

МИНОБРНАУКИ 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 МИКРОКАПСУЛ НА ОСНОВЕ ТАРТРАТА  
ХИТОЗАНА**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента 4 курса 412 группы  
направления 04.03.01 «Химия»

Института химии

Поминова Владислава Владимировича

Научный руководитель

доцент кафедры

к. х. н., доцент

С. Л. Шмаков

Саратов 2023

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** В настоящее время активно идет поиск эффективного носителя биологически активных веществ. В частности, от свойств вещества-носителя зависит эффективность усвоения лекарства, адресность его доставки к целевому органу. Известные на сегодняшний день коммерческие лекарственные формы, содержащие биологически активные вещества, например, сложно усваиваемые витаминно-минеральные комплексы, имеют недостаточно эффективное и кратковременное фармакологическое действие. Применение капсул на основе хитозана перспективно для разработки систем с адресной доставкой биологически активных веществ. Благодаря своей биосовместимости, нетоксичности и биоразлагаемости хитозан предопределяет много преимуществ систем для адресной доставки лекарств. Хитозан обладает сильными когезионными свойствами, что позволяет использовать его в качестве матричной платформы для обеспечения контролируемого высвобождения лекарственного вещества, а также повысить эффективность фармакологического действия [1]. Матрицы на основе хитозана также широко используются из-за его мукоадгезивных свойств. Последние, в основном, можно объяснить ионными взаимодействиями, в частности, между катионными аминогруппами хитозана и отрицательными функциональными группами, содержащимися, например, в сиаловых кислотах, которые присутствуют во всех тканях и жидкостях организма [2]. В литературе известны микрокапсулы на основе хитозана. Однако, их применение связано с рядом трудностей, в частности, с многостадийным технологическим процессом и использованием вредных для организма сшивающих агентов.

Кроме того, использование биологически активных кислот в сочетании с хитозаном позволит ожидать синергетический эффект и расширить область применения сферических структур микро- и наноразмеров. Применение таких кислот позволяет варьировать как физико-химические, так и общебиологические свойства получаемых систем. Ранее использовали

фармакопейные одноосновные кислоты, а применение двухосновной винной кислоты позволит получить материалы с новой надмолекулярной структурой и ценными фармакологическими свойствами.

**Целью работы** явилось получение нано- и микросфер из растворов хитозана в винной кислоте и оценка их физико-химических свойств.

**Задачи исследования включали:**

1. Приготовление растворов хитозана в винной кислоте и изучение их кислотнo-основных и вязкостных свойств.
2. Получение нано- и микросфер тартрата хитозана из его растворов в винной кислоте различными методами.
3. Оценка размеров и морфологии полученных микросфер.
4. Оценка стабильности дисперсной системы с микросферами хитозана.

**Научная новизна.** В работе впервые:

– получены нано- и микросферы хитозана из его растворов в виной кислоте методами механического и ультразвукового диспергирования;

– оценена кинетическая стабильность дисперсных систем с нано- и микросферами хитозана. Зафиксировано уменьшение размеров микросфер вплоть до наноразмеров на 4–5 сутки выдерживания системы.

**Практическая значимость**

Выделены хитозансодержащие дисперсные системы, наиболее перспективные для дальнейшей загрузки лекарственного вещества и исследования общебиологических свойств.

**Структура и объем работы.** Выпускная квалификационная работа (ВКР) состоит из раздела обозначений и сокращений, введения, трех глав («Литературный обзор», «Экспериментальная часть», «Результаты и обсуждения»), заключения, списка литературы, включающего 35 источников, техники безопасности, и приложения А, Б. В тексте работы содержатся таблицы, формулы и графические иллюстрации. Общий объем ВКР составляет 48 страниц, включая 10 рисунков и 6 таблиц.

**Основное содержание работы.**

В главе 1 представлен обзор литературы, в котором обсуждаются физико–химические свойства хитозана, а также перспективы и особенности его применения в качестве основного компонента для приготовления микро– и наночастиц хитозана, как систем доставки биологически активных веществ [3–7]. Так же обсуждаются основные физико–химические и биологические свойства L+ винной кислоты и сферы ее применения.

В главе 2 описаны материалы и методы, используемые в работе.

Объектами исследования явились:

- растворы хитозана концентрации 0.5 – 2.5 мас.% в 6% ВК;
- дисперсные хитозансодержащие системы;
- нано и микросферы хитозана, выделенные из данной дисперсной системы.

В работе использовали хитозан со средневязкостной молекулярной массой 700 кДа, СД 80 мольн.% производства ЗАО «Биопрогресс» (РФ), L+ винную кислоту (ЗАО «База №1 Химреактивов», РФ), гидроксид натрия (ЗАО «База №1 химреактивов», РФ), триэтаноламин (ТЭА) (ЗАО «База №1 химреактивов», РФ), 96%-й этанол, масло растительное (рафинированное, дезодорированное подсолнечное).

Эмульсии получали двумя методами. В методе коацервации использовали механическое диспергирование, для чего смешивали растительное масло с раствором хитозана в разных массовых соотношениях на мешалке при 1000 об/мин и выдерживали 3 мин при постоянном перемешивании. Затем добавляли нейтрализующий реагент (триэтаноламин) для реакции полимераналогичного превращения водорастворимой соли тартрата хитозана в водонерастворимое основание. После систему выдерживали на мешалке в течение часа до образования устойчивой дисперсии. При методе ультразвукового диспергирования в пробирку на 10 мл с плотно закрывающейся крышкой помещали реагенты в следующем порядке: масло – раствор хитозана – ТЭА или этанол. Пробирку погружали в

ультразвуковую ванну с температурой воды 20°C и выдерживали в течение одного часа до образования дисперсии.

Кислотно-основные свойства полученных растворов тартрата хитозана оценивали потенциометрическим титрованием. Вязкостные свойства растворов хитозана в винной кислоте оценивали методом ротационной вискозиметрии. Седиментационную и термодинамическую устойчивость дисперсной системы оценивали визуально.

Образование микросфер и их морфологию оценивали оптическими (СЭМ, СПЭМ, ИК, поляризационная микроскопия) методами.

В главе 3 обсуждаются результаты исследований физико-химических, реологических свойств растворов хитозана в винной кислоте, а также свойства получаемых дисперсных систем с микросферами.

В результате исследований установили, что массовая концентрация винной кислоты должна превышать массовую концентрацию хитозана в 2.65 раза для полного его растворения. Степень протонирования ( $\alpha$ ) хитозана в 6% ВК, рассчитанная на основе потенциометрических данных, составила ~89%. Из полученных дифференциальных кривых титрования, сделали вывод что реакция протонизации хитозана протекает лишь по первой ступени диссоциации ВК [9], так как протонизация по обеим ступеням не обеспечивает переход макромолекул ХТЗ в раствор (образуется сетка из сшивок).

На следующем этапе исследовали вязкостные свойства растворов хитозана в винной кислоте методом ротационной вискозиметрии. Определили что растворам с оптимальными значениями вязкости соответствуют растворы хитозана с концентрацией 2 масс.% и выше.

На основе предыдущих исследований для получения микросфер хитозана был выбран раствор с концентрацией полимера 2 мас.% в 6% ВК. Концентрацию водного раствора триэаноламина выбирали на основе литературных данных. В основе получения микросфер лежит полимераналогичная реакция соль  $\rightarrow$  основание хитозана.

С целью определения специфических особенностей химической структуры тартрата хитозана, формирующегося при растворении полимера в винной кислоте, были сняты ИК-спектры с характерными полосами [8] в области как валентных ( $\nu$ ), так и деформационных ( $\delta$ ) колебаний, нескольких образцов: тартрата хитозана (плёнка) и микросфер хитозана. Анализ спектров подтверждает, что взаимодействие хитозана с винной кислотой идёт по одной из карбоксильных групп кислоты с передачей протона от неё на аминогруппу полимера, что приводит к образованию протонированных аминогрупп и солевой формы хитозана.

Исследования на поляризационном микроскопе показали, что при механическом диспергировании (мешалка) формируются частицы как сферической, так и искажённой формы с диаметром в микронном диапазоне, что и позволяет назвать их микросферами. Частицы, препаративно выделенные из масляной дисперсионной среды, и высушенные образцы сохраняют правильную сферическую форму, агрегации не подвергаются. При этом варьирование массового соотношения масла, раствора хитозана и ТЭА не влияет на морфологию микросфер, но отражается на их размере.

Со временем размер частиц во всех системах уменьшался на четвёртые–пятые сутки с начала эксперимента. Образовывалась большая доля микросфер малого диаметра ( $\leq 5$  мкм), из чего можно сделать вывод, что в исследуемых дисперсиях крупные микросферы, образованные в первые сутки, оказались неустойчивыми, в отличие от мелких. Видимо, они являются не монолитными частицами, а агрегатами частиц меньших размеров, на которые и распадаются во времени.

Исследование дисперсных систем показало их нестабильность и фазовое разделение дисперсионной среды типа жидкость–жидкость и жидкость–твёрдое тело. Наиболее стабильной из всех шести систем оказалась система № 1, дисперсионная среда которой не расслаивалась на протяжении трёх месяцев. Во всех остальных случаях дисперсные хитозансодержащие системы расслаивались уже через ~30 минут на два

масляных слоя (без и с небольшой долей дисперсных частиц) и слой твёрдого белого вещества. Обнаружена корреляция между стабильностью системы и размерами образующихся в ней микросфер: бóльшая доля крупных частиц образуется в более стабильной системе. Со временем доля микросфер меньшего диаметра увеличивается.

Оптимальными системами представляются системы № 1, 2 и 6, которые были выбраны для повторного получения методом ультразвукового диспергирования. Указанный метод привёл к образованию микрокапсул с морфологией, аналогичной частицам, полученным механическим методом. Ультразвуковое диспергирование по сравнению с механическим приводит к формированию тонкодисперсных систем: в первый день большинство микросфер ( $\geq 80\%$ ) имело размер менее 10 мкм. В данном случае также сохраняется тенденция сокращения доли больших частиц к пятому дню выдержки. При этом размер частиц отражается на вязкости дисперсной системы, формируется гидрогелевая структура. Выделить частицы из такой системы не представлялось возможным, поэтому ТЭА заменили этиловым спиртом.

В случае добавления этилового спирта происходит замена среды с водной на водно-спиртовую, происходит отверждение и формирование микросфер тартрата хитозана. Диапазон распределения размеров частиц был более широким, чем при применении ТЭА (полидисперсная система). Дисперсные системы, полученные с использованием триэтаноламина и этилового спирта, существенно различны. Так, использование этанола приводит к образованию менее устойчивых микрокапсул.

**По материалам работы опубликована статья в журнале из перечня ВАК:**

Khakimova, A. A. TEM use for the study of chitosan microspheres and nanospheres obtained from its salts / A.A. Khakimova, **V.V. Pominov**, T.S. Babicheva, S.L. Shmakov, A. M. Zakharevich, A.B. Shipovskaya // St. Petersburg Polytechnic University Journal. Physics and Mathematics. 2022 Vol. 15, No. 3.3

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Получены растворы тартрата хитозана, исследованы их физико-химические и реологические свойства; на основе полученных данных определена оптимальная концентрация ХТЗ в растворе винной кислоты для получения микросфер.
2. Получены хитозансодержащие системы с винной кислотой двумя методами:
  - методом механического диспергирования на основе реакции полимераналогичного превращения водорастворимой соли тартрата хитозана в водонерастворимое основание.
  - методом ультразвукового диспергирования с использованием этанола в качестве классического осадителя и ТЭА.
3. При помощи поляризационной и электронной микроскопии установлена сферическая структура полученных хитозансодержащих частиц. Размеры микросфер лежали в диапазоне 1–115 мкм, а наносфер — в диапазоне 40–380 нм.
4. Оценена кинетическая стабильность дисперсных систем с нано- и микросферами хитозана. Зафиксировано уменьшение размеров микросфер вплоть до наноразмеров на 4–5 сутки эксперимента.
5. Проведен анализ термодинамической устойчивости дисперсных хитозансодержащих систем. Установлено фазовое разделение дисперсионной среды жидкость–жидкость и жидкость–твёрдое тело.
6. Применение ультразвукового диспергирования приводит к более стабильным дисперсным системам и сужению диапазона размеров образуемых микрокапсул.
7. Выделены хитозансодержащие дисперсные системы, наиболее перспективные для дальнейшей загрузки лекарственного вещества и исследования общебиологических свойств.



## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Giotra, P. Chitosan: An emanating polymeric carrier for drug delivery / S.K. Singh, V.K. Thakur, M.K. Thakur // Handbook of Polymers for Pharmaceutical Technologies: Biodegradable Polymers. – 2015. – Т. 3. – С. 33–39.
2. Hong, S. C. Chitosan-based multifunctional platforms for local delivery of therapeutics / S.Y. Yoo, H. Kim, J. Lee // Marine Drugs. – 2017. – Т. 15, – №. 3. – С. 60.
3. Гальбрайт, Л.С. Хитин и хитозан: строение, свойства, применение // Соровский образовательный журнал. – 2001. – Т.7, № 1. – С.51–56.
4. Ravi Kumar, M.N.V. Chitosan. Chemistry and Pharmaceutical Perspectives / R. A. A. Muzzarelli, C. Muzzarelli, H. Sashiwa, A. J. Domb // Chem. Rev. – 2004. – Т. 104. – С. 6017–6084.
5. Bhise, K. S. Effect of drying methods on swelling, erosion and drug release from chitosan–naproxen sodium complexes / R. Dhumal, A. Paradkar, S. Kadam // Aaps Pharmscitech. – 2008. – Т. 9. – С. 1–12.
6. Tapia, C. Study of the release mechanism of diltiazem hydrochloride from matrices based on chitosan – alginate and chitosan – carrageenan mixtures / V. Corbalán, E. Costa, M.N. Gai, M. Yazdani-Pedram // Biomacromolecules. – 2005. – Т. 6, – №. 5. – С. 2389–2395.
7. Shavi, G. V. Sustained release optimized formulation of anastrozole –loaded chitosan microspheres: in vitro and in vivo evaluation / U. Nayak, M. Reddy, A. Karthik, P. Deshpande, A. Kumar, N. Udupa // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2011. – Т. 22. – С. 865–878.
8. Васильев, А. В. Инфракрасная спектроскопия органических и природных соединений / Е. В. Гриненко, А. О. Щукин, Т. Г. Федупина // СПб.: СПбГЛТА. – 2007. – С. 54–72.
9. Зеленина, Т. Е. Термохимическое исследование протолитических равновесий в водных растворах винной кислоты/ О.Ю. Зеленин, В.П. Васильев, В.В. Черников //Журнал физической химии. – 2003. – Т. 77, – №. 1. – С. 36–36.