

МЕТОДИКА ОТРИМАННЯ ГІДРОГЕЛІВ БІОМЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ НА ОСНОВІ ХІТОЗАНУ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХНІХ ВЛАСТИВОСТЕЙ

Розроблено методику отримання нерозчинних у воді гідрогелів на основі хітозану з різною молекулярною масою. Встановлено оптимальні умови отримання гідрогелів. Досліджено кінетику вивільнення налідіксової кислоти та триметазидину з гідрогелів і визначено їх коефіцієнти дифузії в плівках. Показано перспективність використання гідрогелів для пролонгування та капсулювання лікарських препаратів

Ключові слова: гідрогелі, хітозан, налідиксова кислота, триметазидин.

Вступ

Сьогодні у світі зростає зацікавленість спеціалістів до препаратів на основі хітозану та можливості їх використання у різноманітних галузях медицини. Це пов'язано з біологічними властивостями цього біополімеру, які дозволяють віднести його до парафармацевтиків – природних речовин з яскраво вираженою фармакологічною активністю [1–3]. Завдяки хімічній лабільності хітозану в результаті нескладних технологічних процесів можна отримувати гомологи і аналоги з різними варіантами фізико-хімічних і біологічних властивостей [4]. Сумісність таких сполук із біосистемами, здатність до біодеструкції в організмі з утворенням безпечних низькомолекулярних сполук гарантує перспективність їх практичного використання [5–6]. Встановлена антибактеріальна, противірусна і протизапальна активність хітозану та різноманітних композицій на його основі за відсутності токсичної дії на організм. Також доведена імуностимулювальна, ад'ювантна, адаптогенна, гемостатична і холестрична дія хітозану [7]. Похідні хітину додають у фармакологічні препарати з метою регулювання вивільнення лікарських речовин і створення препаратів пролонгованої дії. Адаптація капсулювання ліків водорозчинними полімерами призводить до неконтрольованого вивільнення речовини після їхнього розчинення, а також проблем з виведенням полімеру або продуктів його метаболізму з організму людини. Завдяки здатності до плівко- і гелеутворення хітозан може сорбувати і утримувати біомедичні препарати протягом кількох годин, забезпечуючи постійну концентрацію ліків у крові й уникаючи пошкодження слизової оболонки шлунка такими препаратами, як аспірин, індометацин, пілокарпіннітрат та ін. [8].

Метою роботи є розробка методики отримання гідрогелів на основі низько- і високомолекулярного хітозану та дослідження кінетики вивільнення з них лікарських препаратів різної хімічної природи.

Матеріали і методи

Для формування гідрогелів використовували 2,5 % (мас.) оцтовокислі розчини хітозану з молекулярними масами 150, 400 і 750 кДа та ступенем деацетилювання 75 % (Fluka). З розчинів хітозану формували плівки методом їх поливу на поліпропіленову форму з наступним випаровуванням розчинника. Отримані зразки висушували в термостаті при температурі 30 °С протягом доби. Всі гідрогелеві зразки були однорідними з товщиною плівок 0,24 мм. Зшивання гідрогелів проводили еквімолярним розчином епіхлоргідрину (ЕХГ) з NaOH протягом 5, 10, 12, 15 хв. Після зшивання гідрогелі промивали дистильованою водою протягом 15 хв та висушували протягом доби у термостаті при температурі 37,5 °С.

Ступінь набрякання хітозанових гідрогелів визначали гравіметричним методом, фіксуючи приріст маси зразка при набряканні у розчині за різних значень рН. Для приготування розчинів із відповідним значенням рН використовували 0,1 М HCl і 0,1 М NaOH. Ступінь набрякання визначали за формулою:

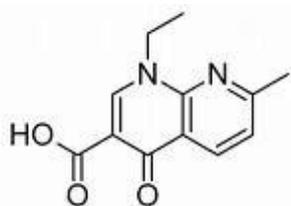
$$\alpha = (m - m_0)/m_0,$$

де m_0 – маса зразка до набрякання, мг; m – маса набряклого зразка, мг.

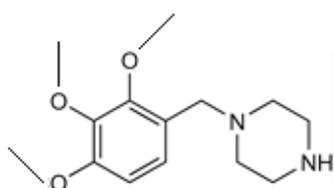
Для дослідження пролонгувальної дії хітозанових гідрогелів були обрані лікарські препарати, що мають різну хімічну природу, а саме:

– налідиксова кислота (НК) – синтетичний антибіотик класу хінолонів, застосовується при

піелонефриті, циститі, холециститі, інфекції кишково-шлункового тракту [9] (Sigma, США);



– триметазидин гідрохлорид (ТГ) – антиангінальний лікарський препарат, застосовується при ішемічній хворобі серця, стенокардії, хоріоретинальних судинних порушеннях, запамороченні судинного характеру [10] (ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна).



Кінетики вивільнення НК і ТГ із хітозанових гідрогелів вивчали залежно від рН робочого розчину. Для цього проводили статичну сорбцію НК та ТГ на гідрогелях масою 0,5 г із їхніх розчинів (0,1 мг/мл) протягом доби. Набряклі зразки переносили у фізіологічний розчин з рН 2,5; 5,5 і 8,5 та вимірювали концентрацію препаратів у розчині через певні проміжки часу.

Вимірювання коефіцієнта проникності мембрани за низькомолекулярними сполуками проводили в дифузійній комірці з перемішуванням, яка складається з двох камер об'ємом 70 см³, вертикально розділених мембраною, ефективна площа останньої становить 5 см². Одне з відділень (V₁) наповнювали досліджувальним розчином, інше (V₂) – ізотонічним розчином. Досліджувана речовина дифундує з V₁ у V₂ за рахунок різниці концентрацій. Для уникнення концентраційної поляризації розчини в обох камерах комірочки перемішували магнітною мішалкою. Коефіцієнт проникності визначали за формулою:

$$J_s = \frac{P \cdot \Delta C}{l},$$

де J_s – потік розчиненої речовини крізь мембрану [моль/(см²·хв)];

P – коефіцієнт проникності розчиненої речовини [см²/хв];

ΔC – різниці концентрацій розчиненої речовини по обидва боки мембрани [моль/см³];

l – товщина мембрани [см].

Концентрацію НК та Т визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі СФ-46 при довжинах хвиль 290 нм та 260 нм, відповідно.

Експериментальна частина

Однією з головних характеристик гідрогелю є густина його зшивання. Тому основним етапом відпрацювання методики формування гідрогелів було встановлення оптимальних умов їх зшивання з метою отримання хітозанових плівок, що мають обмежене набряканням в широкому діапазоні значень рН. Для визначення оптимальної концентрації зшивального агента проведено дослідження впливу його концентрації на ступінь набрякання гідрогелів, що визначається густиною зшивок полімеру (див. рис. 1).

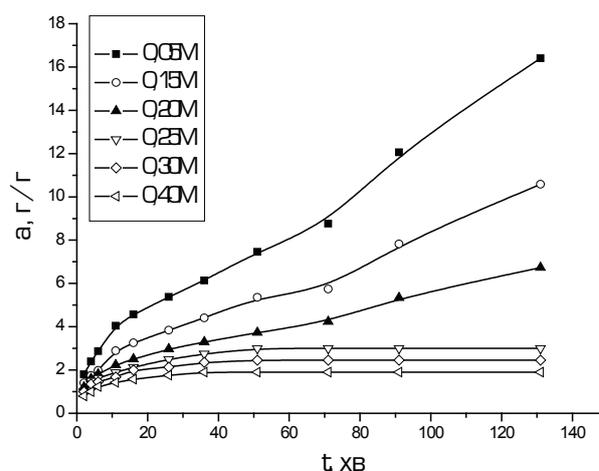


Рис. 1. Кінетика набрякання хітозанових гідрогелів залежно від концентрації зшиваючого агента ЕХГ. ММ хітозану 400 кДа, час зшивання 10 хв

Як видно з рис. 1, при використанні ЕХГ з концентраціями 0,2М та нижче спостерігається розчинення гідрогелів, що, ймовірно, викликане значною кількістю незв'язаних аміногруп у структурі хітозану. При подальшому збільшенні концентрації зшивального агента утворюються гідрогелі з обмеженим набряканням. Оптимальна концентрація ЕХГ становить 0,25М, оскільки тоді досягається найвищий ступінь набрякання для нерозчинних у воді хітозанових гідрогелів.

Також важливим параметром, що визначає характер набрякання гідрогелів, є час зшивання. З експериментальних кривих на рис. 2 можна зробити висновок, що вплив тривалості зшивання гідрогелю на ступінь його набрякання залежить від початкової молекулярної маси хітозану. Так, у зразків на основі низькомолекулярного хітозану (ММ 150 кДа) при збільшенні часу зшивання зменшується здатність до набрякання через зменшення кількості вільних аміногруп і ділянок лабільності макромолекули. Проте при збільшенні молекулярної маси різниця між тривалістю зшивання і ступенем набрякання зменшується, оскільки окрім хімічного зшивання

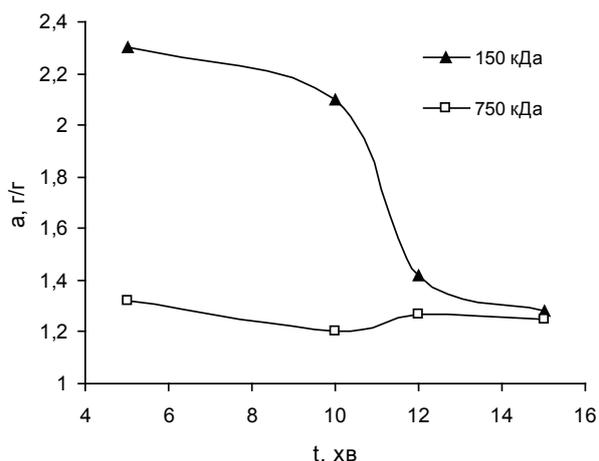


Рис. 2. Залежність ступеня набрякання гідрогелів від тривалості зшивання для хітозану з різними молекулярними масами

структуру гідрогелів додатково стабілізує значна кількість водневих зв'язків.

Оскільки хітозан є полікатіонітом, ступінь його набрякання залежатиме від величини рН середовища. Експериментально встановлено, що зі збільшенням рН середовища максимальний ступінь набрякання зменшується. Адже в кислому середовищі аміногрупи хітозану протонуються і макромолекули за рахунок електростатичного відштовхування їх однойменно заряджених сегментів розкручуються, тоді як при переході до лужного середовища відбувається ущільнення структури хітозану. Як видно з рис. 3, при збільшенні молекулярної маси хітозану зростає ступінь набрякання гідрогелів у широкому діапазоні значень рН, що пояснюється утворенням менш щільної зшивки при використанні однакової кількості ЕХГ. Як результат: вільний об'єм гідрогелів, отриманих на основі хітозану з вищою молекулярною масою, більший.

Проаналізувавши вплив молекулярної маси вихідного хітозану і часу зшивання гідрогелів на

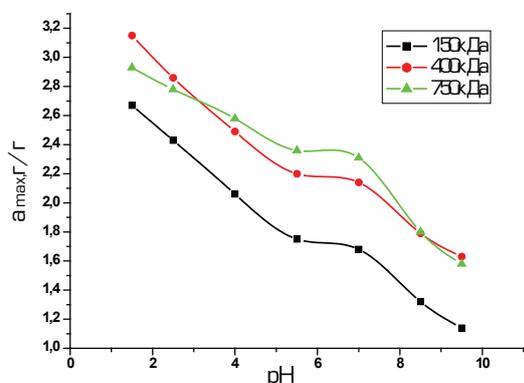


Рис. 3. Залежність ступеня набрякання хітозанового гідрогелю від рН та молекулярної маси хітозану ($\Delta t_{\text{зш}} = 12$ хв)

їхню здатність до набрякання, оптимальними умовами отримання гідрогелів, що характеризуються максимальним ступенем набрякання у діапазоні рН від 2,5 до 9,5, є такі: тривалість зшивання 12 хв, концентрація ЕХГ – 0,25М, молекулярна маса хітозану – 400 та 750 кДа.

Для дослідження пролонгуючої дії хітозанових гідрогелів використовували налідиксову кислоту та триметазидин гідрохлорид, оскільки механізми сорбції цих препаратів будуть різними. Так, у випадку налідиксової кислоти, ймовірно, переважатиме хемосорбція завдяки взаємодії карбоксильних груп останньої з аміногрупами хітозану, в той час як триметазидин буде зв'язуватися із хітозановими гідрогелями лише за рахунок фізичної сорбції. Як видно з даних, наведених у табл. 1, зроблене вище припущення правильне. Сорбційна ємність гідрогелів за НК є вищою і досягає максимуму 14,6 мг/г полімеру при рН 2,5 для гідрогелів з ММ хітозану 750 кДа. Сорбція НК гідрогелями, отриманими з більш високомолекулярного хітозану, збільшується в середньому на 15 % порівняно з хітозаном меншої молекулярної маси. Сорбційна ємність гідрогелів щодо ТГ майже не залежить від молекулярної маси хітозану. Зменшення сорбційної ємності за НК хітозановими гідрогелями при збільшенні значень рН середовища є ще одним підтвердженням хімічної природи сорбції НК, адже саме в лужному середовищі відбувається руйнування сольових місточків між молекулами НК та матрицею хітозанового гідрогелю.

Таблиця 1. Сорбційна ємність хітозанових гідрогелів (мг/г) щодо лікарських препаратів НК і ТГ при різних рН

рН	НК		ТГ	
	ММ 400 кДа	ММ 750 кДа	ММ 400 кДа	ММ 750 кДа
2,5	12,8	14,6	8,1	8,8
5,5	10,4	12,2	7,4	7,8
8,5	7,2	9,8	6,8	7

Як видно з рис. 4, швидкість вивільнення лікарських препаратів з хітозанових гелів є близькою і майже не залежить від рН середовища. Також встановлено, що 100 % вивільнення як НК, так і ТГ з гідрогелів спостерігається через 150 хв, що є достатнім для пролонгованої дії препаратів.

Хітозанові гідрогелі можуть бути перспективними і як капсулюючі препарати. Для визначення коефіцієнта дифузії лікарських препаратів крізь гідрогелі півки проводили діаліз НК та ТГ крізь хітозанові півки при різних значеннях рН. Отримані значення коефіцієнта дифузії НК та ТГ для хітозанових гідрогелів лежать в ме-

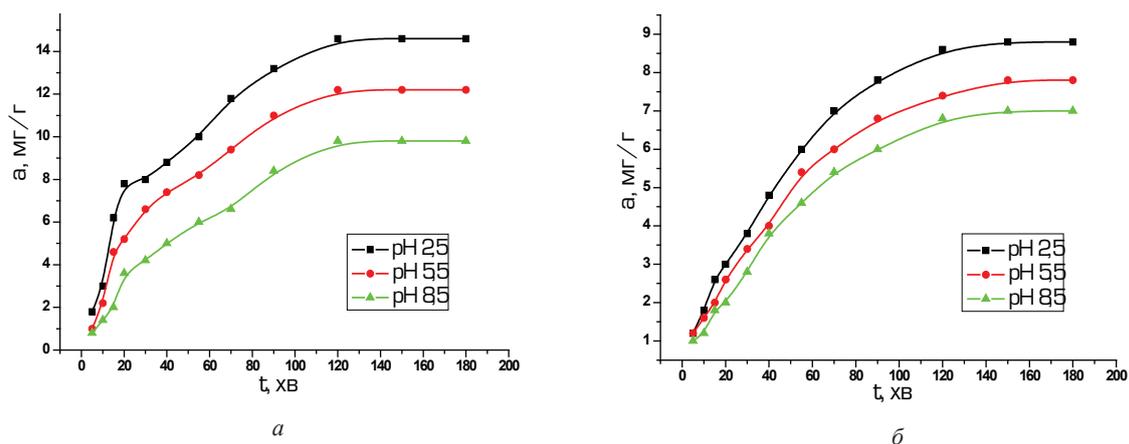


Рис. 4. Кінетика вивільнення НК (а) та ТГ (б) з хітозанового гідрогелю (ММ хітозану 750 кДа, $\Delta t_{\text{зш}} = 12$ хв) при різних рН середовища

жах $1,5 \cdot 10^{-7} \div 3,0 \cdot 10^{-7}$ cm^2/s . Також встановлена залежність між молекулярною масою і коефіцієнтом дифузії НК крізь хітозанові гідрогелі, а саме, при збільшенні молекулярної маси хітозану за рахунок зростання ступеня набрякання значення коефіцієнта дифузії збільшується на 30–40 %. Зростання ж значень рН середовища навпаки зменшує дифузію лікарського препарату за рахунок ущільнення структури гідрогелю

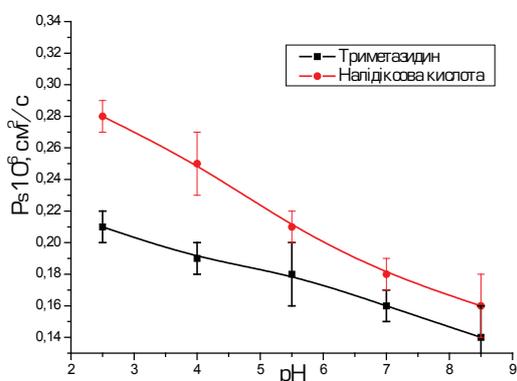


Рис. 5. Залежність коефіцієнта дифузії фармацевтичних препаратів від рН середовища для хітозанових гідрогелів (ММ 400 кДа)

(рис. 5). Коефіцієнт дифузії для налідіксової кислоти більше, ніж для триметазидину та становить при рН 2,5 – $0,28 \pm 0,01$ та $0,21 \pm 0,01 \cdot 10^{-6}$ cm^2/s ,

відповідно. Очевидно, транспортування негативно зарядженої молекули антибіотика крізь позитивно заряджену плівку полегшене порівняно з триметазидин гідрохлоридом, який має слабкий позитивний заряд.

Висновки

Розроблено методику отримання нерозчинних у воді хітозанових гідрогелів. Встановлено, що ступінь набрякання хітозанових гідрогелів зростає залежно від таких чинників: при зменшенні рН середовища, при збільшенні молекулярної маси хітозану від 150 кДа до 750 кДа та зменшенні тривалості зшивання (за молекулярної маси 150 кДа). Досліджено вплив хімічної будови лікарських препаратів на їх зв'язування хітозановими гідрогелями. Показано, що сорбційна ємність гідрогелів відносно налідіксової кислоти становить 14,2 мг/г, а щодо триметазидину – 8,8 мг/г для гідрогелю отриманого з хітозану ММ 750 кДа. Досліджено залежність коефіцієнта дифузії налідіксової кислоти та триметазидину крізь гідрогелі від їхніх характеристик та рН середовища. Показано, що коефіцієнти дифузії речовин крізь хітозанові гідрогелі є функцією їх ступеня набрякання. Встановлено, що для гідрогелю з молекулярною масою хітозану 750 кДа коефіцієнти дифузії налідіксової кислоти та триметазидину при рН 2,5 дорівнюють $0,28 \pm 0,01$ та $0,21 \pm 0,01 \cdot 10^{-6}$ cm^2/s .

- Ravi Kumar M. N. Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives / M. Ravi Kumar, R. Muzzarelli, C. Muzzarelli, H. Sashiwa, A. J. Domb // Chem. Rev. – 2004. – V. 104, № 12. – P. 6017–6084.
- Goy R. C. A review of the antimicrobial activity of chitosan / R. C. Goy, D. Britto, B. G. Assis // Polimeros : Ciencia y Tecnologia. – 2009. – V. 19, № 3. – P. 241–247.
- Bhattarai N. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery / N. Bhattarai, J. Gunn, M. Zhang // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2010. – V. 62. – P. 83–99.
- Sashiwa H. Chemical modification of chitosan. 14 : Synthesis of water-soluble chitosan derivatives by simple acetylation / H. Sashiwa, N. Kawasaki, A. Nakayama et al. // Biomacromolecules. – 2002. – V. 3, № 5. – P. 1126–1128.
- Nagahama H. Preparation of biodegradable chitin/gelatin membranes with GlcNAc for tissue engineering applications / H. Nagahama, T. Kashiki, N. Nwe, R. Jayakumar // Carbohydrate Polymers. – 2008. – V. 73, № 3. – P. 2069–2106.
- D'Ayala G. G. Marine Derived Polysaccharides for Biomedical Applications : Chemical Modification Approaches / G. G. d'Ayala,

- M. Malinconico, P. Laurienzo // *Molecules*. – 2008. – V. 13. – P. 2069–2106.
7. Se-Kwon K. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS) : A review / K. Se-Kwon, N. Rajapakse // *Carbohydrate Polymers*. – 2005. – V. 62, № 4. – P. 357–368.
8. Nikitin V. Yu. Immunological activity of chitosan and its derivatives / V. Yu Nikitin, K. D. Zhogolev, Yu. I. Bulankov, L. A. Nudga // *International Journal of Immunorehabilitation*. – 1994. – № 1. – P. 244–245.
9. Nalidixic acid – Compound Summary. – Режим доступу: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=10036953&loc=ec_rcs.
10. Trimetazidine – Compound Summary. – Режим доступу: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=21109&loc=ec_rcs.

G. Pobigay, V. Konovalova, N. Gnatchuk, A. Burban

DEVELOPMENT OF CHITOSAN HYDROGELS AND STUDY THEIR BIOMEDICAL APPLICATION

A method for formation of insoluble hydrogels based on chitosane with different molecular weight was developed. Optimal conditions of hydrogel formation. The kinetics of nalidix acid and trymethazidine release and their diffusion coefficient in films were studied. Application perspectives of chitosane hydrogel as matrix for drug release have been shown.

Keywords: hydrogel, chitosane, nalidix acid, trymethazidine.

УДК 621.182

Малецький З. В., Мітченко Т. Є.

ПРО МЕХАНІЗМ ЗМІНИ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АНІОНІТІВ, ІМПРЕГНОВАНИХ ГУМІНОВИМИ РЕЧОВИНАМИ

Статтю присвячено вивченню взаємодії аніонообмінних смол із природними гуміновими речовинами, а саме – дослідженню механізму зміни фізико-хімічних властивостей аніонітів під впливом гумінових речовин різних типів. Експериментально обґрунтовано, що гідрофільність поверхні аніонітів є одним із визначальних факторів, які впливають на їхню сорбційну спорідненість стосовно домішок заліза в артезіанській воді.

Ключові слова: аніонообмінні смоли, аніоніти, гумінові речовини, домішки заліза.

Вступ

Аніонообмінні смоли (аніоніти) широко застосовуються у промислових процесах демінералізації води для потреб важкої та енергетичної промисловості, фармацевтичних виробництв та мікроелектроніки. Схеми водопідготовки таких виробництв, як правило, передбачають одну або дві стадії іонообмінної демінералізації – послідовної обробки води у катіонітових та аніонітових фільтрах. Оскільки іонообмінна демінералізація є одним із завершальних етапів водопідготовки, до іонітових фільтрів надходить вода, що пройшла попереднє очищення методами механічної фільтрації, коагуляції та освітлення [1]. Проте при використанні поверхневих водойм як

основного джерела водопостачання попереднє очищення не забезпечує повного видалення з води природних органічних речовин – гумінових та фульвокислот [2]. Цей фактор є достатньо суттєвим з огляду на те, що для більшості річок та озер України характерним є підвищений вміст гумінових речовин (ГР) [3]. Як наслідок, воді, що підлягає демінералізації, властива висока окиснюваність, а отже, іонообмінні смоли діють в умовах високого органічного навантаження.

Взаємодія аніонітів із ГР є причиною поступового зниження робочої іонообмінної ємності смол [4]. Це негативно впливає на технологічні та економічні показники процесу демінералізації в цілому та згодом робить аніоніти непридат-