

# Методы синтеза и технология производства лекарственных средств

© Коллектив авторов, 2016

М. А. Касаткина<sup>1</sup>, Н. А. Буданцева<sup>2</sup>, Н. Р. Кильдеева<sup>1</sup>

## ПОЛУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИФОСФАТАМИ

<sup>1</sup> Московский государственный университет дизайна и технологии, Россия, 117997, Москва, ул. Садовническая, д. 33, кор. 1.

<sup>2</sup> Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН, Россия, 117342, Москва, ул. Обручева, 40.

Исследован процесс получения пленочных материалов на основе хитозана, поверхностно-модифицированных ионными сшивающими реагентами триполифосфатом натрия и пирофосфатом калия. Для определения оптимальных условий сшивки были изучены закономерности взаимодействия хитозана с разной степенью протонирования аминогрупп и полифосфатов, содержащих различное число ионизованных групп. Исследования показали, что за счет изменения времени обработки пленок степень набухания можно изменять в пределах от 165 до 148 % для пирофосфата калия и от 196 до 80 % в случае использования триполифосфата натрия. Изучение кинетики высвобождения исследуемых лекарственных веществ показало, что путем изменения условий модифицирования полифосфатами продолжительность выделения биологически активного компонента может быть увеличена до 8 ч.

**Ключевые слова:** хитозан; пленочные материалы; пирофосфаты.

К числу биополимеров, наиболее перспективных для создания материалов медико-биологического назначения, относится полисахарид хитозан (ХТ, рис. 1). ХТ обладает уникальными биологическими свойствами, которые включают биосовместимость, нетоксичность, способность к биодеградации, сродство к белкам, кровоостанавливающие, противоопухолевые фунгистатические свойства [1]. Известно более 70 направлений практического применения хитозана, наиболее важными из которых признаны медицина, биотехнология и экология, ветеринария, пищевая промышленность, косметика, сельское хозяйство и др. [2].

Растворимость ХТ в разбавленных водных растворах кислот, наряду с волокно- и пленкообразующей способностью и наличием реакционноспособных аминогрупп, облегчает модификацию этого полимера и переработку его в полимерные изделия. Пленки, полученные из таких растворов, растворимы в воде, а для перевода хитозана из солевой формы в нерастворимую в воде форму полиоснования используют обработку щелочью. В результате такой обработки пленки не только теряют растворимость в воде, но и способность удерживать влагу. Для получения на основе ХТ

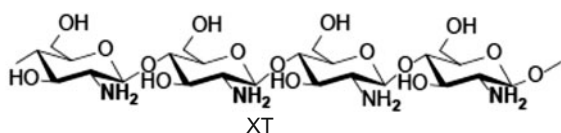


Рис. 1. Формула хитозана

нерастворимых материалов, но обладающих высоким набуханием в воде, используют бифункциональные реагенты. В их присутствии в растворах ХТ формируется трехмерная сетка геля, которая обеспечивает материалу не только высокую влагоудерживающую способность, но и замедление десорбции включенных в его структуру лекарственных веществ (ЛВ), обеспечивая их пролонгированное высвобождение.

С целью модификации пленок и регулирования их свойств используют сшивающие реагенты ковалентного или ионного типа. Подавляющее большинство известных работ направлено на получение и исследование полимерных материалов на основе ХТ, модифицированного диальдегидами, чаще всего глутаровым альдегидом [3, 4]. Однако высокая токсичность продуктов взаимодействия ХТ и глутарового альдегида является препятствием для их применения в медицинских целях [5, 6]. Использование ионных сшивающих реагентов может снизить токсичность материалов на основе ХТ.

Благодаря наличию в составе макромолекулы ХТ аминогрупп, способных к протонированию, полисахарид может связываться с низкомолекулярными полианионами. По сравнению с ковалентной, ионная сшивка имеет ряд преимуществ: мягкие условия образования и простота процедуры. Например, нерастворимые во всем диапазоне pH частицы ХТ могут быть получены путем простого добавления раствора ХТ по каплям в раствор триполифосфата [7].

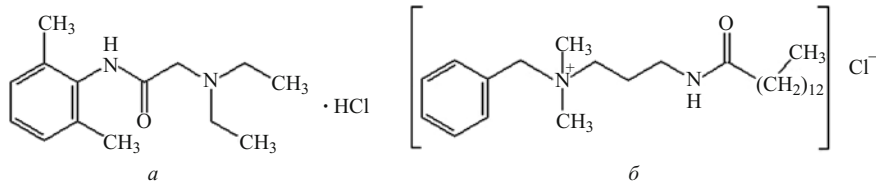


Рис. 2. Структурные формулы: (а) гидрохлорида лидокаина (Lid) и (б) мирамистина.

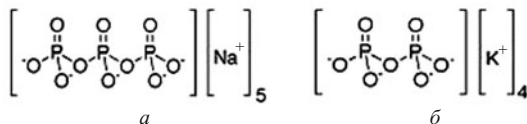


Рис. 3. Формулы триполифосфата натрия (а) и пиррофосфата калия (б).

В настоящее время для сшивки ХТ используют всего несколько типов низкомолекулярных полианионов, чаще всего это полифосфаты и цитрат натрия [8, 9]. В работе [9] пленки на основе ХТ, содержащие противоопухолевый препарат 5-фторурацил и противовоспалительный препарат индометацин, были получены с использованием растворов триполифосфата натрия или цитрата натрия. Отмечается [9, 10], что пленки, сшитые цитратом натрия обладают рН-зависимым контролируемым высвобождением ЛВ.

Наиболее востребованным полианионным сшивающим реагентом является триполифосфат натрия (ТПФ). Чаще всего он используется для получения систем контролируемой доставки ЛВ в форме микрогранул или наночастиц [11 – 14]. Электростатические взаимодействия между анионом и ХТ в основном зависят от плотности заряда на них, которая определяется значением рН раствора. При определенных значениях рН микросферы не образуются или же формируются нерегулярные микрочастицы [15, 11]. При этом сшитые ТПФ частицы ХТ проявляют рН-зависимые свойства [14] и перспективны для использования в качестве систем доставки лекарств в определенный отдел желудочно-кишечного тракта.

Таким образом, использование полифосфатов в качестве сшивающих реагентов позволяет получать на основе ХТ наночастицы, гранулы, а также биосовместимые пленки и мембраны, которые могут успешно применяться для доставки лекарств [16 – 18]. За счет изменения плотности сшивки и гидрофильных свойств сшитого ХТ можно регулировать скорость выделения включенных в состав пленок биологически активных веществ и расширить область потенциального применения полученных материалов [9, 19].

Целью данной работы являлось исследование влияния строения полифосфата и условий его взаимодействия с аминогруппами полисахарида в процессе получения нерастворимых, но способных к набуханию в воде пленок, обладающих антимикробным или местноанестезирующим действием с пролонгированным выделением ЛВ.

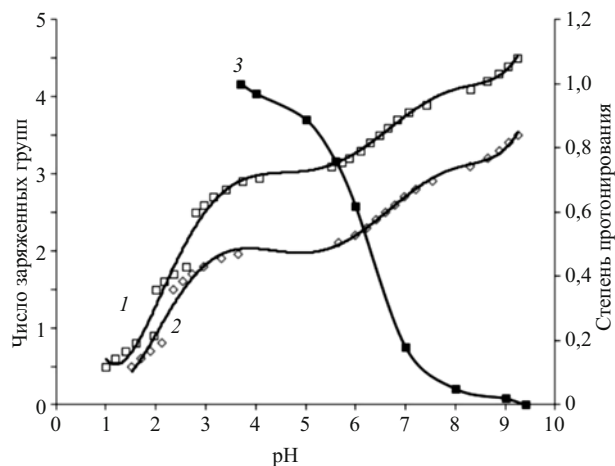


Рис. 4. Влияние рН на ионизацию ТПФ (1), ПФ калия (2) и ХТ (3).

#### Экспериментальная часть

В работе были использованы ХТ производства “Roepert” (Германия) с молекулярной массой 190 кДа и степенью деацетилирования исходного хитина 0,87; ТПФ и пиррофосфат (ПФ) калия производства “Sigma” (Германия); уксусная кислота марки х.ч.; ГОСТ 61 – 75; гидрохлорид лидокаина (рис. 2, а) производства ОАО “АС-фарм”; мирамистин (рис. 2, б) производства “Инфамед К” в виде субстанции-порошка.

Приготовление растворов ХТ в водном растворе уксусной кислоты заданных концентраций осуществлялось по точным ( $\pm 0,0002$  г) навескам сухого полимера. Растворение проводилось на магнитной мешалке при 900 об/мин в колбах подходящего объема.

Определение электропроводности проводилось на кондуктометре “Эксперт-002” фирмы “Эконикс” (Россия) с использованием стеклянного электрода. Растворы полимера и сшивающего реагента доводили до соответствующих значений рН с помощью 1 М растворов HCl и NaOH.

Формование плёнок толщиной 50 мкм осуществляли методом полива на чашки Петри; затем их выдерживали при комнатной температуре для испарения растворителя до постоянной массы пленки. Массу формовочного раствора рассчитывали по формуле:

$$m = \frac{S \cdot h \cdot \rho}{C} \cdot 100, \quad (1)$$

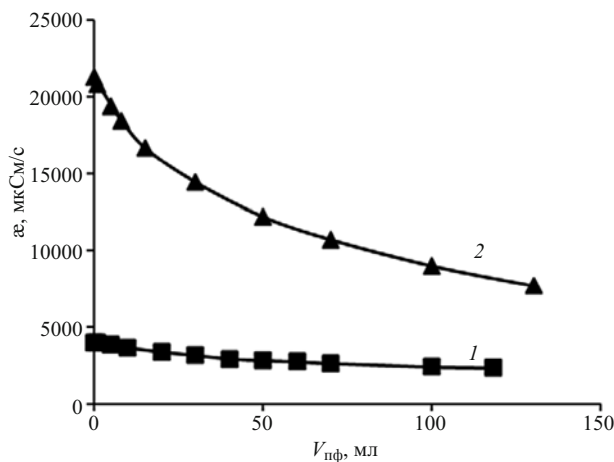


Рис. 5. Изменение электропроводности 0,3 % растворов ХТ в 2 % уксусной кислоте в процессе титрования 0,1 % раствором ПФ при разных рН: 1 — рН = 4; 2 — рН = 6.

где  $S$  — площадь подложки,  $\text{см}^2$ ;  $h$  — толщина пленки,  $\text{см}$ ;  $\rho$  — плотность полимера,  $\text{г}/\text{см}^3$ ;  $C$  — концентрация раствора, %.

Модификацию полученных пленок проводили путем их погружения в раствор ТПФ (0,5 – 1,0 %) или ПФ калия (1,0 %) с рН 6,0.

Определение степени набухания пленок осуществляли гравиметрическим методом. Степень набухания  $\alpha$ , % рассчитывали по формуле:

$$\alpha = \frac{m - m_0}{m_0} \cdot 100, \quad (2)$$

где  $m$  — навеска полимера после набухания, г;  $m_0$  — навеска полимера до набухания, г.

Изучение кинетики выделения лидокаина или мирамистина из пленок в физиологический раствор NaCl (0,9 %) (гидромодуль 100 мл/г) проводилось при перемешивании на магнитной мешалке Heidolph (Германия) при скорости вращения 100 об/мин путем регистрации изменения оптической плотности растворов при длине волны  $\lambda = 200$  нм (лидокаин) и 210 нм (мирамистин) на спектрофотометре Thermo Spectronic Genesis 10UV.

ИК-спектры измерены при комнатной температуре на Фурье-спектрометре “Shimadzu” IR Prestige 21 (Япония) с разрешением  $2 \text{ см}^{-1}$  и числом сканирований 60. Образцы приготовлены по стандартной методике в матрице из плавленого NaCl (10 мг модифицированных образцов или 2 мг ТПФ/ПФ/Lid в 250 мг NaCl). Модифицированные образцы хитозановых пленок многократно промывали водой от уксусной кислоты, контролируя содержание уксусной кислоты по УФ-спектрам. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, USA).

### Результаты и их обсуждение

Наличие положительно заряженных групп в макромолекуле ХТ позволяет осуществить сшивку полиме-

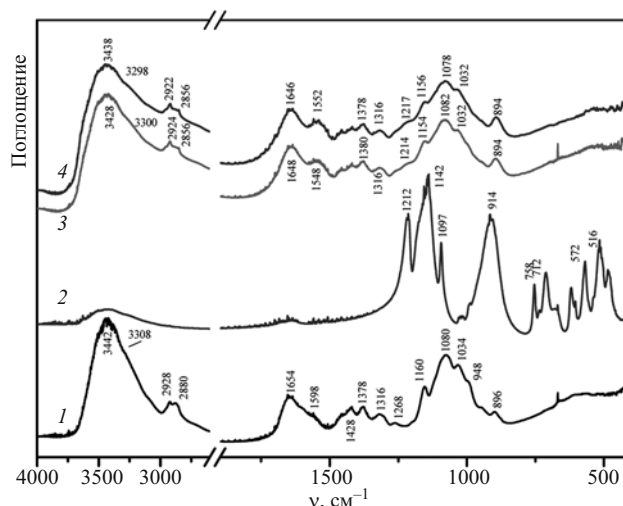


Рис. 6. Фурье ИК-спектры ХТ (1); ТПФ соли (2); пленки из ХТ, выдержанной в растворе ТПФ в течение 15 мин (3); пленки из ХТ, выдержанной в растворе ТПФ в течение 30 мин (4).

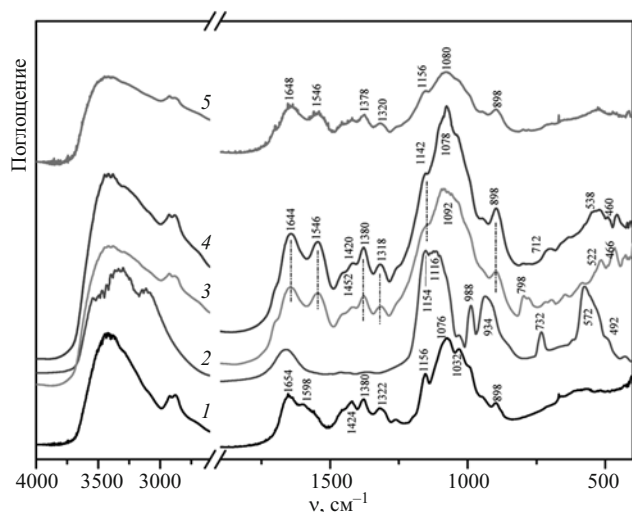
ра полианионами за счет электростатических взаимодействий. ТПФ натрия (рис. 3, а) и ПФ калия (рис. 3, б) были использованы в качестве ионных сшивающих реагентов.

Плотность сшивки является основным параметром, влияющим на важнейшие свойства сшитых полимерных материалов, таких как растворимость, механическая прочность, степень набухания и диффузионные характеристики. Поэтому для получения материалов с заданной степенью сшивки, а также с целью регулирования свойств полимерных пленок на основе ХТ необходимо определить условия взаимодействия функциональных групп полимера и сшивающих реагентов.

Условием образования ионной связи при взаимодействии с ионным сшивающим реагентом является наличие в макромолекуле аминоксодержащего полимера положительно заряженных протонированных групп и отрицательно заряженных ионизованных фосфатных групп в молекулах ТПФ и ПФ. Чтобы произошла сшивка макромолекул аминополимеров, молекула сшивающего реагента должна содержать, как минимум, 2 ионизованные фосфатные группы. В растворе ХТ в уксусной кислоте большинство аминоксодержащих групп протонированы и способны к электростатическим взаимодействиям с образованием ионной связи.

ТПФ и ПФ используются в виде натриевой и калиевой солей соответственно. Водные растворы этих солей в зависимости от концентрации имеют рН 7,5 – 10,0. При использовании соляной кислоты рН растворов сшивающих реагентов можно снижать до кислых значений без потери их растворимости.

Плотность заряда ионных молекул, содержащих несколько ионогенных групп, определяется значением рК каждой группы и рН раствора. ТПФ содержит 5 способных к диссоциации кислотных групп, ПФ — 4 таких группы. рК кислотных групп изменяются в широком диапазоне и составляют для ТПФ:  $\text{pK}_{a1} = 1$ ;  $\text{pK}_{a2} = 2$ ;  $\text{pK}_{a3} = 2,79$ ;  $\text{pK}_{a4} = 6,47$ ;  $\text{pK}_{a5} = 9,24$ ; для



**Рис. 7.** Фурье ИК-спектры ХТ (1); ПФ калия (2); пленки из ХТ, выдержанной в растворе ПФ в течение 15 мин (3); пленки из ХТ, выдержанной в растворе ПФ в течение 30 мин (4); пленки из ХТ, выдержанной в растворе ПФ в течение 15 мин, после выдерживания в воде в течение 2 ч (5).

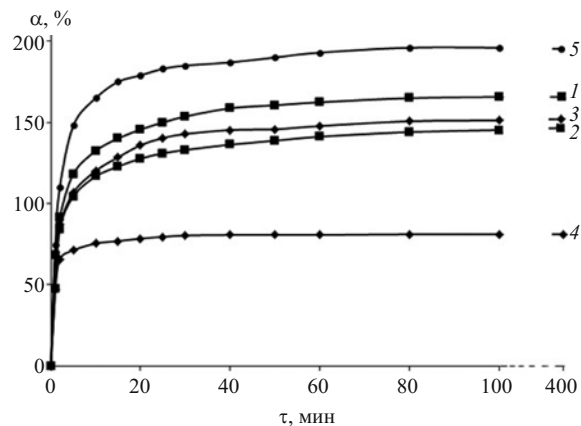
ПФ:  $pK_{a1} = 1,52$ ;  $pK_{a2} = 2,36$ ;  $pK_{a3} = 6,60$ ;  $pK_{a4} = 9,25$  [20]. Чтобы определить число заряженных групп при различных значениях pH, нами установлена количественная зависимость плотности отрицательного заряда в молекулах ТПФ и ПФ от pH. С учетом того, что некоторые из кислотных групп фосфата диссоциируют в одинаковом диапазоне pH, результаты были получены с использованием известных значений  $pK_a$  и заданных значений  $\alpha$  для каждой ионизирующейся группы полифосфата путем расчета соответствующих значений pH по уравнению Хассельбаха — Гендерсона:

$$pH = pK_a + \lg \frac{\alpha}{(1-\alpha)}, \quad (3)$$

где  $\alpha$  — степень диссоциации кислотной группы фосфата.

Полученные расчетные и экспериментальные зависимости числа отрицательно заряженных групп в молекулах ТПФ и ПФ и степени протонирования аминогрупп ХТ от pH (рис. 4) позволили определить оптимальные условия для ионной сшивки: область pH, внутри которой аминогруппы ХТ протонированы и имеют положительный заряд, а сшивающие реагенты содержат не менее 2 отрицательно заряженных группировок.

С целью изучения взаимодействий в растворе полиэлектролита в процессе его сшивания ионным сшивающим реагентом проведены кондуктометрические и нефелометрические исследования. Для исследования были выбраны значения pH, при которых ХТ имеет разную степень протонирования, а молекула полифосфата — не менее 2 ионизированных групп, способных к образованию ионных связей с протонированными аминогруппами хитозана (табл. 1). Эти условия должны обеспечить возможность сшивания ХТ полифосфатом.



**Рис. 8.** Кинетика набухания хитозановых пленок при различных сшивающих реагентах и времени обработки: 1 — ПФ 1,0 %, 15 мин; 2 — ПФ 1,0 %, 30 мин; 3 — ТПФ 1,0 %, 15 мин; 4 — ТПФ 0,5 %, 30 мин; 5 — ТПФ 1,0 %, 30 мин.

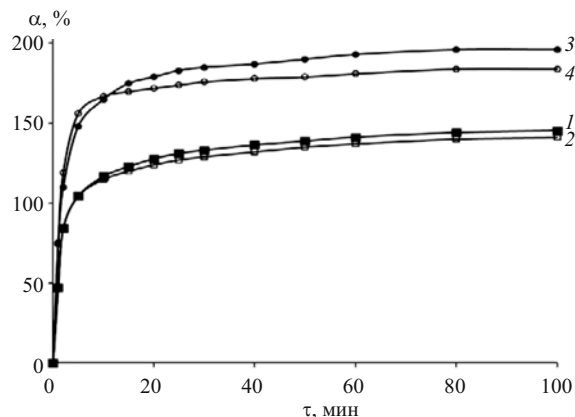
Увеличение числа ионогенных групп приводит к увеличению электропроводности, а образование ионных связей с ТПФ снижает число протонированных аминогрупп в растворе полимера, что приводит к уменьшению электропроводности. Межмолекулярная сшивка полимеров приводит к последовательным процессам увеличения молекулярной массы полимера, образованию кластеров в растворе, их росту и появлению новой фазы. Потеря растворимости в воде при взаимодействии полиэлектролитов с противоположно заряженными молекулами может быть также обусловлена уменьшением заряда макромолекул в совокупности с увеличением молекулярной массы полимера. Таким образом, кондуктометрия в сочетании с результатами нефелометрии является информативным методом изучения взаимодействий в растворе полиэлектролита в процессе его сшивания ионными сшивающими реагентами.

Результаты кондуктометрического титрования (рис. 5) показали, что, несмотря на появление в растворе ионизированных групп ПФ, в процессе титрования электропроводность раствора ХТ уменьшалась, что свидетельствует об образовании ионных связей между отрицательно заряженными группами фосфата и протонированными аминогруппами полимера. При pH 6,0 степень ионизации фосфата выше, чем при pH 4,0, поэтому падение электропроводности происходит значительно быстрее.

Результаты нефелометрических измерений показали, что при pH 6,0 помутнение раствора вследствие ионной межмолекулярной сшивки ХТ и ТПФ происхо-

Таблица 1  
Степень ионизации ТПФ, ПФ и ХТ при выбранных значениях pH

pH	Число заряженных групп		Степень протонирования аминогрупп $\alpha$ в ХТ
	в молекуле ТПФ	в молекуле ПФ	
4,0	3,0	2,0	0,9
6,0	3,4	2,2	0,62



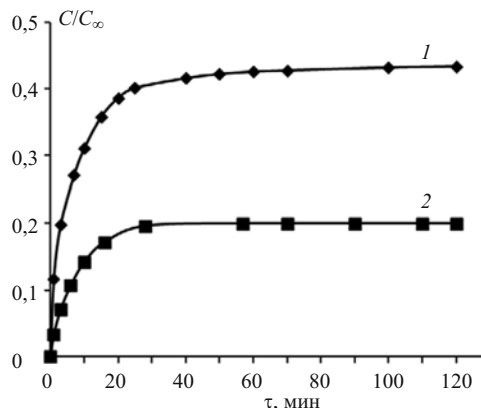
**Рис. 9.** Кинетика набухания модифицированных полифосфатами хитозановых пленок в воде (1, 3) и 0,9 % растворе NaCl (2, 4). Условия модификации: 1, 2 — ПФ 1,0 %, 15 мин; 3, 4 — ТПФ 0,5 %, 30 мин.

дит при соотношении  $[ТПФ]/[NH_2]$  в 6 раз меньше, чем в случае использования ПФ (табл. 2), что обусловлено большим содержанием ионизованных функциональных групп в молекуле ТПФ (табл. 1). Несмотря на то, что при pH 4,0 молекула ПФ содержит 2 ионизованные группы, помутнение раствора не происходило даже при прибавлении 100 мл 0,1 % раствора ПФ (табл. 2, п. 2), по-видимому, в этих условиях достигаемой степени модифицирования ХТ недостаточно для потери им растворимости в воде. Увеличение числа ионизованных групп в полифосфате до 3,0 (ТПФ) при этом же значении pH оказывается достаточным для сшивки ХТ (табл. 1).

Полученные результаты показывают, что ТПФ и ПФ за счет электростатических взаимодействий сшивают ХТ в широком диапазоне pH. Особенности взаимодействий между ХТ и полифосфатами были исследованы с помощью ИК-спектроскопии (рис. 6 и 7).

На рис. 6 приведены Фурье ИК-спектры ХТ (1); ТПФ натриевой соли (2); пленки из ХТ, выдержанной в растворе ТПФ 15 мин (3); пленки из ХТ, выдержанной в растворе ТПФ 30 мин (4). ИК-спектр чистого ХТ хорошо согласуется с приведенными в литературе данными [21]. В частности, в высокочастотной области наблюдается интенсивная уширенная полоса поглощения с центром тяжести при  $3442\text{ см}^{-1}$ , являющаяся суперпозицией полос валентных колебаний  $\nu(OH)$  и  $\nu(NH)$  ХТ.

В ИК-спектре ТПФ присутствуют характеристические полосы валентных колебаний различных группировок с максимумами  $1216\text{ см}^{-1} - \nu(P=O)$ ,  $1142\text{ см}^{-1} -$



**Рис. 10.** Кинетика выделения лидокаина из пленки на основе ХТ, обработанной ТПФ (0,5 %) в течение 5 мин (1) и 30 мин (2) в 0,9 % растворе NaCl.

$\nu(PO_2)$ ,  $1097\text{ см}^{-1} - \nu(PO_3)$ ,  $914\text{ см}^{-1} - \nu_{as}(POP)$  и деформационных колебаний  $\delta(PO_2)$  при  $758, 712\text{ см}^{-1}$ , и  $\delta(POP)$  мостиковых групп при  $572, 516\text{ см}^{-1}$  [22]. Структурная перестройка, происходящая при модифицировании ХТ с помощью ТПФ, сопровождается изменениями в спектрах 3 и 4. Наблюдается низкочастотное смещение и заметное уширение полос поглощения, соответствующих колебаниям  $\nu(OH)$  и  $\nu(NH)$ , что указывает на образование дополнительных водородных связей в матрице сшитого ХТ. Происходит увеличение интенсивности и сдвиг в область низких частот полосы деформационных колебаний  $\delta(NH_2)$ , что указывает на вовлечение этих групп в связывание с  $P_3O_{10}^{5-}$ -анионами. Кроме того, появляются полосы при  $1217 - 1214\text{ см}^{-1}$ , соответствующие колебаниям  $\nu(P=O)$ . В работах [9, 23, 24] наблюдали похожие результаты при исследовании формирования ХТ наночастиц и пленок в результате взаимодействия с фосфатами, в том числе появление в спектрах образцов сшитого ХТ полос для  $P=O$  в той же области спектра.

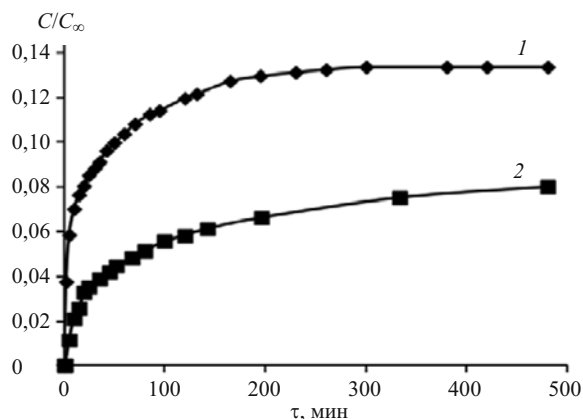
Модифицирование ХТ с помощью ПФ, по-видимому, ведет к образованию более упорядоченных структур. Для спектров образцов 3 и 4 (рис. 7) характерно повышение интенсивности и лучшее разрешение колебательных полос по сравнению с исходным ХТ. Изменения в спектрах хитозановых пленок, модифицированных ПФ (рис. 7), еще более очевидны, чем для пленок, сшитых ТПФ (рис. 6).

Полосы деформационных колебаний  $\delta(NH_2)$  заметно сдвинуты к низким частотам, что указывает на взаимодействие амидных групп с пирофосфат-ионами. Сильная полоса в диапазоне  $1200 - 750\text{ см}^{-1}$  является суммарной и обусловлена колебаниями  $\nu(CO)$ ,  $\nu(C-O-C)$  ХТ и  $\nu(PO_2)$ ,  $\nu(PO_3)$ ,  $\nu_s(POP)$  пирофосфат-иона. В низкочастотном диапазоне спектров 3 и 4 проявляются новые полосы, которые логично отнести к деформационным колебаниям различных типов  $P_2O_7^{4-}$  иона.

Наиболее эффективно ионная сшивка протекает при pH 6,0, когда степень протонирования ХТ составила 0,62, а количество ионизованных фосфатных групп в молекулах ТПФ и ПФ больше 2. Эти условия

Таблица 2  
Соотношение [Сшивающий реагент]/ $[NH_2]$  в точке помутнения раствора

Соотношение реагентов	pH			
	3	4	5	6
$[ТПФ]/[NH_2]$	0,129	0,086	0,078	0,069
$[ПФ]/[NH_2]$	—	—	0,913	0,432



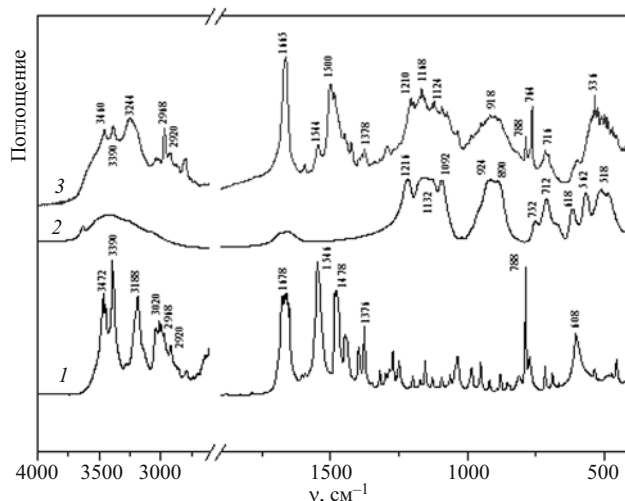
**Рис. 11.** Кинетика выделения лидокаина из пленки на основе ХТ, обработанной ПФ калия (1,0 %) в течение 5 мин (1) и 30 мин (2) в 0,9 % растворе NaCl.

были выбраны для модификации биологически активных пленок на основе ХТ.

Использование в качестве сшивающего реагента ТПФ натрия и ПФ калия и рационально подобранные условия позволяют регулировать и направленно воздействовать на такие свойства пленок, как растворимость, проницаемость и влагопоглощение.

Выбор концентрации сшивающих реагентов для модификации свежеформованных хитозановых пленок проводили с учетом технологии, предусматривающей небольшое время контакта пленки с раствором сшивающего реагента, а также необходимости предотвращения ее растворения в процессе поверхностной модификации (с учетом того, что ХТ в свежеформованной пленке находится в солевой форме, а обработка сшивающими реагентами производится из водного раствора). При погружении хитозановых пленок в растворы ТПФ (0,5 и 1,0 %) и ПФ (1,0 %) с последующей промывкой водой были получены нерастворимые материалы. При изменении времени выдерживания пленки в растворе ТПФ или ПФ от 15 до 30 мин равновесная степень набухания хитозановых пленок уменьшалась от 196 до 80 % для ТПФ и от 165 до 148 % для ПФ (рис. 8). Низкая степень набухания модифицированных пленок может быть связана с высокой скоростью диффузии сшивающего реагента внутрь пленок и высокой степенью превращения аминогрупп ХТ в объеме пленки. В случае ПФ на ИК-спектрах удалось зафиксировать, что изменения в спектре образца, выдержанного в растворе ПФ в течение 30 мин (спектр 4, рис. 7), выражены сильнее, чем в спектре образца 3 (время обработки 15 мин).

В процессе набухания в воде может происходить частичное разрушение образовавшихся при сшивке связей. Об этом свидетельствует ИК-спектр (5) пленки из ХТ, модифицированной ПФ после выдерживания в воде в течение 2 ч (рис. 7). По сравнению со спектром 3 исходной модифицированной пленки, спектр 5 имеет диффузный характер с ослаблением и уширением основных колебательных полос. При этом в спектре по-прежнему присутствует полоса поглоще-



**Рис. 12.** Фурье ИК-спектры лидокаина гидрохлорида (1); ТПФ (2); соосажденных из общего раствора лидокаина и ТПФ (3).

ния, отвечающая характеристическому колебанию  $\delta(\text{NH}_2)$  при  $1546 \text{ см}^{-1}$ , что подтверждает взаимодействие противоположно заряженных функциональных групп полиэлектролита и ПФ.

Наибольшей степенью набухания в воде обладали пленки, полученные с использованием ТПФ с концентрацией 0,5 % (рис. 8, кривая 5). Хитозановые пленки, обработанные 0,5 % раствором ПФ, растворяются в воде, поэтому для получения лекарственно-наполненных пленок был использован ТПФ в виде 0,5 % раствора, а ПФ в виде раствора с концентрацией 1 %.

Введение в хитозановые пленки анестетика местного действия лидокаина позволит придать материалу обезболивающее действие. Лидокаин плохо растворим в воде, поэтому используют его солянокислую соль — гидрохлорид лидокаина. Механизм анестезирующего эффекта заключается в снижении или полном подавлении возбудимости чувствительных нервных окончаний и торможении проведения возбуждения по нервным волокнам.

Биологически активные хитозановые пленки, содержащие лидокаин в количестве 1 % от массы полимера, были получены из 4 % раствора ХТ в 4 % уксусной кислоте. Свежеформованные пленки были обработаны водными растворами ТПФ и ПФ. С целью регулирования скорости высвобождения биологически активных веществ из полимерных пленок продолжительность обработки изменяли от 15 до 30 мин. Кинетику выделения лекарственных веществ исследовали в модельных условиях, используя 0,9 % раствор NaCl. Замена воды на 0,9 % раствор NaCl незначительно повлияла на кинетику набухания пленок, модифицированных ПФ или ТПФ (рис. 9), по-видимому, ионной силы используемого раствора недостаточно для разрушения взаимодействий между протонированными группами ХТ и ионизованными фосфатными группами.

На кривых (рис. 10) видно, что выделение лидокаина из пленки, обработанной ТПФ натрия в течение

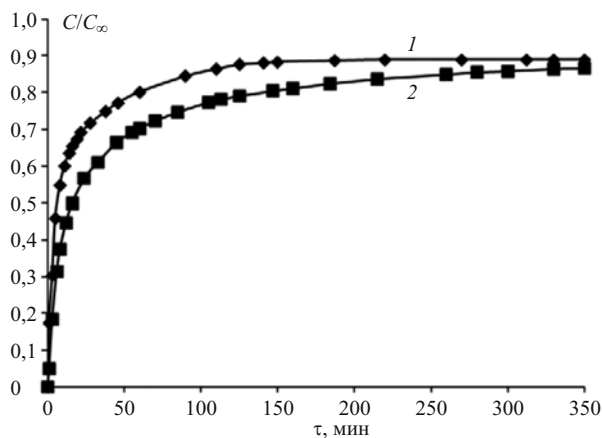


Рис. 13. Кинетика выделения мирамистина из пленки на основе ХТ, обработанной 0,5 % раствором ТПФ натрия в течение 5 мин (1) и 30 мин (2).

30 мин, происходит медленнее, чем в случае пленки, обработанной в течение 5 мин. При этом количество выделившегося лидокаина в первом случае составило всего 20 % от введенного изначально, а во втором — 43,6 %.

При использовании в качестве сшивающего реагента ПФ калия количество выделившегося лидокаина составило всего 8 – 13 % (рис. 11). Это может быть связано с уменьшением степени набухания пленки. Кроме того, в составе гидрохлорида лидокаина содержатся аминогруппы, которые в процессе сшивки полимера также могут образовывать ионные связи с ионизованными фосфатными группами ТПФ натрия. Поэтому часть лидокаина может оставаться в пленке, причем тем большая его часть, чем дольше проводится обработка ионным сшивающим реагентом.

Возможность взаимодействий ТПФ и лидокаина была исследована с помощью ИК-спектроскопии. Как видно из рис. 12, спектр лидокаина содержит большое число хорошо разрешенных колебательных полос, основные из которых:  $\nu(\text{NH})$  амидной и аминной групп – 3472, 3390, 3188, 3020  $\text{см}^{-1}$ ; 2968, 2920  $\text{см}^{-1}$  –  $\nu(\text{CH}_3)$  и  $\nu(\text{CH}_2)$ ; колебания  $\nu(\text{C}=\text{O})$  карбонильной группы – 1678  $\text{см}^{-1}$ ; 1546  $\text{см}^{-1}$  – колебания  $\nu(\text{C}=\text{C})$  фенильного кольца; деформационные плоскостные колебания  $\delta(\text{CH}_3)$  и  $\delta(\text{CH}_2)$  при 1478, 1376  $\text{см}^{-1}$  и внеплоскостные колебания 788  $\text{см}^{-1}$   $\delta(\text{CH})$ . Гидрохлорид лидокаина содержит протонированный третичный атома азота, что делает возможным взаимодействие лидокаина с ТПФ, сопровождающееся изменениями в ИК спектре образца, полученного сосаждением лидокаина и ТПФ (спектр 3, рис. 12). В спектре 3 наблюдается появление новых полос поглощения в диапазоне, характерном для колебаний  $\nu(\text{P}=\text{O})$  — 1210  $\text{см}^{-1}$ ,  $\nu(\text{PO}_2)$  — 1168  $\text{см}^{-1}$ ,  $\nu(\text{PO}_3)$  — 1124  $\text{см}^{-1}$ ,  $\nu_{\text{ас}}(\text{POP})$  — 918  $\text{см}^{-1}$  и деформационных колебаний  $\delta(\text{PO}_2)$  при 788, 764, 716  $\text{см}^{-1}$ , и  $\delta(\text{POP})$  мостиковых групп при 536  $\text{см}^{-1}$ . При этом спектр 3 не является суперпозицией спектров 1 (лидокаина) и 2 (ТПФ): по сравнению со спектром ТПФ все эти полосы сдвинуты в область высо-

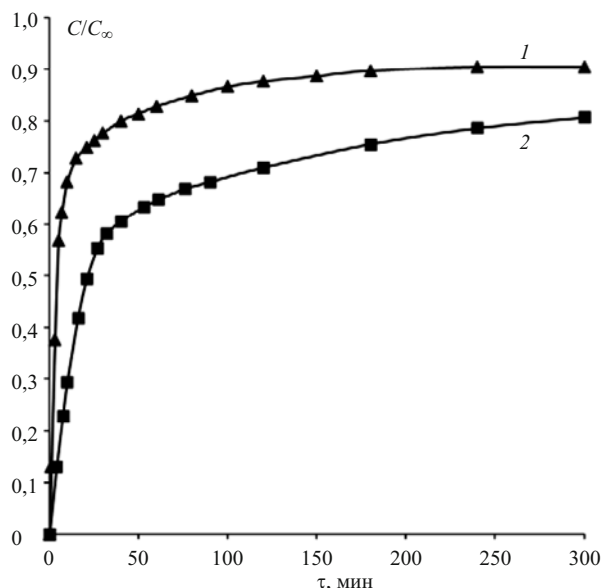


Рис. 14. Кинетика выделения мирамистина из пленки на основе ТХ, обработанной 1,0 % раствором ПФ калия в течение 5 мин (1) и 30 мин (2).

ких частот, что может указывать на достаточно прочные Р–О связи.

Для придания полимерному материалу антимикробной активности в формовочный раствор вводили вещество с антимикробным действием — мирамистин (0,5 % ЛВ от массы полимера). Пленки обрабатывали 0,5 % раствором ТПФ (рис. 13) или 1,0 % раствором ПФ калия (рис. 14) с рН 6 в течение 5 и 30 мин соответственно.

Количество выделившегося мирамистина для всех образцов составило примерно 90 % от введенного в пленку. Увеличение времени обработки пленок ТПФ натрия от 5 до 30 мин позволило увеличивать время высвобождения ЛВ от 2,5 до 6 ч и почти до 8 ч при использовании вместо ТПФ — ПФ калия (рис. 13, 14).

Таким образом, обоснование условий модификации хитозановых пленок полифосфатами позволило получить не растворимые в воде биополимерные матрицы с регулируемым поглощением влаги и благоприятной кинетикой выделения биологически активных соединений лидокаина и мирамистина.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках базовой части госзадания в сфере научной деятельности на 2014 – 2016 гг. проект №2698.

## ЛИТЕРАТУРА

1. M. Rinaudo, *Prog. Polym. Sci.*, **31**(7), 603 – 632 (2006).
2. К. Г. Скрябин, С. Н. Михайлов, В. П. Варламов, *Хитозан*, Центр “Биоинженерия” РАН, Москва, (2013).
3. V. Hoffmann, D. Seitz, A. Mencke, et al., *J. Mater Sci: Mater. Med.*, **20**(7), 1495 – 1503 (2009).
4. Н. Р. Кильдеева, С. Н. Михайлов, в: *Хитозан*, К. Г. Скрябин, С. Н. Михайлов, В. П. Варламов (ред.), Центр “Биоинженерия” РАН, Москва (2013), сс. 271 – 307.
5. H. W. Leung, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **49**(1), 26 – 39 (2001).

6. N. R. Kildeeva, P. A. Perminov, S. N. Mikhailov, et al., *Rus. J. Bioorg. Chem.*, **35**(3), 360 – 369 (2009).
7. Z. Liu, Y. Jiao, Y. Wang, et al., *Adv. Drug Del. Rev.*, **60**(15), 1650 – 1667 (2008).
8. X. Z. Shu and K. J. Zhu, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **54**(2), 235 – 243 (2002).
9. A. K. Tiwary and V. Rana, *Pak. J. Pharm. Sci.*, **23**(4), 443 – 448 (2010).
10. X. Z. Shu, K. J. Zhu, W. H. Song, *Int. J. Pharm.*, **212**, 19 – 28 (2001).
11. X. Z. Shu and K. J. Zhu, *Int. J. Pharm.*, **201**(1), 51 – 58 (2000).
12. А. В. Ильина, В. П. Варламов, Ю. А. Ермаков и др., *Докл. акад. наук*, **421**(2), 199 – 201 (2008).
13. R. Bodmeier, K. H. Oh, Y. Prammar, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **15**(9), 1475 – 1494 (1989).
14. X. Z. Shu and K. J. Zhu, *Int. J. Pharm.*, **233**, 217 – 225 (2002).
15. X. Z. Shu and K. J. Zhu, *J. Microencapsulation*, **18**(2), 237 – 245 (2001).
16. S. Nripendra and C. D. Upasani, *IOSR J. Pharm. Biol. Sci.*, **7**(2), 31 – 35 (2013).
17. A. Aryaei, A. H. Jayatissa, A. C. Jayasuriya, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, **5**(1), 82 – 89 (2012).
18. J. Varshosaz, S. Karimzadeh, *Res. Pharm. Sci.*, **2**, 43 – 52 (2007).
19. J. Berger, M. Reist, J. M. Mayer, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **57**(1), 19 – 34 (2004).
20. J. A. Dean (ed.), *Lange's Handbook of Chemistry 13<sup>th</sup> Edition*, McGraw-Hill, New York (1972), pp. 16 – 17.
21. M. Pierog, M. Gierszewska-Drużyńska, J. Ostrowska-Czubenko, *Prog. Chem. Appl. Chitin Deriv.*, **75**, 15 – 22 (2009).
22. D. E. C. Corbridge and E. J. Lowe, *J. Chem Soc.*, 493 – 502 (1954).
23. F. L. Mi, S. S. Shyu, T. Wong, et al., *J. Appl. Polym. Sci.*, **74**(5), 1093 – 1107 (1999).
24. D. R. Bhumkar and V. B. Pokharkar, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **7**(2), E138 – E143 (2006).

Поступила 24.12.14

## STUDYING THE FORMATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE FILM MATERIALS BASED ON CHITOSAN MODIFIED WITH POLYPHOSPHATES

M. A. Kasatkina<sup>1</sup>, I. A. Budantseva<sup>2</sup>, and N. R. Kil'deeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Moscow State University of Design and Technology, Moscow, 117997 Russia;

<sup>2</sup> A. N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117342 Russia

We have studied the formation of film materials by surface modification of chitosan with ionic cross-linking agents – sodium tripolyphosphate and potassium pyrophosphate. Optimum cross-linking conditions were determined by studying the laws of interaction between chitosan with various degrees of protonation of amino groups and polyphosphates containing various numbers of ionized groups. It is established that, by varying the treatment time, it is possible to change the degree of swelling from 165 to 148% in the case of potassium pyrophosphate and from 196 to 80% in the case of sodium tripolyphosphate. Measurements of the kinetic of drug release showed that, by changing the conditions of chitosan modification by polyphosphates, the time of active component release can be increased up to 8 h.

**Keywords:** chitosan; film materials; polyphosphates.