

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), структуры смесевых композиций ПГБ-ХТ, равновесной сорбции воды и подвижности рифампицина (РФП) в исследованных пленках, а также кинетики высвобождения рифампицина из них[9-11]. 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. Кинетика высвобождения рифампицина из пленок поли(3-гидроксibuтирата) и хитозана Инкапсуляция ЛВ в двухкомпонентной полимерной системе, где компоненты существенно различаются по степени гидрофильности, определяется полярностью молекул ЛВ. Следовательно, варьируя соотношение ПГБ-хитозан, можно влиять на механизм контролируемого высвобождения ЛВ. На рис. 1 показаны кинетические профили высвобождения РФП из пленок смеси ПГБ-хитозан при различном соотношении компонентов (с преобладающим содержанием хитозана рис. 1 (а) и с преобладающим содержанием ПГБ рис. 1 (б)). Показано, для обеих серий наблюдается различный характер высвобождения ЛВ. Из образцов, где основным компонентом является гидрофильный полисахарид, лекарственное вещество десорбируется монотонно, протекает диффузионный процесс, а при большом содержании ПГБ заметен вклад гидролитической деструкции (линейные участки). На следующем этапе исследования по аналогии с исследованием кинетики высвобождения рифампицина из пленок поли(3-гидроксibuтирата) [9] было проведено компьютерное моделирование двух сопряженных процессов: диффузии и химической реакции гидролиза для смесевых композиций с преобладанием ПГБ. Диффузионно-кинетическое уравнение как и в [9] описывает нелинейную и линейную стадии процесса

выхода ЛВ, т.е. включает сумму двух вкладов: десорбции по диффузионному механизму и высвобождения по реакции нулевого порядка связанной с гидролизом ПГБ: , [9, уравнение 10]. а б Рис. 1 - Кинетические профили высвобождения рифампицина из пленок полигидроксибутират-хитозан: а) содержание ПГБ, масс. % - 60% (1), 30% (2), 10% (3); б) содержание ПГБ, масс. % - 50% (1), 60% (2), 80% (3), 70% (4), 90% (5) После компьютерного разделения двух этих процессов и обработки кинетических кривых, относящихся к диффузионному процессу, зависимости M_t/M_∞ от корня из времени (t) имеют вид прямых линий, показанных на рис. 2. Их тангенсы наклона ($\tan \alpha$) позволяют рассчитать эффективные коэффициенты диффузии рифампицина в смеси для обеих серий соотношений компонентов по уравнению (6) [9]. Совокупность эффективных диффузионных коэффициентов (ДРФП), измеренных спектрофотометрически и рассчитанных по уравнению (6) [9] при различных соотношениях полимерных компонентов, представлена на рис. 3 в полулогарифмической шкале координат. Данная зависимость имеет достаточно сложный вид. При увеличении содержания ПГБ, т.е. гидрофобного компонента, от 10 до 60 мас.% в системе наблюдается близкое к экспоненциальному падение диффузионной подвижности. В полимерных смесях, где содержание хитозана меньше, чем содержание ПГБ или же хитозан вообще отсутствует, существует минимум значений ДРФП в области, соответствующей 70-80 мас.% ПГБ. а б Рис. 2 - Линейный вид кинетических кривых высвобождения рифампицина из пленок смесевых композиций хитозан-ПГБ с содержанием ПГБ: 1-10%, 2-20% ,3-40%, 4-50%, 5-60% (а) и 1-90%, 2-50%, 3-60%, 4-80%, 5-70% (б) Рис. 3 - Полулогарифмическая зависимость коэффициентов диффузии ЛВ (рифампицина) от состава композиционной смеси ПГБ - хитозан На рис. 4 приведены графики зависимости константы гидролитической деструкции в чистых пленочных композициях ПГБ от содержания РФП (а) и в смесевых композициях ПГБ-ХТ от содержания ПГБ (а). Видно, что ЛВ ускоряет процесс деструкции ПГБ, поскольку константа гидролитической деструкции с ростом падение диффузионной подвижности. В полимерных смесях, где содержание хитозана меньше, чем содержание ПГБ или же хитозан вообще отсутствует, существует минимум значений ДРФП в области, соответствующей 70-80 мас.% ПГБ. а б Рис. 4 - Зависимость константы гидролитической деструкции от содержания ПГБ в системе ПГБ-рифампицин (а) в смесевой в системе ПГБ-ХТ+10%РФП (б) Этот результат показан впервые и является принципиально важным, т.к. введение некоторых ЛВ сокращает срок их пролонгированной доставки. В то же время рост содержания воды в системе по мере увеличения гидрофильного компонента (хитозана) также приводит к росту скорости гидролитической деструкции. Кроме того введение ХТ снижает кристалличность второго компонента (ПГБ). Таким образом, общий кинетический профиль выхода ЛВ из полимерной пленки представляет суперпозицию двух более простых

процессов: десорбции ЛВ из полимерной матрицы по диффузионному механизму и его высвобождения по кинетическому уравнению нулевого порядка в результате начальной стадии деструкции ПГБ. Если вклад диффузии ЛВ в наибольшей степени проявляется при малых временах (рис. 2а), то кинетический (деструктивный) вклад в скорость высвобождения наиболее наглядно заметен при больших временах экспозиции образцов в буферном растворе (рис.2б). В рамках фундаментальной проблемы создания нового поколения полностью биоразлагаемых композиционных систем, предназначенных для замещения традиционных синтетических материалов, разработаны амфифильные, полностью биоразлагаемые композиции на основе природных полимеров - гидрофобного поли(3-гидроксibuтирата) и гидрофильного хитозана. Показано, что в отличие от известных ранее полимерных терапевтических систем предлагаемые системы обладают повышенной сорбционной емкостью лекарственных веществ (ЛВ), регулируемой скоростью биодеструкции в модельных средах, способностью реализовывать различные кинетические профили пролонгированного высвобождения ЛВ в широком диапазоне времени (от недель до месяцев).