

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ»

**МИКРОКАПСУЛЫ НА ОСНОВЕ МАЛАТА ХИТОЗАНА
ВКЛЮЧЁННЫЕ В ГИДРОГЕЛЕВУЮ МАТРИЦУ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента 4 курса 412 группы
направления 04.03.01 – «Химия»

Института химии

Шенцева Макара Александровича

Научный руководитель

к.х.н. . _____

Т.С. Бабичева

Зав. кафедрой

д.х.н., профессор _____

А.Б. Шиповская

Саратов 2024

Введение

Актуальность работы. В настоящее время активно развивается получение микрокапсул на основе биосовместимых полимеров, выступающих в роли носителей биологически активных веществ. Их применение позволит, например, стабилизировать химические, физические, микробиологические и фармакологические параметры на более длительный период времени, что продлит срок годности лекарственного вещества. Кроме того, снизить риск побочных эффектов, позволит осуществлять доставку лекарственных препаратов в зону запланированной дислокации, повысив тем самым терапевтическое воздействие.

Для получения таких микрокапсул перспективно использование биосовместимого аминополисахариды – хитозан. Из литературных источников известно о получении микрокапсул на основе хитозана с использованием для стабилизации объектов различных поверхностно-активных веществ (ПАВ) или сшивающих агентов, например, глутарового альдегида [1-2]. Методы получения трудоемкие и дорогостоящие. Использование не фармакопейных веществ, которые остаются в составе микрокапсулы, может привести к нежелательным побочным эффектам.

В качестве кислоты-растворителя хитозана перспективно использовать двухосновные оптически активные кислоты, например, *L*-яблочную. Поскольку применение гидроксикислот способствует получению солевой формы хитозана не только более стабильной во времени, но и может положительно сказываться на биологических свойствах полученной системы.

Цель работы – получить микрокапсулы реакцией полимераналогичного превращения водорастворимой соли малата хитозана в водонератворимое основание и оценить их седиментационную устойчивость и загрузку в полимерную матрицу.

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

1. получить растворы хитозана в яблочной кислоте;

2. установить оптимальные условия для получения микрокапсул на основе малата хитозана с помощью методов механической или ультразвуковой диспергации;
3. оценить размер микрокапсул и седиментационную устойчивость дисперсионной хитозансодержащей системы в зависимости от концентрации хитозана и времени выдерживания дисперсной системы;
4. осуществить включение микрокапсул хитозана в гидрогелевую матрицу на основе поливинилового спирта.

Научная новизна. В работе впервые:

В работе впервые получены растворы хитозана в 3-х и 4-х мольном избытке *L*-яблочной кислоты. Изучены реологические свойства растворов хитозана в яблочной кислоте. На основе растворов малата хитозана получены микрокапсулы. Размер микрокапсул в случае применения механического диспергирования составил 6-205 мкм, ультразвукового – 7-121 мкм. Размер основной доли (более 70%) микрокапсул хитозана, полученных ультразвуковым диспергированием составляет 7-36 мкм.

Практическая значимость работы.

Полученные реологические характеристики растворов хитозана в яблочной кислоте носят справочный характер и представляют интерес для решения практических задач.

Объём и структура магистерской работы. Работа состоит из введения, формулировки цели и задач, 2 глав (1 глава – обзор литературы, 2 глава – экспериментальная часть), заключения, списка литературы, техники безопасности.

Работа изложена на 53 стр., включает 15 рисунков и 3 таблицы, список литературы насчитывает 81 источников.

Основное содержание работы.

В проведенном литературном обзоре выделены, основные способы получения микрокапсул хитозана (микрофлюидное распыление,

электрораспыление, эмульсионный, газодвигающий) и проанализированы их достоинства и недостатки [4-10].

В работе использовали хитозан со средневязкостной молекулярной массой 700 кДа, степенью деацетилирования 80 мольн.% (производства ЗАО «Биопрогресс», РФ), порошок пищевой яблочной кислоты (производства ООО «Миксэм», РФ), триэтаноламин (ТЭА, $pK_a = 7.77$, ЗАО «База №1 Химреактивов», РФ), растительное масло рафинированное, дезодорированное подсолнечное (ООО «Золотая семечка», РФ), дистиллированная вода.

Методы исследования: гравиметрия (аналитические весы «OhausDiscovery» (США), точность взвешивания ± 0.01 мг), поляризационная микроскопия (поляризационный микроскоп ЛабоПол-2 (РФ), ротационная вискозиметрия (ротационный вискозиметр Rheotest RN-4.1 (Германия) с рабочим узлом «цилиндр-цилиндр» (внутренний цилиндр HS) при 25°C).

Физико-химические свойства растворов малата хитозана

Аминополисахарид хитозан хорошо растворим в водных растворах одноосновных органических кислот и сложнее в двухосновных. При взаимодействии хитозана с яблочной кислотой образуется водорастворимая соль малата хитозана. Исследование растворимости хитозана в яблочной кислоте показало присутствие в небольших количествах частицы нерастворённого хитозана, которые на протяжении длительного времени выдерживания в статических условиях так и не растворяются. С повышением процента содержания в растворе яблочной кислоты, количество этих частиц уменьшается. Установлено, что минимальная концентрация кислоты, необходимая для растворения аминополисахарида, составляет 30%. При концентрации ниже наблюдается дисперсная система, состоящая из мелкодисперсных частиц полимера и его водорастворимой соли.

Таким образом, для дальнейшего использования был выбран раствор с процентным содержанием яблочной кислоты 30%. Как и, следовало ожидать, рН растворов варьируется от 2-3 в зависимости от концентрации хитозана.

Анализируя данные, полученные в результате реологических исследований, можно увидеть, что все исследованные системы являются неньютоновскими жидкостями. Вязкость всех исследованных систем низкая, по сравнению с растворами с аналогичной концентрацией полимера в других кислотах [11].

На основе полученных растворов малата хитозана, проведением реакции полимер аналогичного превращения водорастворимой соли в нерастворимое основание, получены хитозансодержащие дисперсные системы.

Исследования их на поляризационном микроскопе показали, что в системе образуются частицы с темной оболочкой как сферической, так и искажённой формой (рис. 1). Предположительно внутри частиц находится масло, что позволяет назвать их микрокапсулы. Частицы формируются с различной по толщине оболочкой. При этом с повышением концентрации хитозана повышается размер микрокапсул.

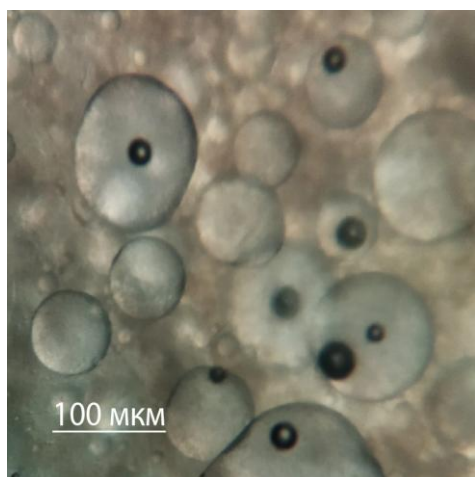


Рисунок 1 – Фотографии микрокапсул, полученных из раствора хитозана концентрации 3 в 30% яблочной кислоте.

Дисперсная система неустойчива, и разделяется на несколько слоев. Все полученные системы неустойчивы, нижний и средний слой состоит из сложной дисперсной системы, верхний слой масло. Системы практически сразу разделяются на тяжёлые частицы, в нижних слоях и лёгкие в средних. Исключение составили системы, полученные из растворов хитозана с концентрацией 3 и 6 мас.%. Средний слой в этих случаях не обнаружен.

Замечено, что все системы расслоились практически сразу (1-2 мин и меньше) и соотношение слоёв практически не изменялось на протяжении 5 сут эксперимента. В случае систем, полученных из растворов хитозана с концентрацией 4 и 5 мас.%

образование среднего слоя наступило позднее первого дня. Размеры капсул различных систем значительно понижается до 6 мкм.

Таким образом, нежелательно использовать растворы с 19 кратным избытком кислоты в системе, поскольку это экономически нецелесообразно требует излишнего использования нейстабилизирующего реагента и образования нежелательного количества возможных побочных продуктов.

Применение ультразвукового диспергирования для получения микрокапсул хитозана

В системах, полученных растворением смеси порошка хитозана и яблочной кислоты, удалось значительно снизить содержание яблочной кислоты до 3-х мольного избытка. Известно, что воздействие ультразвука часто способствует повышению стабильности системы. Поэтому далее в работе микрокапсулы получены ультразвуковым диспергированием из растворов, хитозана 2 и 3 мас.% в 4.7% и 6.3% яблочной кислоты.

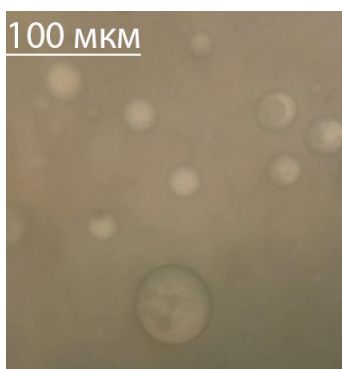


Рисунок 2 – Фото микрокапсул, полученных ультразвуковым диспергированием.

Наблюдение микрокапсул хитозана на поляризационном микроскопе показали, что в системе помимо исследуемых объектов с темной оболочкой сферической формой и образуются тонокодисперсные частицы (рис.2). Предположительно, как и для образцов полученных механическим диспергированием, внутри частиц находится масло, что позволяет назвать их микрокапсулы.

При ультразвуковом диспергировании: преимущественный размер микрокапсул значительно ниже, чем при механическом и составляет 7–70 мкм в зависимости от концентрации хитозана в системе. После 5 сут выдерживания системы размер микрокапсул значительно не меняется, но меняется их

распределение. Установлено, что с увеличением концентрации хитозана и яблочной кислоты в системе, преимущественный размер микрокапсул увеличивается.

Дисперсная система неустойчива, и разделяется на несколько слоев. Системы сразу расслаиваются, и прибывают в таком состоянии на протяжении всего времени наблюдений. Только система с 3 мас.% хитозана в 6.3% яблочной кислоте претерпевает значительные изменения в период наблюдения, и на 5-й день в ней не обнаружено микрокапсул.

Таким образом, применение ультразвукового диспергирования способствует формированию микрокапсул меньшего размера и позволяет добиться более тонкодисперсной системы с долей основных объектов более 70%.

Включение микрокапсул хитозана в гидрогелевую матрицу

Введение микрокапсул в гидрогелевую матрицу осуществляли в несколько этапов. На первом этапе выделяли микрокапсулы хитозана центрифугированием, а именно, в эмульсию хитозана добавляли воду и оставляли на 10 минут, чтобы микрокапсулы отделились от основного количества масла. Далее суспензию, содержащую микрокапсулы, в центрифугировали 5 минут при 40000 обр/мин. Отбирают надосадочную жидкость и ресуспендируют дистиллированной водой. Полученную водную суспензию микрокапсул хитозана добавляют в вязкий раствор поливинолового спирта и оставляют полученную систему в при -20°C на 24 часа. Далее система медленно оттаивает в течение 24 часов при температуре 4°C .

Полученный криогель нерастворим в воде, визуалью белого цвета, эластичный и прочный. Исследование под микроскопом показало, что криогель, не содержащий микрокапсулы, прозрачен. В структуре образца с включенными микрокапсулами наблюдались вкрапления белого цвета.

Добавка микрокапсул хитозана в криогель незначительно влияет на физико-механические параметры образцов. Так, все образцы проявляют

упругопластические свойства. По сравнению с исходным криогелем поливинилового спирта, образцы с добавкой микрокапсул хитозана обладают большей эластичностью и не значительно отличаются по прочности. Наилучшие показатели зафиксированы при добавке 5%. Повышение процентного содержания объемной добавки микрокапсул не приводит к значительным изменениям физико-механических параметров. В процессе исследования при механическом воздействии на криогель наблюдалось высвобождение масла из образцов.

Таким образом, удалось включить микрокапсулы в криогелевую матрицу и частично предотвратить их агрегацию.

Заключение

1. Обнаружено, что растворение хитозана в яблочной кислоте зависит не только от концентрации компонентов, но и от способа приготовления растворов.
2. Размер микрокапсул, полученных механическим диспергированием, составляет 6-205 мкм. Замечена общая тенденция к повышению преимущественного размера микрокапсул с увеличением процентного содержания хитозана за исключением образцов, полученных из растворов 3 и 6 мас.% хитозана в 30% яблочной кислоте.
3. Применение ультразвукового диспергирования для получения микрокапсул способствует снижению преимущественного размера микрокапсул (7-36 мкм), процентное соотношение которых изменяется со временем. Кроме того, основная доля микрокапсул составляет более 70%, что позволяет получению более тонкодисперсной системы.
4. Включение микрокапсул хитозана в криогели поливинилового спирта, менее 5 объемных процентов не сказывается на механических свойствах криогелей.

Список литературы

- 1) Guosheng T. Gas-Shearing Fabrication of Multicompartmental Microspheres A One-Step and Oil-Free Approach / Ranhua X., Dan Lv, Ronald X., Kevin B., Chaobo H., Stefaan C., De S. // *Advanced Science*. – Vol.6. – No.9. – P.1802342.
- 2) Jian Z. Preparation of Single, Heteromorphic Microspheres, and Their Progress for Medical Application / Yulin W., Qingli Qu, Tao Lu, Fanghua Li, Jing W., Anquan Y., Yan Z., Chaobo H. s // *Macromolecular Materials and Engineering*. – 2020. – Vol.306. – No.2. – P.2000593.
- 3) Dongying Z. Biomedical applications of chitosan and its derivative nanoparticles / Shuang Y., Beini S., Shuang G., Sihan G. Kai Z. // *Polymers*. – 2018. – Vol.10. – No.4. – P.462-479.
- 4) Jaleh V. The promise of chitosan microspheres in drug delivery systems // *Expert Opinion on Drug Delivery*. – 2007. – Vol.4. – No.3. – P.263-273.
- 5) Rokhade Ap. Synthesis and characterization of semi-interpenetrating polymer network microspheres of acrylamide grafted dextran and chitosan for controlled release of acyclovir / Patil Sa., Aminabhavi Tm. // *Carbohydrate Polymers*. – 2007. – Vol.67. – No.4. – P.605-613.
- 6) Genta I. Bioadhesive microspheres for ophthalmic administration of acyclovir / Conti B., Perugini P., Pavanetto F., Spabaro A., Puglisi G. // *Journal Pharmacy and Pharmacology*. – 1997. – Vol.49. – No.8. – P.737-742.
- 7) Anal Ak. Ionotropic cross-linked chitosan microspheres for controlled release of ampicillin / Stevens Wf., Remunan-Lopez C. // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2006. – Vol.312. – No.1-2. – P.166-173.
- 8) Giunchedi P. Preparation and characterization of ampicillin loaded methylpyrrolidinone chitosan and chitosan microspheres / Genta I., Conti B., Muzzarelli Raa, Conte U. // *Biomaterials*. – 1998. – Vol.19. – No.1-3. – P.157-161.
- 9) Coppi G. Alginate microparticles for Polymyxin B Peyer's patches uptake: microparticles for antibiotic oral administration / Iannuccelli V., Sala N., Bonbi M. // *Journal of Microencapsulation*. – 2004. – Vol.21. – No.8. – P.829-839.
- 10) Peng X. Surface fabrication of hollow microspheres from N-methylated chitosan cross-linked with glutaraldehyde / Zhang L. // *Langmuir*. – 2005. – Vol.21. – No.3. – P.1091-1095.
- 11) Бабичева Т.С. Вязкостные свойства растворов хитозана в гликолевой кислоте / Бабичева Т.С., Шиповская А.Б. // *Изв. Сарат. Ун-та. Нов. Сер. Химия. Биология. Экология*. – 2020. – Т.20. – Вып.2. – С.170-177.