

Введение В настоящее время для создания конструкционных и функциональных материалов, способных к биоразложению, используют три группы наиболее перспективных природных полимеров: поли- α -оксикислоты (полилактид и его сополимеры), поли- β -оксиалканоаты (поли-3-гидроксibuтират [ПГБ] и его производные), а также полисахариды (хитин, хитозан, целлюлоза и т.п.). Преимуществом ПГБ, хитозана и т.п. по сравнению с традиционными синтетическими материалами являются: независимость от нефтегазовых ресурсов, практически неограниченное воспроизводство в природе, а также экологическая и биологическая безопасность [1-5]. ПГБ находит широкое применение в качестве модельного объекта физики кристаллического состояния и научно-прикладных разработок при создании селективных барьерных материалов для биоразлагаемых упаковок, а также в клеточной инженерии и при создании нового поколения терапевтических систем для направленного транспорта лекарственных веществ (ЛВ). С целью улучшения механических характеристик ПГБ, его модификацию проводят двумя разными способами: на биотехнологическом уровне - путем сополимеризации ПГБ с мономерами 3-гидроксивалерата, 3-гидроксиоктаноата и т.п. или получая смесевые композиции с другими материалами [6-8]. Разработка процедуры его смешения с хитозаном (ХТ) имеет определенные преимущества, т.к. полученные композиции полностью биоразлагаются до нетоксичных продуктов (H_2O , CO_2), т.е. экологически безопасны. Они биосовместимы, и, как показывают данные исследования, имеют широкие перспективы в качестве матриц для адресной и пролонгированной доставки инкапсулированных ЛВ в медицине. Объекты и методы исследования В работе использовали природный биоразлагаемый полимер полигидроксibuтират, полученный микробиологическим синтезом компанией BIOMER® (Германия), серия 16F: белый мелкодисперсный порошок, $MM_{ПГБ} = 2,06 \cdot 10^5$ г/моль, $d = 1,248$ г/см³, $T_{пл} = 177$ оС, степень кристалличности 75 %. Неплавкий полисахарид хитозан (компания «Биопрогресс», г.Щелково):, мелкодисперсный порошок, $MM_{ХТ} = 4,4 \cdot 10^5$ г/моль, степень деацетилирования 82,3 %. В качестве лекарственного компонента использован антибиотик широкого спектра действия рифампицин (РФП). При получении пленок методом полива использовали следующие растворители: для ПГБ - $CHCl_3$ и диоксан марки ЧДА (ЗАО «Экос-1», РФ), для ХТ - CH_3COOH марки ЧДА. В связи с необходимостью введения РФП в пленки была предварительно проверена стабильность РФП в этих растворителях. Были получены и изучены образцы пленок трех типов: 1. полимерные пленки исходного ПГБ с инкапсулированным лекарственным веществом РФП. 2. Композиционные пленки ПГБ и хитозана. 3. Композиционные пленки ПГБ и хитозана с инкапсулированным в них РФП. При получении пленок ПГБ, содержащих различное количество ЛВ, методом полива на стеклянной подложке использовали хлороформ как совместный растворитель для ЛВ и ПГБ.

Содержание воды в пленках ПГБ с различным количеством РФП измеряли на кварцевых весах Мак-Бена или аналитических весах с точностью $\pm 0,1$ мг. В качестве суммарной концентрации ЛВ принимали загрузочную концентрацию РФП. Модельная среда: фосфорнокислый буферный раствор (KH_2PO_4 : Na_2HPO_4) с общей концентрацией 0,05 М («Химмед», Россия), pH 6,86. Концентрацию РФП в пленках варьировали в пределах 2,5 - 15%. Для получения смесевых композиций ПГБ-хитозан с антибиотиком РФП нами были разработаны оригинальные методики, которые позволяют получить смесевые пленки с содержанием ПГБ от 10 - 90 мас.%. Метод А: для содержания ПГБ в смеси 60-90масс.%. Прессованную пленку ПГБ растворяли в CHCl_3 . В полученный раствор вводили хитозан в виде порошка и затем при интенсивном перемешивании в полученную эмульсию по каплям прибавляли раствор рифампицина в хлороформе. Доля введенного РФП не превышала 10%. Метод Б: для содержания ПГБ в смеси 10-50масс.%. Пленки ПГБ-хитозан готовили путем смешения раствора хитозана в водно-кислых средах и раствора ПГБ в диоксане. После формирования и удаления растворителей пленки вакуумировали до постоянного веса. Рифампицин сорбировали полученными смесевыми пленками из его насыщенного раствора в фосфатном буфере. Кинетику высвобождения РФП и сорбционную емкость измеряли в специальной ячейке с помощью УФ-спектрофотометра фирмы «Beckman» DU-65 (США) при длине волны 474 нм. Результаты и их обсуждение

Кинетика высвобождения рифампицина из пленок поли(3-гидроксibuтирата) На рис. 1 представлены экспериментальные данные по высвобождению РФП в интервале концентраций 5 - 15% из пленок ПГБ. Кинетические профили высвобождения характеризуются начальным нелинейным во времени участком и завершающим участком, где концентрация десорбируемого из пленок рифампицина возрастает линейно. Рассмотрение общего вида кинетики высвобождения позволяет предположить, что для всех кинетических профилей в системе ПГБ-РФП наблюдается суперпозиция двух процессов, природа которых была выяснена в ходе анализа и компьютерной обработки экспериментальных кинетических результатов. Рис. 1 - Кинетические профили высвобождения рифампицина из пленок ПГБ + 5% РФП, +7,5% РФП, +10% РФП, +15% РФП На рис. 2 отдельно представлены тангенсы углов наклона линейных участков кинетических кривых и показано, что с ростом содержания лекарственного вещества в системе их значения также возрастают. Рис. 2 - Линейный участок кинетических кривых высвобождения рифампицина из пленок ПГБ + 5% РФП, +7,5% РФП, +10% РФП, +12,5% РФП и +15% РФП Эмпирически этот экспоненциальный рост может быть отражен уравнением: $y = k_0(1 - e^{-kx})$ (1) где $k_0 = 0,699$ час⁻¹, $a_0 = 0,251 \cdot 10^{-2}$ г/г, а k - константа, не зависящая от времени, час⁻¹, и отражающая тангенс угла наклона линейного участка кинетического профиля высвобождения; СРФП - общая концентрация рифампицина в пленке ПГБ, вес%. В соответствии с принципом суперпозиции двух процессов, ответственных за высвобождение ЛВ, представим

баланс его концентрации в окружающем фосфатном буфере в каждый данный момент времени, t , в виде равенства: , (2) Два слагаемых в правой части равенства (2) отражают, соответственно, нелинейный и линейный вклады в кинетику десорбции РФП, а символ $|t$ показывает, что каждый из членов этого уравнения зависит от времени. Компьютерное вычитание значений $C_k|t$ из общей концентрации ЛВ, $СРФП|t$ в каждый данный момент времени t позволяет построить зависимость Gt от времени, что представлено на рис.3. Все кинетические кривые, полученные для пленок ПГБ с различным содержанием рифампицина в результате вычитания, имеют монотонный характер с явно выраженным пределом (G_∞), величина которого возрастает с увеличением концентрации ЛВ. Внешний вид этих кривых соответствует классическим десорбционным кривым, где механизм транспорта определяется диффузией низкомолекулярного вещества в полимерных пленках. Действительно, на начальном этапе кинетики высвобождения возрастание концентрации ЛВ в окружающем буфере (или, что то же - убыль концентрации ЛВ в пленке ПГБ) может быть представлено в традиционных диффузионных координатах $GRФП/G_\infty \sim t^{1/2}$. В отличие от тангенсов наклона представленных выше на рис. 2 и отражающих только кинетический вклад в механизм высвобождения, тангенс прямолинейных участков, построенных в координатах диффузии позволяет рассчитать коэффициенты диффузии рифампицина в пленках ПГБ. Рис. 3 - Высвобождение рифампицина из пленок ПГБ +5% РФП, +7,5% РФП, +10% РФП, +12,5% РФП +15% РФП за вычетом деструктивной составляющей В нашем случае диффузия низкомолекулярного компонента в полимерной системе подчиняется дифференциальному уравнению 2-го порядка: (3) где (4) Здесь $GRФП$ - концентрация ЛВ, способного к десорбции по диффузионному механизму, $DRФП$ - эффективный коэффициент диффузии ЛВ, $см^2/сек.$; $СРФП$ - общая концентрация ЛВ, %; x и t - соответственно, координата ($см.$) и время ($с.$) диффузии. Решение дифференциального уравнения (3) на начальном отрезке времени, когда выполняется условие $Gt/G_\infty \leq 0,5$, имеет вид алгебраического уравнения (5): (5) Графическое решение этого уравнения позволяет рассчитать эффективные коэффициенты диффузии рифампицина в пленках ПГБ. Для этого в координатах $GRФП/G_\infty \sim t^{1/2}$, мы численно определили положительные тангенсы наклона (tga), а затем по уравнению: (6) рассчитали диффузионные коэффициенты для пленок с различным содержанием ЛВ. Здесь L - толщина пленки, $см.$ Таким образом, нелинейный участок кинетического профиля высвобождения ЛВ определяется процессом диффузии. Зависимость коэффициентов диффузии от введенной концентрации РФП представлена на рис. 4. Из рис. 4 следует, что диффузионные коэффициенты линейно возрастают с ростом концентрации ЛВ. Причиной этого эффекта, вероятно, является структурная разупорядоченность аморфных областей ПГБ, что будет продемонстрировано далее. Рис. 4 - Коэффициенты диффузии РФП в пленках ПГБ, рассчитанные по начальному и

конечному участкам десорбционных кривых Следует отметить, что в случае классического диффузионного механизма существует еще одна возможность обработки кинетических кривых, но теперь уже на конечном диффузионном этапе высвобождения. При условии $Gt/G_{\infty} \geq 0,5$ решение диффузионного уравнения (3) имеет традиционный экспоненциальный вид, отличающийся от степенного уравнения (5) (7) Алгебраический вид данного уравнения позволяет определить коэффициенты диффузии путем его преобразования в полулогарифмических координатах $\lg(1-Gt/G_{\infty}) - t$: (8) Теория предсказывает, что в случае классического диффузионного переноса с постоянным транспортным коэффициентом значения диффузионных коэффициентов, рассчитанных как на начальном участке кинетических кривых (условие $Gt/G_{\infty} \leq 0,5$), так и на завершающем этапе диффузии (условие $Gt/G_{\infty} \geq 0,5$) должны совпадать. В рамках классической диффузионной модели, если бы выполнялось равенство $Da_{РФП}$ (на начальном участке) = $Db_{РФП}$ (на конечном участке), то это свидетельствовало бы об отсутствии каких-либо осложнений в диффузионной системе, например, таких как агрегация ЛВ, образование самостоятельной фазы в матрице и др. В исследуемой системе, как показывает рис. 4, диффузионные параметры каждой из серий, полученных независимыми способами расчета, различаются между собой на постоянную величину ($\approx khL^2 = 1,8 \cdot 10^{-11} \text{с}^{-1}$), так что выполняется равенство: (9) где kh - эффективная кинетическая константа гидролиза ПГБ, с^{-1} . Уравнение (9) отражает связь кинетической и диффузионных констант и тем самым еще раз подтверждает, что данная система имеет более сложный кинетический профиль, проявляющийся на больших временах и включающий также развитие деструкции ПГБ. Из этого следует, что все кинетические профили высвобождения рифампицина из пленок ПГБ представляют комбинацию диффузионной и кинетической составляющих. Сочетая соответствующие уравнения 3 и 4 и предполагая совместный вклад диффузионной и кинетической составляющей в общий профиль высвобождения можно записать общее выражение для выхода ЛВ в виде: (10) Уравнение (10) имеет также аналитическое решение, описанное в работе[9]. Проявление двух процессов высвобождения (диффузионного и кинетического) позволяет предположить, что рифампицин существует в пленках биодеградируемого ПГБ в двух формах. Одна форма (обозначена ГРФП) представляет данное ЛВ в «свободной форме» и, что очень важно, только эта форма способна к десорбции ЛВ из пленки ПГБ по диффузионному механизму. Другая форма ЛВ, (СРФП - $k \cdot t$) в полимере находится в иммобилизованном состоянии и характеризуется крайне низкой диффузионной подвижностью, однако ее выход из полимера обеспечивается частичной деградацией ПГБ (потерей массы с включенной в нее иммобилизованной формой ЛВ) по уравнению нулевого порядка.