidrofób molekulákkal, többek között hatóanyagokkal, különlegesen fontos hordozó molekulává teszi ezen ciklikus oligomereket.^{9,10}



1. ábra. A tiolált oligo- és poliszacharidok szintézisének sematikus ábrázolása foszfor-pentaszulfiddal történő tiolálással.

* Tel.: +43 512 507 58634; e-mail: gergely.kali@uibk.ac.at.

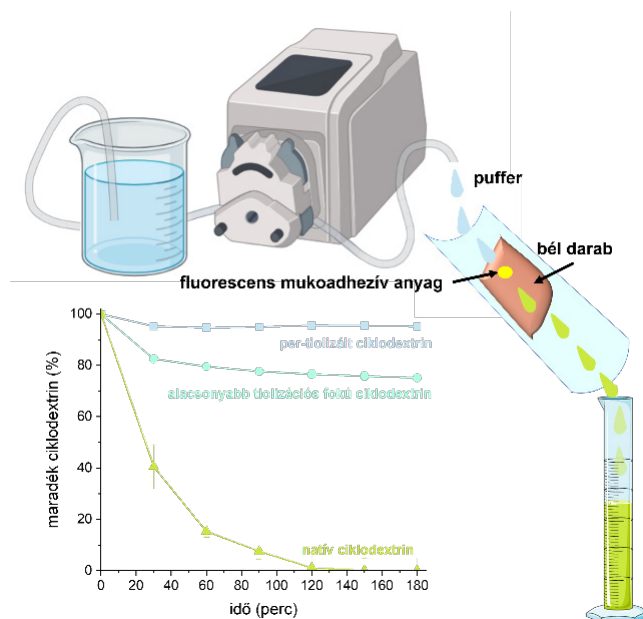
A tiolálási reakciót szulfolán oldószerben, 100-130 °C között, trietilamin jelenlétében hajtottuk végre. Óránkénti mintavétellel követtük nyomon a tiol csoportok beépülését ¹H-NMR spektroszkópiával valamint kolorimetriásan, Ellman teszt segítségével. Az eredményekből látszik, hogy β -CD esetében, már három óra elteltével az összes hidroxil csoport tiol csoporttal szubsztituált, és először sikerült per-tiolált CDt előállítani. A későbbiekben a két polisaccharid, karragén és keményítő tiolálása szintén magas, 40% fölötti tiolálási fokot eredményezett. Ezek az eredmények különösen fontosak annak tükrében, hogy a tioláltság mértéke jelentősen befolyásolja a mukoadhézió erősségét.

Új gyógyszerhordozók esetében a biztonságos alkalmazhatóság az egyik alapkövetelmény. Ezért az összes előállított tiomer sejt toxicitását, valamint hemolízisét megvizsgáltuk, de jelentős biztonsági kockázatot 0,5% (m/V) koncentráció alatt, nem találtunk.⁶⁻⁸

3. Mukoadhézió

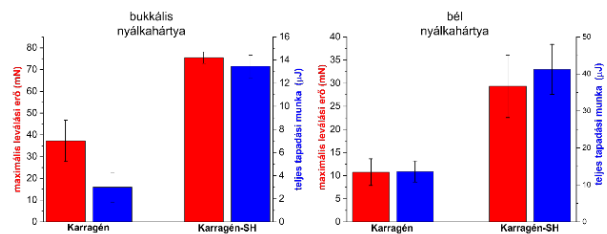
A per-tiolált β -CD tablettá nyálkahártyához való adhéziónak először textúra elemzővel vizsgáltuk. Az eredmények azt mutatták, hogy összehasonlítva natív CDvel, a maximális leválasztási erő (maximal detachment force, MDF) kétszeresére, míg a teljes adhézions munka (total work of adhesion, TWA) háromszorosára növekedett. Egy másik *in vitro* módszer szerint, a fluoreszcens anyaggal jelölt módosított és a nem tiolált CDket frissen begyűjtött disznóbélre helyeztük, majd azt megfelelő puffer rendszerrel mostuk (lásd **2. ábra**) és a bélben visszamaradt CD mennyiségét mértük. Az eredmények alapján a módosítatlan CD 60%-át a vizes oldat már az első fél óra után lemosta a bélről, és két óra után már egyáltalán nem maradt CD a szöveten. Ezzel szemben a per-tiolált CD több mint 95%-a a bél felszínén maradt még 3 óra mosás után is (**2. ábra**), ezzel bizonyítva a lényegesen meghosszabbodott tartózkodási időt a nyálkahártyával borított bél részen.⁶

Bár maga a per-tiolált CD előállítása is jelentős előrelépés, a tioláltság fok hatását a mukoadhézióra még így is érdemes volt vizsgálat alá venni, hogy megértsük, valójában mekkora hatása van ezen paraméternek a mukoadhézióra.¹ Mind α -, β -, és γ -CDk esetében ahogy a tioláltság fok a másfél-kétszeresére nőtt, a mukoadhézió is jelentősen erősödött. A bél felszínre adagolt CDk esetében a módosítatlan CDk hamar távoztak a mukuszról, míg az alacsonyabb tioláltságú fok esetén még három óra után is több mint 75% a nyálkahártyán maradt, ami a tioláltság fok emelésével 90% fölé emelkedett. Megvizsgáltuk a frissen begyűjtött mukusz és CDk elegyének a viszkozitását is. Ez az érték az új diszulfidkötések kialakulásával várhatóan emelkedik, mivel az új keresztkötések hatására stabil gél keletkezik. Valóban, már az alacsonyabb tioláltságú fokú CDk esetében jelentős viszkozitás növekedést tapasztaltunk, ami a magasabb tioláltságú fok esetében további 1,2-1,8-szoros növekedést mutatott. Az eredmények egyértelműen bizonyították a tioláltságú fok szerepét a mukoadhézió erősségében.¹¹



2. ábra. A visszamaradt natív (zöld jelek), részlegesen tiolált (türkiz jelek) és per-tiolált ciklodextrinek (világoskék jelek) százalékos aránya sertés vékonybél nyálkahártyáján, 100 mM foszfát pufferrel (pH 6,8) mosva.

De nem csak CDk, hanem egyéb természetes polimerek is módosíthatóak a fenti reakcióval és mutatnak erős mukoadhéziós tulajdonságokat. Első példaként, a CDk előállításának kiindulási anyaga, a keményítő tiolálása is jelentős, 91-szeres mukoadhéziót eredményezett. A κ -karragén disznó bélén 2,7-szeres MDF, és 3,0-szoros TWA növekedést mutatott, összehasonlítva a nem tiolált polimerrel. Disznó bukkális nyálkahártya esetén is jelentős mukoadhéziós potenciált tapasztaltunk, 2,2-szeres MDF és 7,7-szeres TWA növekedéssel, a tioláció hatására (**3. ábra**). Reológiai vizsgálatok, valamint a bélben és bukkális szöveten végzett lemosási tesztek is megerősítették a tiolált karragénban rejlő potenciált. Mindemellett, a karragén anionos karaktere alkalmassá teszi kationos hatóanyagok, mint a benzidamin, komplexálására mely képessége igen fontos az ilyen karakterű anyagok kontrollált, lassú felszabadulása szempontjából.⁷



3. ábra. Tiolált κ -karragén tablettá szakítószilárdsági vizsgálatai sertés szájnálkahártyáján (bal oldal) és sertés vékonybélnyálkahártyáján (jobb oldal). A szakítószilárdság vizsgálata a tesztkorongok MDF-jének (piros oszlopok) és TWA-jának (kék oszlopok) mérésével, textúra-analizátor segítségével.

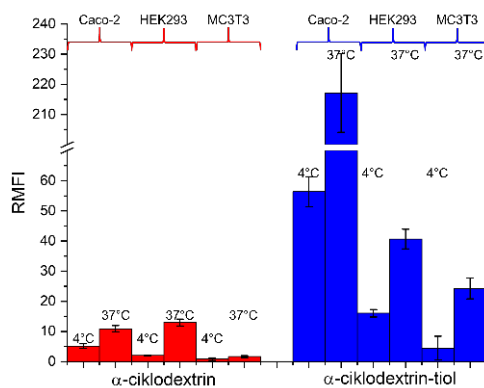
A fenti eredmények egyértelműen bizonyítják a gyógyszerhordozók hosszabb tartózkodási idejét az abszorpciós membrán közvetlen közelében, de a hatóanyagok további sorsáról nem szolgálnak információval. Korábbi eredményeink azt mutatják, hogy tiolált polimerek segíthetnek a hatóanyagok felvételében, a sejt rétegek közötti szoros illeszkedés (Tight Junction, TJ) megnyitásával.¹² Bár ennek a mechanizmusa nem teljesen ismert, feltehetően a tiomerek gátolhatják a protein-tirozin-foszfátáz, amely kulcsszerepet játszik a TJK integritásának szabályozásában. Ez az enzim defoszforilálja az okkludin transzmembrán fehérjét, ami a TJK lezárásához vezet. A protein-tirozin-foszfátáz gátlása megakadályozza ezen fehérje defoszforilációját, így a TJK lezáródását hátráltatja.¹³ Tiolált keményítő esetében frissen kimetszett patkány bélszöveten vizsgáltuk ezt a permeáció elősegítő folyamatot. A tiolálás hatására a modell hatóanyag permeációs koefficiense (P_{app}) több mint kétszeresére nőtt, ezzel igazolva a tiomer hatóanyag felvétel elősegítő funkcióját.

Bár ezek az *in vitro* eredmények igen ígéretesek, az állatkísérletek még fontosabb információt adhatnak az előállított anyagok alkalmazhatósága szempontjából. Ezért megvizsgáltuk a patkányoknak szájon át adott, fluorescensen jelölt natív és per-tiolált CDk jelenlétét a gyomor-bél traktusban. Négy óra után a módosítatlan CD 22,5%-a volt még jelen, főként a vékonybél duodenum és jejunum részében, míg az összes per-tiolált CD detektálható volt a gyomortól a vékonybél végéig. Nyolc óra után, az összes natív CD eltávozott a gyomor-bél traktusból, de a tiolált változat még 60%-ban fellelhető volt, nagyobb mennyiségben az ileumban, megerősítve a jelentősen meghosszabbodott tartózkodási időt a bélrendszerben.⁶

4. Sejtfelvétel

A mukoadhézió csak egy a tiomerek különleges, a gyógyszer technológia számára fontos, tulajdonságai közül. Korábbi vizsgálatok alapján, a tiol funkciók csoportok elősegíthetik a sejtfelvételt is. Ezért megvizsgáltuk a tiolált CDk sejtfelvitelét áramlási citometriával (flow cytometry) többféle sejtcsoporton is. A β -CD esetében, másfélszeres növekedés tapasztalható a tiolálás hatására humán kolo-rektális adenokarcinóma sejtek (Caco-2) esetében a sejtfelvételben. Azonos sejtvonalon vizsgálva a tiolált α -CD 20-szoros sejntinternalizációs növekedést mutat a módosítatlan CDvel szemben. A fokozott sejtfelvétel pre-oszteoblaszt (MC3T+-E1, 14,5-szörös) és humán embrionális vese (HEK-293, 6,5-szörös) sejtvonalakon is megmutatkozik ahogy azt a **4. ábra** szemlélteti. Ezen utolsó esetben a sejtfelvétel jelentősen kisebb, mint az első két sejtvonalnál, feltételezhetően a klatrin és dinamin független sejtfelvétel mechanizmusa miatt, de a teljes mechanizmus mindmáig nem teljesen ismert. Mindhárom sejtvonal és mindkét CD esetében a sejtfelvétel 37 °C-on jelentősen magasabb volt mint 4 °C-on, ezért annyi mindenképpen elmondható, hogy energiafüggő endocitózis a fő felvételi útvonala.¹⁴

Az α -CD esetében a kissé megnövekedett hemolízis enyhe membránkárosító hatásra utal, ami a konfokális mikroszkópos képek fényében a felvett tiolált CDk felszabadulását feltételezi az endoszómákból.



4. ábra. Fluoreszcein-dilauráttal jelölt natív és tiolált α -CD sejtes felvitelének elemzése, relatív átlagos fluoreszcencia intenzitás alapján (RMFI) Caco-2, HEK 293 és MC3T3 sejtvonalakban 37 °C-on és 4 °C-on.

Mindemellett, egy nemrégiben megjelent munkánk bizonyította, hogy a tiolált CDk potenciálisan képesek gátolni a P-glikoprotein által mediált effluxot Caco-2 sejtvonalon, ami optimális gyógyszer-koncentrációkhoz vezethet a célszöveten.¹⁵

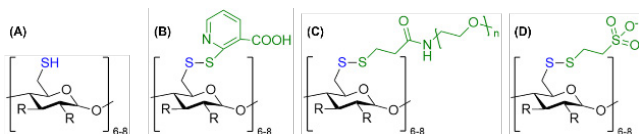
A polirotaxánok olyan szupramolekuláris polimer rendszerek, amelyekben makrociklusok, például CDk polimer láncokra fűződésével alakulnak ki. Ezek az anyagok meglepően magas sejt felvitelt mutatnak a szabad CDkkel szemben, amely tulajdonságuk alkalmazhatóvá teszi őket mind gyógyszer hordozókként, mind lizoszomális tárolási betegség kezelésére.^{16,17} Korábbi eredményeink megmutatták, hogy a 2-hidroxi-propil CDk különösen alkalmasak polirotaxánok sejt internalizációjának elősegítésére, ezért elvégeztük ezen szupramolekuláris polimerek tiolálását is. Meglepő módon míg a rotaxanáció maga 60-szor magasabb sejtfelvitelt eredményezett, szemben a szabad CDkkel, a tiolálás után további növekedést nem, vagy csak elhanyagolható mértékben tapasztaltunk. A jelenség oka feltehetően a felvételi mechanizmusban rejlik, illetve összefüggésbe hozható a polirotaxán nanorészecskék eltérő méretével, de a teljes mechanizmus továbbra is kutatás tárgya.¹⁸

5. Védőcsoportok

A tiolált gyógyszerhordozók egyik legnagyobb hátránya azok oxidációs érzékenysége, mely hosszú távon gátolhatja gyógyszerészeti felhasználásuknak. Már tárolás során diszulfidkötések alakulhatnak ki, melyek csökkentik az effektív tiolok mennyiségét, ezzel a mukoadhéziós képességet. Másrészt viszont a reaktív tiolok már a mukusz gél felső, laza rétegével elreagálhatnak. Ez a nyálkahártya állandó termelődése/megújulása miatt folyamatosan leválik, így a hordozók nem jutnak el a mélyebb, tömör mukusz rétegbe, hanem viszonylag hamar eltávoznak a nyálkahártyáról.

Ezért szükség lehet egy tiol védőcsoport kialakítására, ami megakadályozza a korai diszulfidképződést, de elég reaktív marad, hogy behatolva a mélyebb mukusz rétegbe, ott diszulfidkötéseket hozzon létre a ciszteinekkal. Ezeket a védőcsoportokat S-védőcsoportoknak vagy preaktíváló ágenseknek nevezzük. Valójában ezen csoportok reaktív diszulfidkötéseket hoznak létre, melyek lassan, de reagálnak a ciszteinek tiol csoportjával tiol – diszulfid csere reakcióban.

Munkánk során többféle védőcsoport alkalmazhatóságát vizsgáltuk, úgymint merkaptionikotinsav,^{19,20} poli(etilén glikol)-monotiol,^{19,20} valamint 2-merkaptotéanszulfonsav²¹ (5. ábra). Minden esetben jelenős mukodiffúziót találtunk, azaz ezen védett tiolok nagyobb mennyiségben érik el a mélyebb, tömörebb mukusz réteget. Ezzel összefüggésben erősebb mukoadhéziót és hosszabb tartózkodási időt mutatnak a nyálkahártyán. Ezen előnyök mellett az ionos valamint a hidrofil polimer védőcsoportok jelentősen javították a tiomerek vízoldhatóságát.



5. ábra. Tiolált (A), 2-merkaptionikotinsav- (B), poli(etilén glikol)-monotiol- (C), és 2-merkaptotéanszulfonsav-védett (D) ciklodextrinek szerkezetei.

A korai diszulfid kötések gátlása szintén hatással volt a sejtfelvételre. A 2-merkaptotéanszulfonsav védett tiolált β -CD körülbelül kétszer nagyobb mennyiségben jutott a citoszolba, mint a szabad tiolcsoportokkal rendelkező analógja, ami már így is jelentősen megnövekedett sejtfelvételt mutatott a natív CDvel szemben.²¹

6. Összegzés

Munkánk során tiol funkció csoporttal rendelkező gyógyszer-molekulák előállítását tűztük ki célul, elsődlegesen a nyálkahártyán való tartózkodási idő megnövelése érdekében. Egy régi-új reakció segítségével magas tioláltási fokú oligo és poliszacharidokat szintetizáltunk foszfor penta-szulfid reagenssel. Ezek az új makromolekuláris gyógyszer-hordozók jelentősen megnövekedett mukoadhéziót mutatnak és hosszabb *in vitro* tartózkodási időt a nyálkahártyán, de a hatóanyagok abszorpcióját is jelentősen elősegítették. Állatkísérletekben bizonyítottuk a késleltetett áthaladást a gyomor-bél traktuson, azaz ezen anyagok alkalmazhatósági potenciálját a gyógyszer-technológiában. Mindemellett a tiol csoportok beépítése oligoszacharidokba jelentősen megnövelte ezen anyagok sejtfelvételét, ami szintén előnyös tulajdonság parenterális készítmények esetében.

Összegzésként elmondható, hogy az általunk előállított új gyógyszer-hordozó anyagok jelentős potenciállal rendelkeznek nazális, orális, per-orális, és parenterális alkalmazhatóságban. Bár a tiomerek egyelőre nem szerepelnek hivatalos

gyógyszerkönyvi monográfia alatt segédanyagként, elsődleges cél, hogy preklinikai és klinikai vizsgálatokon menjenek keresztül, a hosszú távú cél pedig a piaci jóváhagyás és a kereskedelmi forgalomba hozatal.

Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönetemet szeretném kifejezni munkatársaimnak, különösen Prof. Dr. Andreas Bernkop-Schnürchnek és Dr. Soheil Haddadzadeganak segítségükért. Külön köszönettel tartozom az Osztrák Tudományos Alapnak a munkámhoz nyújtott anyagi segítségért (Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, FWF, Grant No. 10.55776/PAT7337823).

Hivatkozások

- Kali, G.; Knoll, P.; Bernkop-Schnürch, A. Emerging technologies to increase gastrointestinal transit times of drug delivery systems. *Journal of Controlled Release* **2022**, *346*, 289-299. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.04.016>
- Coupe, A. J.; Davis, S. S.; Wilding, I. R. Variation in gastrointestinal transit of pharmaceutical dosage forms in healthy subjects. *Pharm Res* **1991**, *8* (3), 360-364. <https://doi.org/10.1023/A:1015849700421>
- Yaqoob, M.; Jalil, A.; Bernkop-Schnürch, A. Chapter 20 – Mucoadhesive Polymers: Gateway to Innovative Drug Delivery. In *Modeling and Control of Drug Delivery Systems*, Azar, A. T. Ed.; Academic Press, 2021; pp 351-383. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821185-4.00020-8>
- Mfoafo, K.; Mittal, R.; Eshraghi, A.; Omid, Y.; Omidian, H. Thiolated polymers: An overview of mucoadhesive properties and their potential in drug delivery via mucosal tissues. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2023**, *85*, 104596. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104596>
- Bayer, I. S. Recent Advances in Mucoadhesive Interface Materials, Mucoadhesion Characterization, and Technologies. *Advanced Materials Interfaces* **2022**, 2200211. <https://doi.org/10.1002/admi.202200211>
- Kali, G.; Haddadzadegan, S.; Laffleur, F.; Bernkop-Schnürch, A. Per-thiolated cyclodextrins: Nanosized drug carriers providing a prolonged gastrointestinal residence time. *Carbohydrate Polymers* **2022**, 120275. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120275>
- Kali, G.; Fürst, A.; Efiána, N. A.; Dizdarević, A.; Bernkop-Schnürch, A. Intraoral Drug Delivery: Highly Thiolated γ -Carrageenan as Mucoadhesive Excipient. In *Pharmaceutics*, 2023; Vol. 15. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071993>
- Davoudi, Z.; Kali, G.; Braun, D.; Azizi, M. H.; Bernkop-Schnürch, A. Highly thiolated corn starch for enhanced mucoadhesion and permeation. *International Journal of Pharmaceutics* **2025**, *680*, 125798. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2025.125798>
- Puskás, I.; Szente, L.; Szócs, L.; Fenyvesi, É. Recent List of Cyclodextrin-Containing Drug Products. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 2023; Vol. 67, pp 11-17. <https://doi.org/10.3311/PPCh.21222>
- Kali, G.; Haddadzadegan, S.; Bernkop-Schnürch, A. Cyclodextrins and derivatives in drug delivery: New developments, relevant clinical trials, and advanced products. *Carbohydrate Polymers* **2024**, *324*, 121500. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121500>

11. Fürst, A.; Kali, G.; Efiana, N. A.; Akkuş-Dağdeviren, Z. B.; Haddadzadegan, S.; Bernkop-Schnürch, A. Thiolated cyclodextrins: A comparative study of their mucoadhesive properties. *International Journal of Pharmaceutics* **2023**, *635*, 122719. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122719>
12. Kali, G.; Özkahraman, B.; Laffleur, F.; Knoll, P.; Wibel, R.; Zöller, K.; Bernkop-Schnürch, A. Thiolated Cellulose: A Dual-Acting Mucoadhesive and Permeation-Enhancing Polymer. *Biomacromolecules* **2023**. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.3c00577>
13. Mahmood, A.; Bonengel, S.; Laffleur, F.; Ijaz, M.; Leonaviciute, G.; Bernkop-Schnürch, A. An in-vitro exploration of permeation enhancement by novel polysulfonate thiomers. *International Journal of Pharmaceutics* **2015**, *496* (2), 304-313. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.10.013>
14. Kaplan, Ö.; Truszkowska, M.; Kali, G.; Knoll, P.; Massani, M. B.; Braun, D. E.; Bernkop-Schnürch, A. Thiolated α -cyclodextrin: The likely smallest drug carrier providing enhanced cellular uptake and endosomal escape. *Carbohydrate Polymers* **2023**, 121070. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121070>
15. Veider, F.; Bernkop-Schnürch, A. Inhibition of P-Glycoprotein-Mediated Efflux in Caco-2 Cells by Thiolated Cyclodextrins – Unpublished results. 2023.
16. Kali, G.; Mayer, A. H.; To, D.; Truszkowska, M.; Plangger, R.; Gallei, M.; Bernkop-Schnürch, A. Disulfide Stopped Polyrotaxanes with Enhanced Cellular Uptake and Intracellular Cyclodextrin Release. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2024; Vol. 8, p 100586. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100586>
17. Kali, G.; Mayer, A. H.; To, D.; Truszkowska, M.; Seybold, A.; Braun, D. E.; Plangger, R.; Gallei, M.; Bernkop-Schnürch, A. Polycaprolactone/ α -cyclodextrin polyrotaxanes with cellular uptake enhancing properties. *J Mater Chem B* **2025**, *13* (10), 3471-3482. <https://doi.org/10.1039/D4TB02451F> From NLM.
18. Gintsburg, D.; Kreuzer, P.; Afzal, K. B.; Polidori, I.; Truszkowska, M.; Seybold, A.; Bernkop-Schnürch, A.; Kali, G. Cyclodextrin-based polyrotaxanes: Cellular uptake enhancement effect of different functionality types. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* **2025**, *11*, 100981. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2025.100981>
19. Haddadzadegan, S.; Knoll, P.; Wibel, R.; Kali, G.; Bernkop-Schnürch, A. Three generations of thiolated cyclodextrins: A direct comparison of their mucus permeating and mucoadhesive properties. *Acta Biomaterialia* **2023**, *167*, 309-320. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.05.050>
20. Haddadzadegan, S.; Saleh, A.; Veider, F.; Knoll, P.; Laffleur, F.; Kali, G.; Bernkop-Schnürch, A. Cyclodextrin-mediated enhancement of gastrointestinal drug delivery: Unveiling mucoadhesive and mucopenetrating synergy. Submitted Manuscript, 2024. <https://doi.org/10.1007/s13346-025-01832-w>
21. Kali, G.; Taha, A. M. M. M.; Campanella, E.; Truszkowska, M.; Haddadzadegan, S.; Denora, N.; Bernkop-Schnürch, A. Enhanced Mucoadhesion of Thiolated β -Cyclodextrin by S-Protection with 2-Mercaptoethanesulfonic Acid. *ACS Omega* **2024**, *9* (5), 5819-5828. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c08836>

Thiolated oligo and polysaccharides – next-gen drug delivery systems.

Department of Pharmaceutical Technology, University of Innsbruck, Institute of Pharmacy, Center for Chemistry and Biomedicine, Innrain 80-82, 6020 Innsbruck, Austria

Because of better patient compliance, non-parenteral delivery methods are preferred over invasive approaches. However, the therapeutic effectiveness of many orally administered drugs is considerably limited due to their short residence time on mucosa-covered absorption surfaces, such as those in the oral cavity or gastrointestinal tract. In order to prolong residence time and thereby improve drug absorption and local treatment effectiveness, mucoadhesive carriers can be utilized. Mucoadhesion occurs through various interactions, including the formation of covalent bonds. Thiolated oligomers and polymers, called Thiomers, are thiolated macromolecules capable of forming disulfide bonds with cysteine-rich subdomains of mucus glycoproteins, effectively increasing their residence time on mucosal membranes. This paper summarizes our group's work on a novel thiolation method and discusses the potential applications of highly thiolated oligo- and polysaccharides.

Thiolation of oligo- and polysaccharides was performed using phosphorus pentasulfide, resulting in a high degree of modification. Among the products, β -cyclodextrin (β -CD) was per-thiolated, leading to an 89-fold increase in mucoadhesion compared to the native oligosaccharide and a significantly prolonged residence time.

This beneficial property was demonstrated not only *in vitro* but also in animal studies, where the per-thiolated CD remained in

large amounts in the GI tract after 8 hours, while native β -CD was already completely eliminated. In addition to CDs, other natural polymers, such as starch and carrageenan, were thiolated using the same method, which significantly improved mucoadhesion on buccal and intestinal mucosa.

Besides improving mucoadhesion, thiolation also enhances cellular uptake. This was observed for thiolated α - and β -CDs across different cell lines. In all cases, increased cellular internalization occurred after thiolation, with up to 20 times more thiolated than native CD in the cytosol. The results also indicate endosomal escape.

Finally, the main drawback of thiomers, their sensitivity to oxidation, is also a point of interest. Addressing this issue is essential because it not only reduces the free thiol content during storage but also causes the thiomers to react prematurely on the loose mucus surface, leading to rapid removal through the mucus turnover process. Reactive disulfide-protected thiolated CDs were synthesized with various protecting groups, and their mucodiffusion, mucoadhesion, and cellular uptake were investigated. In all cases, more pronounced mucodiffusion was observed for the S-protected thiomers compared to non-protected ones, along with increased mucoadhesion. Cellular uptake also doubled due to the S-protection.

These results confirm that the highly thiolated oligo and polysaccharides have strong potential as oral or parenteral drug delivery vehicles.