

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 1

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.

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), рН 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 масс. %.

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 масс. %.

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.

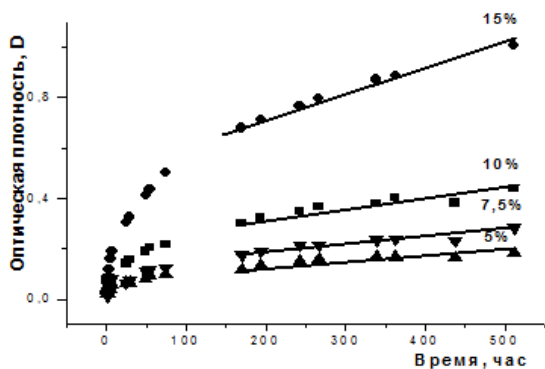


Рис. 1 - Кинетические профили высвобождения рифампицина из пленок ПГБ + 5% РФП, +7,5% РФП, +10% РФП, +15% РФП

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.

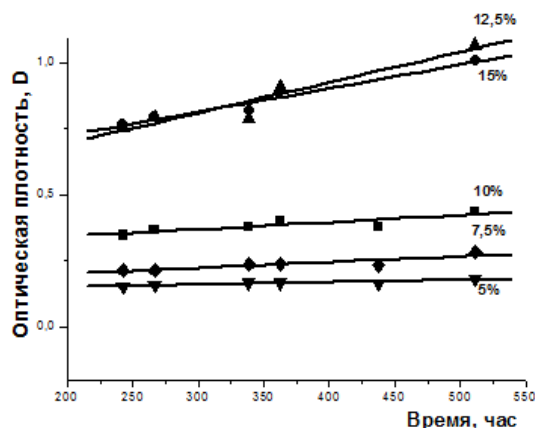


Рис. 2 - Линейный участок кинетических кривых высвобождения рифампицина из пленок ПГБ + 5% РФП, +7,5% РФП, +10% РФП, +12,5% РФП и +15% РФП

Эмпирически этот экспоненциальный рост может быть отражен уравнением:

$$k = k_0 \exp(a_0 \cdot C_{\text{РФП}}), \quad (1)$$

где $k_0 = 0,699 \text{ час}^{-1}$, $a_0 = 0,251 \cdot 10^{-2} \text{ г/г}$, а k - константа, не зависящая от времени, час^{-1} , и отражающая тангенс угла наклона линейного участка кинетического профиля высвобождения; $C_{\text{РФП}}$ - 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:

$$C_{\text{РФП}|t} = G_t + C_{k|t}, \quad (2)$$

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, $C_{\text{РФП}|t}$ в каждый данный момент времени t позволяет построить зависимость G_t 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 традици-

онных диффузионных координатах $G_{РФП}/G_{\infty} \sim t^{1/2}$. 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.

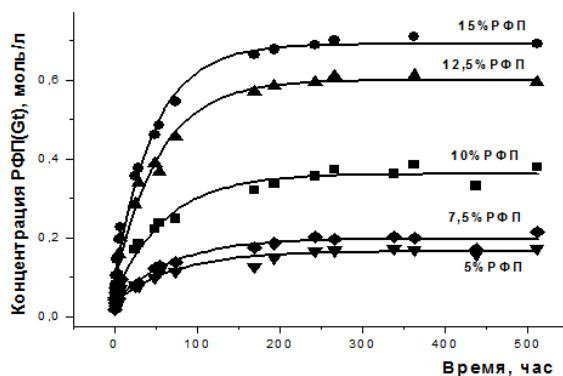


Рис. 3 - Высвобождение рифампицина из пленок ПГБ +5% РФП, +7,5% РФП, +10% РФП, +12,5% РФП +15% РФП за вычетом деструктивной составляющей

В нашем случае диффузия низкомолекулярного компонента в полимерной системе подчиняется дифференциальному уравнению 2-го порядка:

$$\frac{\partial G_{РФП}}{\partial t} = D_{РФП} \cdot \frac{\partial^2 G_{РФП}}{\partial x^2} \quad (3)$$

$$\text{где } G_{РФП} \equiv C_{РФП} - k \quad (4)$$

Здесь $G_{РФП}$ - концентрация ЛВ, способного к десорбции по диффузионному механизму, $D_{РФП}$ - эффективный коэффициент диффузии ЛВ, $\text{см}^2/\text{сек.}$; $C_{РФП}$ - общая концентрация ЛВ, %; x и t - соответственно, координата (см.) и время (с.) диффузии.

Решение дифференциального уравнения (3) на начальном отрезке времени, когда выполняется условие $G_t/G_{\infty} \leq 0,5$, имеет вид алгебраического уравнения (5):

$$\frac{G_t}{G_{\infty}} = \left[\frac{4D_{РФП}^a \cdot t}{\pi L^2} \right]^{1/2} \quad (5)$$

Графическое решение этого уравнения позволяет рассчитать эффективные коэффициенты диффузии рифампицина в пленках ПГБ. Для этого в координатах $G_{РФП}/G_{\infty} \sim t^{1/2}$, мы численно определили положительные тангенсы наклона ($\text{tg}\alpha$), а затем по уравнению:

$$D_{РФП}^a = \frac{\pi L^2 (\text{tg}\alpha)^2}{16} \quad (6)$$

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 коэффици-

енты линейно возрастают с ростом концентрации ЛВ. Причиной этого эффекта, вероятно, является структурная разупорядоченность аморфных областей ПГБ, что будет продемонстрировано далее.

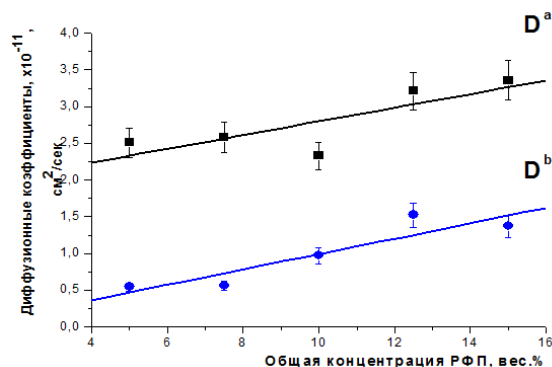


Рис. 4 - Коэффициенты диффузии РФП в пленках ПГБ, рассчитанные по начальному и конечному участкам десорбционных кривых

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 $G_t/G_{\infty} \geq 0,5$ решение диффузионного уравнения (3) имеет традиционный экспоненциальный вид, отличающийся от степенного уравнения (5)

$$\frac{G_t}{G_{\infty}} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \exp \left(-\frac{\pi^2 D^b t}{L^2} \right) \quad (7)$$

Алгебраический вид данного уравнения позволяет определить коэффициенты диффузии путем его преобразования в полулогарифмических координатах $\lg(1 - G_t/G_{\infty}) - t$:

$$\lg \left(1 - \frac{G_t}{G_{\infty}} \right) = \lg \frac{8}{\pi^2} - \frac{\pi^2 D_{РФП}^b}{L^2} t \quad (8)$$

Теория предсказывает, что в случае классического диффузионного переноса с постоянным транспортным коэффициентом значения диффузионных коэффициентов, рассчитанных как на начальном участке кинетических кривых (условие $G_t/G_{\infty} \leq 0,5$), так и на завершающем этапе диффузии (условие $G_t/G_{\infty} \geq 0,5$) должны совпадать. В рамках классической диффузионной модели, если бы выполнялось равенство $D_{РФП}^a$ (на начальном участке) = $D_{РФП}^b$ (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 ($\approx k_h L^2 = 1,8 \cdot 10^{-11} \text{с}^{-1}$), так что выполняется равенство:

$$D_{РФП}^a \approx D_{РФП}^b + k_h L^2 \quad (9)$$

где k_h - 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:

$$\frac{\partial C_{РФП}}{\partial t} = D_{РФП} \frac{\partial^2 C_{РФП}}{\partial x^2} + k \quad (10)$$

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 $C_{РФП}$) 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, ($C_{РФП} - k \cdot t$) 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.

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. Crank J., *The Mathematics of Diffusion*. 2nd Edition. Oxford: Clarendon Press, 1975. 415p.

© 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. 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.