

А. Л. Иорданский, Е. Л. Иванцова, Р. Ю. Косенко,
Ю. Н. Зернова, С. З. Роговина, А. Г. Филатова,
К. З. Гумаргалиева, С. Н. Русанова, О. В. Стоянов,
Г. Е. Заиков, Jan Pielichowski

ДИФфуЗИОННЫЕ И СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИГИДРОКСИБУТИРАТА И ХИТОЗАНА ДЛЯ НАПРАВЛЕННОГО ТРАНСПОРТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ. ЧАСТЬ 2

Ключевые слова: диффузия, структура, композиции, хитозан, поли(3-гидроксибутират), транспорт лекарств.

Исследованы структурные характеристики композиций на основе поли(3-гидроксибутирата) и хитозана, содержащих рифампицин. Установлен механизм и кинетические особенности десорбции лекарственных веществ из полимерных пленок. Предложена обобщенная схема процесса направленного транспорта лекарственных веществ.

Keywords: diffusion, structure, compositions, chitosan, poly(3-hydroxybutyrate), transport of drugs.

The structural characteristics of the compositions on the basis of poly(3-hydroxybutyrate) and chitosan, containing rifampicin, were investigated. The mechanism and kinetic peculiarities of the medicinal substances desorption from polymeric films were set. A generalized diagram of the process of a directed transport of medicinal substances was offered.

Введение

В настоящее время для создания конструктивных 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-гидроксибутират [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. Ранее нами были представлены результаты исследований кинетики высвобождения рифампицина из пленок поли(3-гидроксибутирата) [9].

Объекты и методы исследования

В работе использовали природный биоразлагаемый полимер полигидроксибутират, 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, $T_{пл} = 177$ °С, 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 («Хим-

мед», 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 60-90 мас. %.

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 10-50 мас. %.

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.

Структурно-морфологические особенности композиций на микро- и наноуровнях (формирование водородных связей, анизотропия и гетерогенность матрицы, ее кристалличность) выясняли с помощью электронных микрофотографий регистрации вторичных электронов с низкой энергией на сканирующем электронном микроскопе фирмы "JEOL" марки JSM-6510LV.

Результаты и их обсуждение

Равновесная сорбция воды и подвижность РФП в пленках поли(3-гидроксibuтират), содержащих рифампицин

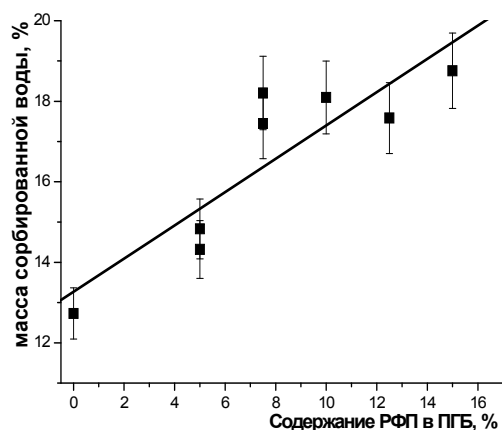


Рис. 1 - Сорбция воды пленками ПГБ, содержащими различное количество РФП

Так как между сорбционными характеристиками полимера и диффузионной подвижностью молекул воды существует непосредственная связь, то равновесную сорбцию и диффузию следует рассматривать как сопряженные процессы.

Как видно из рис. 1 увеличение количества введенного РФП в пленки ПГБ приводит к росту сорбционной емкости воды в ней. Причинами такого возрастания могут являться: а) собственно сорбция функциональными группами самого полимера и б) изменение морфологии полимера в присутствии ЛВ, а именно образование дополнительных дефектов, пор, обусловленных размещением больших по объему молекул РФП. Влияние гидратации молекул РФП следует исключить, т.к. данный эффект должен привести к возрастанию размера диффундирующей молекулы и следовательно к падению их подвижности в полимере. Данные о коэффициентах диффузии ЛВ (рис. 2) свидетельствуют об обратном, т.е. здесь наблюдается возрастание коэффициентов диффузии с ростом содержания воды в ПГБ. Поэтому основным фактором, ответственным как за увеличение сорбции (рис. 1), так и за возрастание коэффициентов диффузии ЛВ (рис. 2), на наш взгляд, является разрыхляющий эффект ЛВ, создающий дополнительные диффузионные пути в матрице ПГБ. Подтверждение этого вывода представлено в следующем разделе.

Морфологические структуры для пленок ПГБ, полученных в результате испарения растворителя или плавления

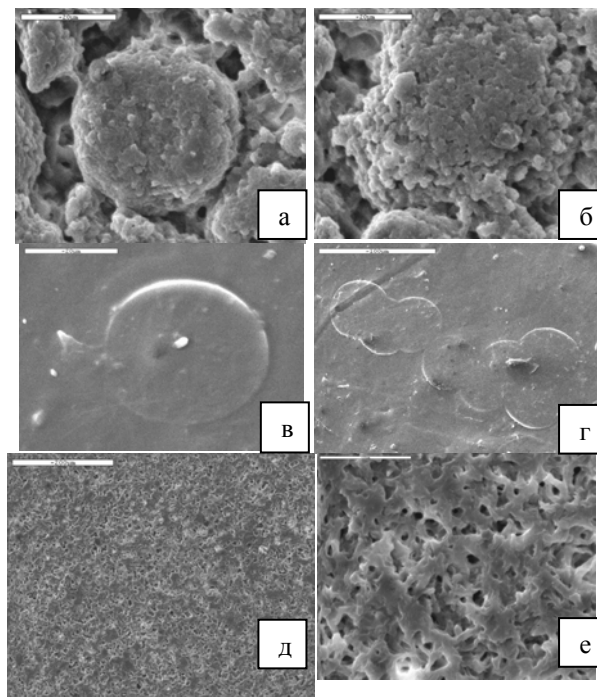


Рис. 2 - Микрофотографии поверхностей пленок ПГБ, полученных медленным испарением растворителя (а, б) и прессованием вблизи температуры плавления ПГБ, равной 170 °С (в, г), (д, е). Увеличение: $5 \cdot 10^2$ (а-в, е), $2 \cdot 10^3$ (г) и $1 \cdot 10^3$ (д)

Для выяснения особенностей структуры и морфологии пленочных композиций ПГБ–ЛВ, методом сканирующей электронной микроскопии получены микрофотографии поверхностей пленок, сформированных двумя независимыми методами: испарением органического растворителя и прессованием вблизи температуры плавления. Структура пленок, полученных из раствора, образована плотно прилегающими и слегка деформированными глобулами. Размеры глобул меняются от нескольких микрон до 30–50 мкм. В результате достаточно плотного расположения микрочастиц, формирующих матрицу ПГБ, число пор сравнительно невелико, их протяженность ограничена, т.е. все они являются тупиковыми.

Матрица ПГБ состоит из глобул двух типов: сферической формы (рис. 3а) и деформированных, коалесцирующих между собой (рис. 3б). Для всех типов частиц прослеживается тонкая структура поверхности, где различимы более мелкие элементы, размеры которых соответствуют субмикронному диапазону и близки к диаметру природных глобул ПГБ, образуемых в бактериях-продуцентах. В результате плавления поверхности пленок ПГБ приобретают однородный вид с одиночными (рис. 3в) или коалесцирующими между собой (рис. 3г) строго сферическими частицами. Граница между матрицей и частицами проявляется достаточно четко, однако все они плотно включены в основную матрицу образца. В некоторых случаях слияние частиц не происходит и сферические элементы не соприкасаются между собой.

Несмотря на это между ними также могут образоваться поры размером в несколько микрон. Для всех структур характерна правильная сферическая геометрия частиц, представляющая дополнительное сопротивление потоку молекул воды и, в заметной степени, потоку РФП, имеющего больший молекулярный объем. Эффект пористости здесь отсутствует и процесс определяется термодинамической растворимостью воды (~2 мас.%) и активированной диффузией ЛВ в матрице ПГБ ($\sim 10^{-11}$ см²/с).

При усложнении системы, т.е. при введении в полимер ЛВ, сферические элементы исчезают, а вместо них образуется фибриллярная сетка, элементы которой хаотично ориентированы в пространстве (рис. 3д и 3е). Подобная структура демонстрирует возрастание пористости, а также изменение шероховатости поверхности, что оказывает влияние на механизм и характер деструкции ПГБ в модельных условиях (фосфатный буфер). В подтверждение вышесказанного наша структура способствует увеличению сорбционной емкости пленок, что приводит к возрастанию диффузионного потока РФП в процессе высвобождения. Последний вывод согласуется с кинетическими результатами предыдущего раздела.

Литература

1. Chen G.Q., Wu Q., *Biomaterials*, **26**, 33, 6565-6578 (2005).
2. Lenz R.W., Marchessault R.H. *Biomacromolecules*, **6**, 1, 1-8 (2005).
3. Bonartsev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A. and Zaikov G.E., *Polymers Research Journal*, **2**, 2, 127-160 (2008).
4. Иощенко Ю.П., Коблов В.Ф., Заиков Г.Е., Абзальдинов Х.С., *Вестн. Казан. технол. ун-та*, **15**, 7, 106-113 (2012).
5. Ольхов А.А., Иорданский А.Л., Власов С.В., Косенко Р.Ю., Симонова Ю.С., Заиков Г.Е., Яруллин А.Ф., *Вестн. Казан. технол. ун-та*, **15**, 9, 108-111 (2012).
6. Iordanskii A. L., A. A. Ol'khov, Y. N. Pankova, A. P. Bonartsev, G. A. Bonartseva, and V. O. Popov. *Macromol. Symposium*, 157, 314 – 320 (2006).
7. Ольхов А.А., Иорданский А.А., Стоянов О.В., Заиков Г.Е., *Вестн. Казан. технол. ун-та*, **16**, 1, 145-148 (2013).
8. Карпова С.Г., Иорданский А.Л., Клемина Н.С., Попов А.А., Ломакин С.М., Шилкина Н.Г., Ребров А.В., Заиков Г.Е., Абзальдинов Х.С., *Вестн. Казан.технол.ун-та*, **16**, 2, 92-95 (2013).
9. Иорданский А.Л., Иванцова Е.Л., Косенко Р.Ю., Зернова Ю.Н., Роговина С.З., Филатова А.Г., Гумаргалиева К.З., Русанова С.Н., Стоянов О.В., Заиков Г.Е. *Вестн. Казан.технол.ун-та*, **16**, 8, 204-207 (2013).

© А. Л. Иорданский - сотр. Института Химической Физики им. Н.Н. Семенова РАН; Е. Л. Иванцова - сотр. Института Химической Физики им. Н.Н. Семенова РАН; Р. Ю. Косенко - сотр. Института Химической Физики им. Н.Н. Семенова РАН; Ю. Н. Зернова - сотр. Института Химической Физики им. Н.Н. Семенова РАН; С.З.Роговина - сотр. Института Химической Физики им. Н.Н. Семенова РАН; А. Г. Филатова - сотр. Института Химической Физики им. Н.Н. Семенова РАН; К. З. Гумаргалиева - сотр. Института Химической Физики им. Н.Н. Семенова РАН; С. Н. Русанова – канд. техн. наук, доц. каф.каф. технологии пластических масс КНИТУ; О. В. Стоянов – д-р техн. наук, проф., зав. каф. технологии пластических масс КНИТУ, Г. Е. Заиков - д-р хим. наук, проф. той же кафедры.