

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. Ранее нами были представлены результаты исследований морфологии пленок поли(3-гидроксibuтирата), равновесной сорбции воды и подвижности рифампицина (РФП) в исследованных пленках, а также кинетики высвобождения рифампицина из них [9-10]. 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 - СНСl₃ и диоксан марки ЧДА (ЗАО «Экос-1», РФ), для ХТ - СН₃СООН 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. Структурно-морфологические особенности композиций на микро- и наноуровнях (формирование водородных связей, анизотропия и гетерогенность матрицы, ее кристалличность) выясняли с помощью электронных микрофотографий регистрацией вторичных электронов с низкой энергией на сканирующем электронном микроскопе фирмы «JEOL» марки JSM-6510LV.

Исследования по термоанализу наших пленочных композиций проводили на дифференциальном сканирующем калориметре DSC - 60 («Shimadzu», Япония) Научно-образовательного центра полимерных материалов ВятГУ. Испытания образцов проводили со скоростью сканирования 10 град./мин. Результаты и их обсуждение Характеристика структуры смесевых композиций ПГБ-ХТ с помощью методов электронной микроскопии (СЭМ) и ДСК Предполагая изменения структуры и кристалличности при введении в систему другого полимерного компонента - хитозана, методами СЭМ, ДСК и ИКС нами был исследован ряд смесевых композиций ПГБ-ХТ с различным соотношением компонентов ПГБ-ХТ от 10 до 60 мас.% ПГБ. На рисунках 1 и 2 в качестве примера приведены термограммы индивидуального поли-3-гидроксibuтирата, а также смесевой композиции ПГБ с хитозаном. Термограмма исходного ПГБ (рис. 1) в области температуры плавления (140 - 185 $^{\circ}\text{C}$) имеет 2 эндотермических максимума: высокотемпературный пик (174,4 $^{\circ}\text{C}$) принадлежит плавлению хорошо организованной кристаллической структуры, а низкотемпературный пик в области 157,5 $^{\circ}\text{C}$ относится к плавлению менее совершенной кристаллической

структуры. При образовании смесевой композиции ПГБ-ХТ термограммы (рис. 2) сохраняют максимумы, характерные для каждого индивидуально компонента, с некоторым сдвигом в область более низких температур. Следует также отметить, что бимодальная форма пика плавления ПГБ переходит в одиночный максимум, что косвенно свидетельствует о слиянии двух форм кристаллического состояния ПГБ. Более того, для всех смесевых пленок наблюдается снижение температуры плавления ПГБ по сравнению с чистым ПГБ, примерно на 4-5°C. Рис. 1 - Термограмма нагрева индивидуального поли-3-гидроксибутирата а б Рис. 2 - Термограммы нагрева смесевых композиций ПГБ с хитозаном Для определения кристалличности наших образцов графическим методом мы определяли площадь под кривой пика плавления. Показано, что степень кристалличности ПГБ в системе имеет экстремальную зависимость (рис. 3) с хорошо выраженным минимумом в области тех же составов ПГБ, где методом СЭМ наблюдается расслоение системы на фазы индивидуальных полимеров. Вычисленные значения степени кристалличности ПГБ для разных смесевых композиций представлены в табл. 1. Рис. 3 - Зависимость степени кристалличности ПГБ в смеси с хитозаном от его процентного содержания

Таблица 1 - Значения площади пика и кристалличности ПГБ для смесевых композиций с различным содержанием ПГБ

Содержание ПГБ, %	Нормированная площадь пика, S	Кристалличность, %
10	6,95	20
20	8,22	70,4
30	9,95	56,8
40	12,2	52,2
50	14,7	50,3
60	18,2	51,9
100	43,8	75
Пересчет на 100% кристалличности ПГБ	58,4	

Для всех смесевых пленок в интервале соотношений ПГБ-ХТ 10-60% наблюдается снижение температуры плавления ПГБ по сравнению с чистым ПГБ. Снижение этой характеристики в зависимости от состава происходит экспоненциально во всем интервале концентраций. Две выпадающие точки в области составов 50-60% ПГБ, по нашему мнению отражают несовместимость компонентов, что независимо подтверждается результатами СЭМ. Для выяснения особенностей морфологии пленочных композиций на основе смесевой композиции ПГБ и хитозана и подтверждения несовместимости компонентов в области составов 50-60% ПГБ были получены микрофотографии поверхностей пленок и торцевых сколов, зафиксированные методом СЭМ (рис. 4). Сложная зависимость степени кристалличности от состава, ее минимум в этой же области концентраций, также характеризует разделение композиции на две фазы. Сочетание результатов ИК спектроскопии Фурье и результатов ДСК, а также микрофотографии торцевых сколов СЭМ позволяет предположить, что за исключением области составов, где полимерные компоненты практически не смешиваются, ПГБ и хитозан взаимодействуют между собой путем формирования водородных связей между сложноэфирными группами ПГБ и аминными группами полисахарида. Рис. 4 - Результаты СЭМ в сочетании с ДСК термограммами плавления ПГБ в присутствии хитозана При анализе микрофотографий поверхностей и сколов для смесевых пленок установлено, что

по мере возрастания содержания ПГБ глобулярность структуры проявляется все более отчетливо (рис. 4). Глобулы как бы «вставлены» в матрицу хитозана и, в целом, оба компонента образуют гетерофазную структуру. Отметим, что несмотря на гетерофазность, практически при всех соотношениях полимерных компонентов сохраняется целостность матрицы ПГБ с нарастанием в ней концентрации глобул хитозана. Заметным исключением представляется морфологическая структура пленок с соотношением полимеров 1:1 (50% ПГБ). Здесь отчетливо наблюдается расслоение полимерных компонентов с образованием двухслойной пленки, где один слабоструктурированный слой относится к хитозану, а другой морфологически усложненный с явными структурными элементами относится к ПГБ. При высоком увеличении в слое хитозана можно заметить незначительное количество глобул ПГБ, однако в целом фазовое разделение происходит достаточно заметно. Образование бислойной структуры должно влиять на диффузионные, механические и другие физико-механические характеристики полимерной композиции. Отсутствие совместимости полимерных компонентов в системе в случае разработки новых биоразлагаемых материалов не является недостатком. Доступность несмешивающихся гетерогенных структур, как правило, выше чем однородных сплошных структур. Поскольку гетерогенные структурные элементы более активно подвергаются атаке воды и других гидролизующих агентов (кислоты, ферменты), то регулируя степень гетерогенности и размеры структурных элементов появляется потенциальная возможность контролировать скорость гидролитического распада полимерной системы.