

- affinity of humic substances for polycyclic aromatic hydrocarbons: relevance of molecular descriptors / N. Yu. Grechishcheva, V. S. Petrosyan // *Environ. Sci. Technol.* – 1999. – № 33. – P. 3781–3787.
10. Perminova I. V. Development of a predictive model for calculation of molecular weight of humic substances. / I. V. Perminova, F. H. Frimmel, D. V. Kovalevskii, G. Abbt-Braun, A. V. Kudryavtsev // *Water Research.* – 1998. – № 32. – P. 872–881.
  11. Відкрита база даних спектральних характеристик речовин. – Режим доступу: <http://www.science-and-fun.de/tools/>. – Назва з екрана.
  12. Болдог Й. Й. Методичні вказівки до лабораторних робіт з курсу «Поверхневі явища та дисперсійні системи» / Й. Й. Болдог, О. В. Чвірук. – К.: НТУУ «КПІ», 2000. – 56 с.
  13. Ghabbour E. A. Humic Substances: Molecular Details and Applications in Land and Water Conservation / E. A. Ghabbour, G. Davies – New York: Taylor & Francis, 2005. – 348 p.
  14. Bolto B. Removal of natural organic matter by ion exchange / B. Bolto, D. Dixon, R. Eldridge, S. King, K. Linge // *Water Research.* – 2002. – № 36. – P. 5057–5065.
  15. Comell R. M. The iron oxides- structure, properties, reactions, occurrence / R. M. Comell, U. Schwertmann. – VCH-Germany and USA, 1996. – 700 p.
  16. Tufekci N. Catalytic effect of high Fe(III) concentration on Fe(II) oxidation. / N. Tufekci, H. Z. Sarikaya // *Water Science and Technology.* – 1996. – № 34. – P. 389–396.

Z. Maletskyi, T. Mitchenko

### ABOUT THE MECHANISM OF PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES TRANSFORMATION OF ANION EXCHANGE RESINS IMPREGNATED WITH HUMIC SUBSTANCES

*The article is devoted to investigation of interaction between anion exchange resins and natural organic matter – humic substances. This interaction takes place in industrial water demineralization processes. In our previous works it was shown that anion exchange resins containing humic substances get higher sorption ability aimed to dissolved iron compounds. In current work changes in physico-chemical properties of anion exchange resins impregnated with humic substances in laboratory conditions have been studied. It is demonstrated that hydrophilicity is one of the major factors affecting sorption ability of anion exchange resins to retain iron impurities from groundwater.*

**Keywords:** anion exchange resins, humic compounds, iron impurities.

УДК 544.777

Чабан М. О., Давідовіч І. С., Антонюк Н. Г., Білько Д. І., Бурбан А. Ф.

### ОДЕРЖАННЯ рН-ЧУТЛИВИХ АЛЬГІНАТ-АГАРОВИХ МІКРОКАПСУЛ ДЛЯ КОНТРОЛЬОВАНОГО ВИВІЛЬНЕННЯ БІЛКОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

*Одержано альгінат-агарові мікрокапсули мікроемульсійним та методом екструзії для пероральної доставки білкових лікарських засобів. Досліджено вплив вмісту агару на розмір, набрякання та кінетику вивільнення бичачого альбуміну сироватки. Проаналізовано відповідність одержаних мікрокапсул вимогам до систем контрольованого вивільнення лікарських засобів.*

**Ключові слова:** рН-чутливі мікрокапсули, мікроемульсійний метод, метод екструзії.

#### Вступ

Для прийому ліків пероральний шлях вважається найбільш зручним, але непридатним для білкових препаратів, оскільки вони швидко руйнуються під дією кислотного середовища шлунка та ензимів тонкого кишечника. На сьогоднішній день розроблені способи подолання цих проблем за допомогою капсулювання препаратів. Крім звичайних капсул, які просто запобігають контакту препарату із зовнішнім середовищем до повного розчинення капсули, розробляються системи адресної доставки ліків на

нішній день розроблені способи подолання цих проблем за допомогою капсулювання препаратів. Крім звичайних капсул, які просто запобігають контакту препарату із зовнішнім середовищем до повного розчинення капсули, розробляються системи адресної доставки ліків на

основі термо- та рН-чутливих гідрогелів [1]. На жаль, кількість полімерів, які можна застосувати для контрольованого вивільнення ліків, обмежена через їхню токсичність, відсутність здатності набрякати в певних умовах, неможливість біодеструкції. Отже, метою роботи було отримати рН-чутливі мікрокапсули для контрольованого вивільнення модельного препарату бичачої сироватки альбуміну та дослідити властивості отриманих мікрокапсул. Серед полімерів, які застосовуються для мікрокапсулювання, широко розповсюджені природні полімери, оскільки вони є біосумісними та здатними до біодеструкції, а також вони самі та продукти їхнього розпаду не викликають додаткових побічних ефектів. Багато оболонки для мікрокапсул створено на основі альгінату натрію, завдяки його властивості переходити в гелеву форму при взаємодії з двовалентними катіонами кальцію та барію, у поєднанні з іншими природними та синтетичними полімерами [2]. У праці розглянуто мікрокапсули на основі альгінату натрію та агару. Завдяки різним ступеням набрякання цих полімерів в кислому і лужному середовищах, змінюючи співвідношення компонентів суміші, можна створити мікрокапсули з різною поведінкою в таких середовищах, які забезпечать пролонговане вивільнення модельного препарату бичачої сироватки альбуміну та адресну доставку гастролабільних ліків до кишечника.

### Матеріали і методи досліджень

Були використані натрій альгінат (Fluka, Японія), агар-агар (Китай), бичачої сироватки альбумін (Sigma Aldrich, США),  $\text{CaCl}_2$  (Міранда, Україна), нейоногенна ПАР Tween 80 (Sigma Aldrich, США), рослинна олія.

*Отримання мікрокапсул методом екструзії.* Мікрокапсули були сформовані за допомогою екструзії формувальної суміші через шприц діаметром 0,1 мм. Готували формувальні розчини альгінат-агар у співвідношеннях 1:0; 7:1; 3:1; 2,2:1. Спершу розчиняли агар, потім до утвореного розчину додавали необхідну кількість альгінату, суміш перемішували при нагріванні до повного розчинення. Після утворення гомогенного розчину в охолоджену до 37 °С суміш додавали бичачої сироватки альбумін концентрацією 0,2 %. Утворену суміш екструзією через шприц по краплям переносили в 0,5 М розчин  $\text{CaCl}_2$ , витримували протягом години і відділяли фільтрацією. Промиті водою капсули висушували на повітрі за кімнатної температури.

*Отримання мікрокапсул мікроемulsionним методом.* Розчин суміші натрію альгінату та агару (1:0; 7:1; 3:1; 2,2:1) додавали краплями до суміші 160 мл олії та нейоногенної поверхнево-

активної речовини Tween-80 (1 г та 2 г). Перемішування проводили на механічній мішалці протягом 10 хв на частоті 1200 об/хв. Додавали 30 мл 0,5 М розчину хлориду кальцію, продовжуючи перемішування. Відстоюювали 60 хв для затвердіння мікрокапсул, промивали дистильованою водою та етиловим спиртом, відфільтровували на ультрафільтраційній комірці непроточного типу Amicon 8200 (Milipore, США) під тиском 3 атм.

*Визначення розмірів мікрокапсул.* Визначення розміру мікрокапсул, отриманих емульсійним методом, проводили за допомогою світлового мікроскопа MBL 2000. Невелику кількість сухих мікрокапсул суспендували у дистильованій воді (10 мл) за допомогою ультразвуку. Краплину одержаної суспензії поміщали на предметне скло, зафарбовували розчином фуксину. Визначали розмір 300 мікрокапсул при збільшенні 4800. Розміри капсул, отриманих методом екструзії, визначались вимірюванням на міліметровому папері при незначному збільшенні. Розрахунки середнього значення та розподілу за розмірами проводили за допомогою програми Microsoft Excel. Індекс однорідності ( $UI$ ) визначали за формулою [3]:

$$UI = D_w / D_n, \quad (1)$$

де  $D_w$  – середньомасовий діаметр мікрокапсул;  $D_n$  – середньочисловий діаметр мікрокапсул, які розраховували таким чином:

$$D_w = \sum N_i D_i^4 / \sum N_i D_i^3 \quad (2)$$

та

$$D_n = \sum N_i D_i / \sum N_i, \quad (3)$$

де  $N_i$  – кількість мікрокапсул з діаметром  $D_i$ .

*Дослідження набрякання мікрокапсул.* Набрякання мікрокапсул досліджували так: висушені зразки мікрокапсул занурювали у 5 мл розчину з рН 1,2 та 7,4 на 6 год. Кожні 30 хв зразки капсул виймали з розчину, промокали фільтрувальним папером для поглинання залишкової води з поверхні, і зважували. Ступінь набрякання розраховували за формулою [4]:

$$Q_s = \frac{W_n - W_c}{W_c}, \quad (4)$$

де  $Q_s$  – ступінь набрякання,  $W_n$  – маса набряклої мікрокапсули,  $W_c$  – маса сухої мікрокапсули.

*Кінетика вивільнення білкового лікарського засобу.* Для вивчення вивільнення модельного білка висушені мікрокапсули занурювали у розчини з рН 1,2 та 7,4. Через визначений відрізок часу відбирали проби і аналізували методом УФ-спектроскопії на вміст білка.

*Розрахунок ефективності капсулювання.* Кількість закапсульованого білка (ефективність капсулювання) визначали за відношенням практич-

ного вмісту білка в капсулах ( $C_{actual}$ ) до теоретичного ( $C_{theoretical}$ ) [5]:

$$E = \frac{C_{actual}}{C_{theoretical}}. \quad (5)$$

Дослідження біосумісності мікрокапсул методами культури клітин *in vitro*. Біосумісність досліджувалась в експериментах із сумісним культивуванням компонентів мікрокапсул для визначення гострої токсичності на клітинній лінії СПЕВ (ендотелій нирки ембріону свині) та на раковій лінії аденокарциноми легені людини А-549.

### Результати та обговорення

Розподіл за розмірами одержаних мікрокапсул. Розмір мікрокапсул є однією з основних характеристик, які визначають швидкість вивільнення лікарських засобів. Аналізуючи розподіл за розміром мікрокапсул, отриманих методом екструзії (табл. 1), видно, що зі збільшенням вмісту агару збільшується середній розмір мікрокапсул, що можна пояснити зростанням в'язкості суміші полімерів. Однак введення агару не впливає на ширину розподілу. Відповідно до класифікації, мікрокапсули зі значенням індексу однорідності у межах 1,1–1,2 відносять до майже монодисперсних частинок, що узгоджується з вимогами до систем контрольованої доставки лікарських засобів.

Таблиця 1. Характеристики альгінат-агарових мікрокапсул, одержаних методом екструзії, мкм

Співвідношення альгінат:агар	Середній діаметр	Мінімальний діаметр	Максимальний діаметр	Індекс однорідності
2,2:1	975,6	500	1400	1,16
3:1	937,8	500	1500	1,15
7:1	908	500	1500	1,17
1:0	906,8	500	1500	1,23

При одержанні мікрокапсул мікроемальсійним методом для варіювання розміру мікрокапсул змінювали кількість стабілізатора емульсій

Таблиця 2. Характеристики альгінат-агарових мікрокапсул, одержаних мікроемальсійним методом

Співвідношення альгінат:агар	Вміст ПАР, г	Середній діаметр, мкм	Мінімальний діаметр, мкм	Максимальний діаметр, мкм	Індекс однорідності
2,2:1	1	43,0	11,7	118,3	1,7
	2	33,3	4,2	89,2	2,2
3:1	1	38,8	11,1	103,3	2,4
	2	29,2	4,7	76,7	1,7
7:1	1	32,9	10,0	74,2	1,4
	2	21,7	5,8	58,3	1,9
1:0	1	30,5	7,8	54,7	1,5
	2	20,8	6,3	53,3	1,3

Tween-80 (табл. 2). При збільшенні кількості ПАР удвічі спостерігається збільшення середнього розміру. Для мікрокапсул, одержаних таким методом, також спостерігається збільшення розмірів при збільшенні вмісту агару. За значеннями індексу однорідності, ці мікрокапсули мають широкий розподіл за розмірами, що у деяких випадках ( $UI > 2$ ) не відповідає вищезазначеним вимогам.

Порівнюючи розміри мікрокапсул, одержаних різними методами, видно, що метод екструзії дозволяє отримувати мікрокапсули більші за розмірами, однак однорідніші. Як вже було зазначено, від розміру капсули (площі її контакту з середовищем) залежить швидкість вивільнення ліків, отже, можна передбачити, що для мікрокапсул, отриманих мікроемальсійним методом, швидкість вивільнення буде вищою.

Ефективність капсулювання. Оскільки процес телеутворення в розчині хлориду кальцію достатньо тривалий, протягом цього часу відбувається часткове вимивання БСА у розчин хлориду кальцію, при цьому вміст білка в утворених мікрокапсулах зменшується відносно теоретичного. Після вимірювання кількості БСА, що перейшов у розчин хлориду кальцію, розраховували ефективність капсулювання (табл. 3).

З одержаних результатів можна зробити висновки, що при збільшенні вмісту агару у формульованому розчині ефективність капсулювання зростає, що зменшує втрати лікарського засобу. Це можна пояснити зростанням в'язкості розчину, а також низьким ступенем набрякання мікрокапсул (див. рис. 2, де співвідношення альгінат:агар становить 2,2:1)

Набрякання мікрокапсул. Основною характеристикою одержаних мікрокапсул є ступінь їх набрякання та його залежність від рН-середовища. Отримані результати (рис. 1) при рН 1,2 та (рис. 2) при рН 7,4 свідчать, що порівняно зі слабколужним середовищем ступінь набрякання в кислому середовищі є незначним. Крім цього, варто зауважити, що в кислому середовищі ступінь набрякання мікрокапсул зростає вдвічі зі зростанням вмісту агару, а в слабколужному – навпаки, зі зростанням вмісту альгінату збіль-

Таблиця 3. Ефективність капсулювання

Співвідношення альгінат:агар	Ефективність капсулювання, %
2,2:1	65,9
3:1	64,8
7:1	49,3
1:0	39

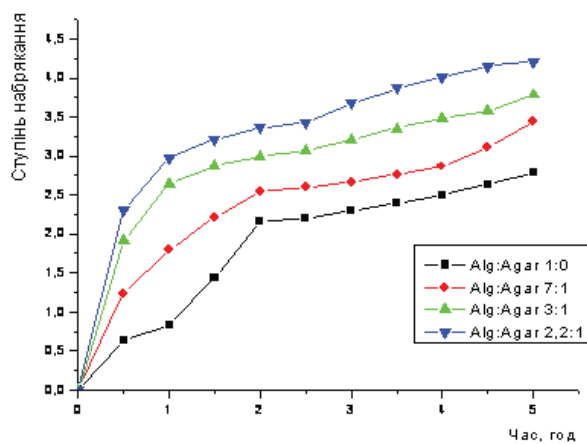


Рис. 1. Кінетика набрякання мікрокапсул з різним вмістом агару при рН 1,2 (моделльне середовище шлунка)

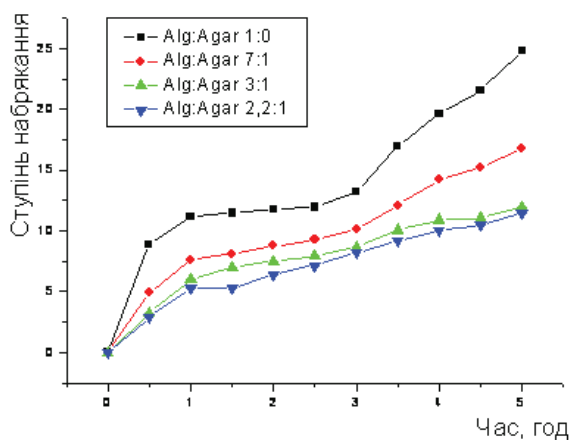


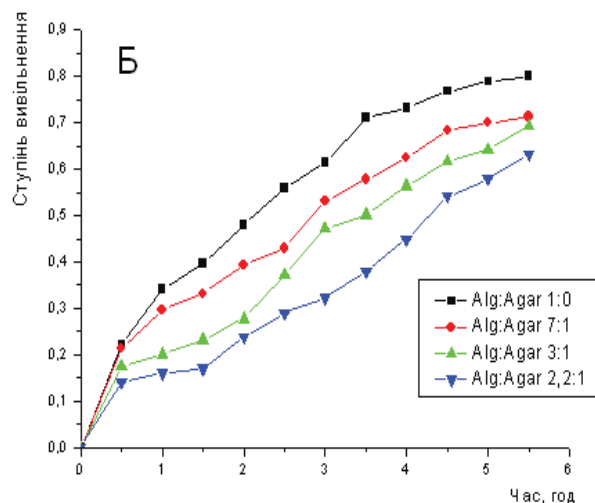
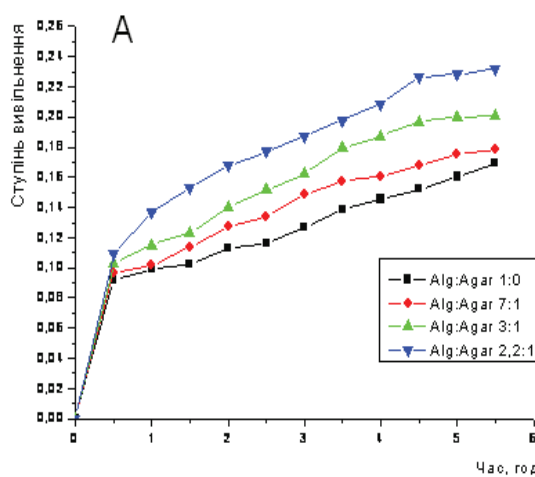
Рис. 2. Кінетика набрякання мікрокапсул з різним вмістом агару при рН 7,4 (моделльне середовище кишечника)

шується в 10 разів. Отже, для створення систем контрольованого вивільненні потрібно вибирати оптимальне співвідношення альгінат-агар для забезпечення захисту білкових засобів у шлунка та для запобігання стрімкого вивільнення їх у кишечникаку.

Таким чином, дослідивши кінетику набрякання одержаних мікрокапсул при різних значення рН-середовища, можна попередньо зробити висновок, що рН-чутливість також спостерігатиметься при вивільненні білкового засобу.

Вивільнення модельного білкового лікарського засобу. Для вивчення кінетики вивільнення

було вибрано бичачої сироватки альбумін як модельний білковий засіб. Дослідивши кінетику вивільнення БСА з мікрокапсул, одержаних методом екструзії (рис. 3) та мікроемульсійним методом (рис. 4), спостерігаємо кореляцію залежностей з даними кінетики набрякання мікрокапсул: при збільшенні вмісту агару в середовищі кишечника вивільнення лікарського засобу сповільнюється. Однак у кислому середовищі ступінь вивільнення білка суттєво збільшується з додаванням агару до формувальної суміші, що не сприяє захисту білкових засобів у шлунка. Отже, введення агару у співвідношенні більше за 3:1 є недоцільним. Стосовно мікрокапсул, одержаних мікроемульсійним методом, спостерігаємо 100 % вивільнення білка у середовищі кишечникаку за 2 год, що відповідає вимогам до



лікарських засобів для перорального введення. У випадку мікрокапсул, одержаних методом екструзії, вивільнення 90 % білка відбувається протягом 6 год. Це призводить до неефективного використання лікарського засобу, оскільки його вивільнення відбуватиметься у товстому кишечникаку, де білки не засвоюються.

Основною вимогою до систем контрольованого вивільнення лікарських засобів є нульовий

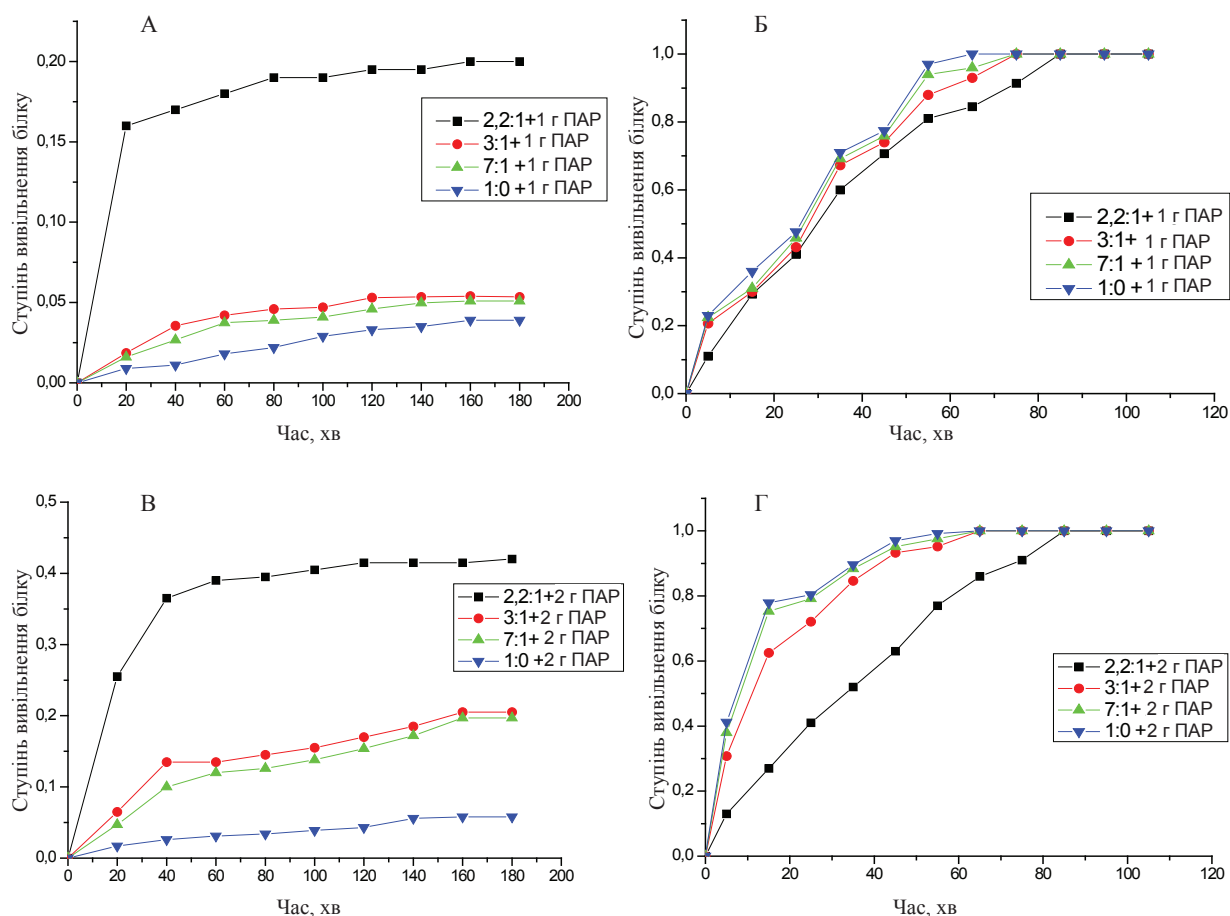


Рис. 4. Вивільнення БСА з мікрокапсул, отриманих мікроемulsionним методом з різним вмістом ПАА, при рН 1,2 (А і В) та рН 7,4 (Б і Г)

порядок реакції вивільнення, тобто концентрація ліків повинна зростати з часом лінійно. Для дослідження відповідності кінетики вивільнення БСА до нульового порядку було проведено кореляційний аналіз, результати якого наведені в табл. 4.

Одержані результати свідчать про те, що кінетика вивільнення БСА з одержаних мікрокапсул відповідає нульовому порядку реакції, особливо у слабколужному середовищі.

Для оцінки біосумісності матеріалу мікрокапсул на соматичні клітини різного походження було проведено 10 серій експериментів, що свідчили про високі показники виживання культивованих клітин (95–98%) та значний проліферативний потенціал.

Таблиця 4. Коефіцієнти лінійної кореляції

Співвідношення альгінат:агар	Метод екструзії		Мікроемulsionний метод			
			1 г ПАА		2 г ПАА	
	рН 1,2	рН 7,4	рН 1,2	рН 7,4	рН 1,2	рН 7,4
2,2:1	0,7887	0,9195	0,8734	0,9748	0,5987	0,9867
3:1	0,7807	0,9433	0,7736	0,9136	0,8828	0,8770
7:1	0,8100	0,9764	0,7621	0,9624	0,9495	0,8308
1:0	0,7970	0,9809	0,8929	0,9589	0,9164	0,9816

ваних клітин (95–98%) та значний проліферативний потенціал.

### Висновки

Отже, одержано мікрокапсули різних розмірів мікроемulsionним та методом екструзії. На прикладі модельного препарату БСА було досліджено кінетику вивільнення за різних значень рН. Важливо зауважити, що для проєкціювання цих даних на інші препарати необхідно враховувати особливості кожної сполуки, наприклад, молекулярну масу, стеричні перешкоди, взаємодію з матеріалом оболонки тощо. Додавання агару до альгінатних мікрокапсул, хоч і підвищує



відсоток втрат препарату в кислому середовищі шлунка, де кислоточутливий препарат швидко зруйнується і не матиме жодної терапевтичної дії, але в той же час збільшує тривалість вивільнення ліків у кишечнику, що знижує пікові концентрації в крові, зменшуючи таким чином побічні ефекти, які виникають при швидкому набряканні капсули й активному вивільненні

препарату. На основі проведених досліджень доведено, що одержані мікрокапсули на основі суміші природних полімерів натрію альгінату та агару є рН-чутливими і можуть використовуватися для контрольованого вивільнення білкових засобів. Отримані мікрокапсули, за результатами проведених досліджень, біосумісні.

1. Meng X. pH sensitive alginate-chitosan hydrogel beads for carvedilol delivery / X. Meng, P. Li, Q. Wei, H.-X. Zhang // Pharmaceutical Development and Technology. – 2009. – P. 1–7.
2. George M. pH sensitive alginate-guar gum hydrogel for the controlled delivery of protein drugs / M. George, T. E. Abraham // International Journal of Pharmaceutics. – 2007. – V. 335. – P. 123–129.
3. Dubey R. R. Two-Stage Optimization Process for Formulation of Chitosan Microspheres / R. R. Dubey, R. H. Parikh // AAPS PharmSciTech. – 2004. – V. 5. – P. 1–9.
4. Gaucher G. Polymeric micelles for oral drug delivery / G. Gaucher, P. Satturwar, M.-Ch. Jones, A. Furtos, J.-Ch. Leroux // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2010. – V. 76. – P. 147–158.
5. Orive G. Biocompatibility of microcapsules for cell immobilization elaborated with different type of alginates / G. Orive, S. Ponce, R. M. Hernandez et al. // Biomaterials. – 2002. – V. 23. – P. 3825–3831.

M. Chaban, I. Davidovich, N. Antoniuk, D. Bilko, A. Burban

## PREPARATION OF PH-SENSITIVE ALGINATE-AGAR MICROCAPSULES FOR CONTROLLED RELEASE OF PROTEIN DRUGS

*Agar-alginate microcapsules for oral delivery of protein drugs were obtained via emulsification and extrusion methods. The effect of the ratio of agar to alginate on the size, swelling and release kinetics of bovine serum albumin was investigated. Microcapsules conformity to requirements for the controlled drugs release systems was analyzed.*

**Keywords:** pH-sensitive microcapsules, emulsification and extrusion methods.

УДК 541.18.045

Гузикевич К. Є., Коновалова В. В., Бурбан А. Ф.

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ІММОБІЛІЗОВАНОЇ $\alpha$ -АМІЛАЗИ НА ТРАНСПОРТНІ ТА БІОКАТАЛІТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ УЛЬТРАФІЛЬТРАЦІЙНИХ МЕМБРАН

*Досліджено вплив іммобілізації  $\alpha$ -амілази на промислових поліетерсульфонових мембранах на їхні транспортні характеристики. Іммобілізацію проведено методом “layer by layer” (LBL) із нанесенням поліелектролітних шарів [PSS/ $\alpha$ -амілаза]<sub>n</sub>. Вивчено концентраційні явища при ультрафільтрації розчину крохмалю різних концентрацій крізь мембрани з іммобілізованою  $\alpha$ -амілазою. Встановлено, що використання мембрани з іммобілізованим ферментом призводить до зростання коефіцієнта масопереносу вдвічі, а швидкість конвективного потоку пермеату порівняно з немодифікованою мембраною збільшується від 15 до 30 %.*

**Ключові слова:** метод “layer by layer”,  $\alpha$ -амілаза, гідроліз крохмалю, концентраційна поляризація.

### Вступ

Гідроліз розчиненого крохмалю з використанням мембранних технологій є відносно новим підходом до його переробки. Традиційна технологія гідролізу крохмалю характеризується

значними витратами ферменту та низькою продуктивністю через значну тривалість процесу (24–48 год) і великі реакційні об'єми. Альтернативою традиційним реакторам періодичної дії є безперервні ультрафільтраційні мембранні