

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ»

**ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ
ОБЪЕКТОВ СФЕРИЧЕСКОЙ ФОРМЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студента 2 курса 251 группы
направления 04.04.01 – «Химия»

Института химии

Хакимовой Анастасии Алексеевны

Научный руководитель
доцент, к.х.н.

С.Л. Шмаков

Зав. кафедрой
д.х.н., профессор

А.Б. Шиповская

Саратов 2022

Введение

Актуальность работы. В настоящее время большое внимание уделяется получению материалов, способных стать матриксами для биологически активных и лекарственных веществ. Проблема состоит в том, что введение витаминно-минеральных комплексов в живой организм часто сопровождается отсутствием ожидаемого фармакологического эффекта. Известные на сегодняшний день коммерческие биологически активные добавки, содержащие сложно усваиваемые витаминно-минеральные композиции, представляют собой таблетки, капсулы, либо растворы, лечебное действие которых зачастую непродолжительно. Для решения этих проблем перспективны многослойные носители, сложная морфоструктура которых замедляет их высвобождение лекарственного вещества. В частности, перспективно использование хитозана в качестве основного компонента оболочки капсул-носителей лекарственного вещества. Биосовместимость, низкая токсичность и биоразлагаемость делают данный полимер привлекательным для применения в медицине. Например, его используют в форме макро- и микросфер, которые ныне получают отверждением хитозановой оболочки с двухстадийной сшивкой гексаметафосфатом натрия и адипиновой кислотой при нагревании [1]. Недостатками являются многостадийность процесса, применение вредных для организма сшивающих агентов, необходимость наличия специального оборудования и большое количество реагентов. Вместе с тем известно, что хитозан позволяет получать многослойные самоорганизованные структуры без ковалентно сшивающих агентов [2]. Их применение в форме макро- и микросфер позволит преодолеть указанные недостатки.

Цель работы – разработка способов получения макро- и микросфер на основе хитозана методом «зелёной химии», исследование их морфологических, сорбционно-диффузионных свойств и оценка прикладного потенциала.

Для достижения поставленной цели решали следующие **задачи**:

1. Поиск оптимальных условий получения макро- и микросфер в результате протекания одностадийной полимераналогичной реакции соль → основание хитозана.

2. Оценка влияния условий проведения реакции и природы нейтрализующего реагента на структурно-морфологические и физико-химические особенности полученных образцов.

3. Оценка седиментационной устойчивости микросфер хитозансодержащей дисперсной системы в статических условиях и структурообразования выделенных микросфер в среде модельной вязкой жидкости.

4. Проведение модельных сорбционно-диффузионных экспериментов *in vitro* для оценки макро- и микросфер хитозана в качестве возможных средств адресной доставки загруженного лекарственного средства.

Научная новизна. В работе впервые:

– определены оптимальные условия для получения макро- и микросфер из растворов хитозана в гликолевой кислоте в результате протекания одностадийной полимераналогичной реакции соль → основание хитозана и проведена оценка их морфологических свойств.

– проведены модельные сорбционно-диффузионные эксперименты *in vitro* для оценки микросфер хитозана.

Практическая значимость работы.

Полученные реологические характеристики дисперсионных хитозансодержащих систем носят справочный характер и представляют интерес для решения практических задач.

В данной работе представлены два способа получения макро- и микросфер, определяющих размер сферических структур. Установленные оптимальные соотношения компонентов дисперсионной системы,

позволяющей варьировать не только размер, но и седиментационную устойчивость.

Полученные макро- и микросферы перспективны для адресной доставки, хранения и контролируемого высвобождения витамина D_3 .

Объём и структура магистерской работы. Работа состоит из введения с формулировкой цели и задач, 3 глав (1 глава – обзор литературы, 2 глава – экспериментальная часть, 3 глава – результаты и обсуждение), заключения, списка литературы, техники безопасности и двух приложений.

Работа изложена на 52 стр., включает 13 рисунков и 10 таблиц, список литературы насчитывает 57 источников.

Основное содержание работы.

Проведённый **литературный обзор** показал, что одним из наиболее перспективных направлений получения новых лекарственных форм является микрокапсулирование. Особенность микрокапсулированных форм заключается в том, что вещество защищено от воздействия различных факторов окружающей среды, которые могут вызвать их разрушение [3, 4]. При получении микросфер на основе хитозана на настоящее время используют сложные многостадийные процессы [5, 6].

В экспериментальной части описаны реактивы и объекты исследования, два способа получения макросфер и микросфер — капельный и коацервационный. Перечислены методы исследования: гравиметрия, рефрактометрия, сканирующая электронная микроскопия, поляризационная микроскопия, ротационная вискозиметрия.

Получение и свойства макросфер на основе хитозана. Исследовано влияние природы нейтрализующего агента на получение макросфер хитозана, способ получения которых основывается на проведении реакции полимераналогичного превращения соль→основания хитозана. Установлено, что быстрее всего макросферы образуются из растворов хитозана с концентрацией 2 и 3 мас.% в растворе NaOH, они твёрдые и имеют круглую форму. В растворе роданиде аммония образуется лишь твёрдая оболочка макросфер, в центр нейтрализующий агент не проникает. Диаметр сформированных объектов зависит исключительно от концентрации раствора хитозана.

Методами сканирующей электронной и поляризационной микроскопии визуализированы морфологические особенности формирующихся макросфер. В полученных образцах наблюдалась слоистая структура. Образование кольцевых зон происходило не только на поверхности, но и во всём объёме образца.

Исследуемый процесс подчиняется классическим закономерностям ионно-обменных реакций, а кинетика образования и соотношение положений периодических структур описываются характерными для явления Лизеганга закономерностями. Можно выделить три различающихся по морфоструктуре участка: первичный интерфейс практически круглой формы, центральные концентрические зоны и периферийные краевые кольца, структурные особенности и ориентационное упорядочение которых зависят от концентрации полимера.

Сорбционно-диффузионные свойства хитозансодержащих материалов. Для оценки возможности биомедицинского применения многослойных пространственно-ориентированных хитозансодержащих материалов была изучена сорбция и десорбция раствора холекальциферола (витамина D_3) в/из гель-плёнок хитозана, полученных аналогичным способом. На первом этапе оценивали влияние исходной концентрации водного раствора витамина D_3 на количественные параметры загрузки лекарственного вещества в гель-плёнку. Доказано, что увеличение исходной концентрации витамина D_3 повышает количество загруженного лекарственного вещества.

Далее было проведено сравнение сорбционно-диффузионных свойств гель-плёнок из хитозана и установлено, что нейтрализующий реагент не оказывает существенное влияние на сорбционные свойства образцов. Наиболее эффективное пролонгированное действие наблюдается для гель-плёнок, сформированных в гидроксиде натрия. Время десорбции достигало 6000 мин.

Получение и свойства микросфер на основе хитозана. Микросферы хитозана получали методом коацервации в дисперсной системе. Частицы формировались как сферической, так и искажённой формы с диаметром в микронном диапазоне.

При использовании 2 мас.% раствора хитозана формируются микросферы размером 30–210 мкм, 3 мас.% — 10–150 мкм, а 3,4 мас.% — 2–

90 мкм. Увеличение концентрации хитозана приводило к образованию структур сферической формы меньших размеров. Оптимальная концентрация составила 3 мас.%, и дальнейшие исследования проводились с ней.

Изучали зависимость размеров микросфер от массового соотношения трёх фаз: масла, растворов гликолята хитозана и ТЭА. Микросферы наименьшего размера формировались при равном массовом соотношении всех фаз, а наибольшего размера — при соотношении 1:2:1. В случае избытка водной среды размер микросфер варьировал в пределах 35–10 мкм. Если же соотношение водной и масляной среды было равное, то формировались частицы с размером, близким к 9 мкм.

Исследование морфологических свойств дисперсной системы в течение недели показало искажение микросфер, вплоть до образования агрегированного осадка. Хитозансодержащая дисперсная система была нестабильной, происходило фазовое разделение жидкость–жидкость и жидкость–твёрдое тело. Система расслаивалась на масляные слои без и с небольшой долей дисперсных частиц, и слой твёрдого белого вещества. Все дисперсии оказались нестабильными во времени, время расслоения варьировало от 5 до 27 мин. Самой неустойчивой системой показала себя дисперсия с равным массовым соотношением всех компонентов. Быстрое фазовое разделение позволяет легко выделить микросферы хитозана и поместить их в дисперсионную среду медицинского назначения.

Реологические свойства хитозансодержащих дисперсий. Выделенные микросферы помещали в модельный стабильный водный раствор поливинилового спирта (ПВС). В случаях, когда введение микросфер в водный раствор ПВС приводило к классическому или псевдопластическому течению исследуемой дисперсионной жидкости, тиксотропные свойства системы не наблюдались. Когда фиксировалась зависимость, характерная для дилатантных жидкостей, то дисперсионная система была устойчива к циклическим нагрузкам. Наиболее стабильной являлась дисперсная система с равным массовым соотношением всех компонентов.

Заключение

1. Получены макро- и микросферы в результате полимераналогичного превращения соль→основание хитозана с использованием в качестве нейтрализующих реагентов гидроксида натрия, триэтаноламина и роданида аммония. Доказано, что макросферы, полученные с использованием органического и неорганического основания, имеют многослойную структуру. Макросферы слоистой структуры и правильной сферической формы формируются лишь в среде NaOH. С повышением концентрации раствора хитозана диаметр капсул увеличивается.

2. Оценён прикладной потенциал слоистых структур на примере сорбции и десорбции витамина D_3 в/из гель-плёнок хитозана. Природа нейтрализующего реагента не оказывает существенного влияния на сорбционные свойства образцов. При этом более эффективное пролонгированное действие наблюдается для гель-плёнок, сформированных в растворе гидроксида натрия. Время десорбции достигало 6000 мин.

3. Установлена высокая дисперсность системы с микросферами. При использовании 2 мас.% раствора хитозана формируются сферы размером 30–210 мкм, 3 мас.% — 10–150 мкм, а при 3,4 мас.% — 2–90 мкм. Обнаружено, что увеличение концентрации хитозана приводит к образованию структур сферической формы меньших размеров.

4. Все дисперсные системы седиментационно неустойчивы. Наблюдалось расслоение дисперсных систем с фазовым разделением типа жидкость–жидкость и жидкость–твёрдое тело.

5. Показаны тиксотропные свойства дисперсных систем в модельной среде.

Список литературы

1. Седякина Н.Е. Антибактериальная активность биodeградируемых частиц на основе хитозана, содержащих коллоидное серебро / В.Ю. Решетова, А.Ф. Кривощепов, И.А. Буторова, Н.Б. Фельдман, С.В. Луценко, А.Н. Кусков // Биотехнология. –2020. – Т.36. – №.4. С.87-93.
2. Tokumitsu H. Preparation of gadopentetic acid-loaded chitosan microparticles for gadolinium neutron-capture therapy of cancer by a novel emulsion-droplet coalescence technique / H. Ichikawa, Y. Fukumori, L.H. Block // Chemical and pharmaceutical bulletin. –1999. – Т.47. – №.6. – С.838-842.
3. Butstraen C. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan / F. Salaün // Carbohydrate Polymers. –2014. – V. 99. – P.608-616.
4. Joshi A.S. Design, characterization and evaluation of Eudragit microspheres containing glipizide / C.C. Patil, S.S. Shiralashetti, N.V. Kalyane // Drug Invention Today. –2013. – V. 5. – No.3. – P.229-234.
5. Yuen C.-W. M. Chitosan microcapsules loaded with either miconazole nitrate or clotrimazole, prepared via emulsion technique / J. Yip, L. Liu, K. Cheuk, C.-W. Kan, H.-C. Cheung, S.-Y. Cheng // Carbohydrate Polymers. –2012. – V. 89. – No.3. – P.795-801.
6. Кутузов М.Д. Влияние параметров эмульгирования на размер капель и полидисперсность эмульсии раствора высокомолекулярного хитозана / К.В. Лазнев, М.Ю. Рощина // Молодежь в науке-2016. –2017. – С.388-393.
7. Babicheva T. S. Formation of Liesegang Structures under the Conditions of the Spatiotemporal Reaction of Polymer-Analogous Transformation (Salt→ Base) of Chitosan / A.A. Konduktorova, S.L. Shmakov, , A.B. Shipovskaya // The Journal of Physical Chemistry B. –2020. – Т. 124. – №. 41. – С.9255-9266.
8. Кленин В. И. Термодинамика систем с гибкоцепными полимерами. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1995 // Высокомолек. гос. ун-та. – 1995. – С.1048.

Список публикаций по теме исследований

1. Babicheva T. S. Formation of Liesegang Structures under the Conditions of the Spatiotemporal Reaction of Polymer-Analogous Transformation (Salt→ Base) of Chitosan / Konduktorova, A.A., Shmakov, S.L., & Shipovskaya, A.B. // The Journal of Physical Chemistry B. –2020. – V.124. – No.41. – P.9255-9266.

2. Курочкина В.А. Исследование процесса формирования самоорганизованных многослойных структур хитозана в условиях депротонирования поликатиона с использованием органического и неорганического нейтрализующего агента / А.А. Кондукторова, Т.С. Бабичева, С.Л. Шмаков, А.Б. Шиповская // Сб. Матер. Международ. мол. науч. форума «ЛОМОНОСОВ-2021» Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, –2021. 2000 экз. ISBN 978-5-317-06593-5

3. Хакимова А.А. Получение макросфер и капсул на основе хитозана / Т.С. Бабичева, С.Л. Шмаков // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: Межвуз. сборник науч. трудов XV Всероссийск. конф. молодых ученых с международ. уч. Саратов: Изд-во «Саратовский источник». –2021. – С.216-217.

4. Хакимова А.А. Получение макро- и микросфер из растворов хитозана в гликолевой кислоте / Т.С. Бабичева, С.Л. Шмаков // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2021: Сборник статей Всероссийской школы-семинара / под ред. проф. Ан.В. Скрипаля. – Саратов: Изд-во «Саратовский источник». –2021. – С.76-77.

5. Konduktorova A.A. Studying of the supramolecularly ordered layered structure of chitosan gel films / V.A. Kurochkina, T.S. Babicheva, S.L. Shmakov, and A.B. Shipovskaya // Collection of 8th International School and Conference on Optoelectronics, Photonics, Engineering and Nanostructures. –2021. – P.408-409.

6. Khakimova A.A. TEM use for the study of chitosan microspheres and nanospheres obtained from its salts with several acids / V.V. Pominov, T.S.

Babicheva, S.L. Shmakov, A.B. Shipovskaya // Collection of 9th International School and Conference on Optoelectronics, Photonics, Engineering and Nanostructures. – 2022. – P.125.