

ПОЛУЧЕНИЕ КАПСУЛ И ГРАНУЛ НА ОСНОВЕ ФОСФАТОВ ДЕКСТРАНА И ХИТОЗАНА ДЛЯ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ВЕЩЕСТВА ПРОСПИДИНА

Черкасова А.В.^{1,2}, Соломевич С.О.²

*1Белорусский государственный университет, Минск,
2НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета, Минск,
sasha.chierkasova.2001@mail.ru*

В данной работе были изучены закономерности формирования хитозан/декстран-фосфатных капсул (CS-DP) с гидрогелевым ядром за счет образования полиэлектролитных комплексов и кальций/декстранфосфатных гранул (Ca-DP) методом ионного гелеобразования в качестве носителей для доставки противоопухолевого вещества проспицина. Были установлены условия получения капсул и гранул и их морфология. Показано, что величина равновесного набухания для капсул больше, чем для гранул, и зависит от pH среды. Было показано, что капсулы CS-DP характеризуются большей сорбционной способностью по отношению к проспицину в сравнении с гранулами Ca-DP. Кинетика высвобождения цитостатика из CS-DP и Ca-DP была исследована *in vitro* при различных значениях pH, и было доказано пролонгированное высвобождение проспицина. Таким образом, впервые синтезированные pH-чувствительные гранулы Ca-DP и капсулы CS-DP являются перспективными кандидатами для использования в качестве новых систем доставки лекарств.

Ключевые слова: хитозан, фосфат декстрана, проспицин, полиэлектролитные комплексы, капсулы, гранулы, высвобождение.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время исключительный интерес в качестве систем доставки лекарственных веществ представляют полиэлектролитные комплексы (ПЭК) на основе полисахаридов, получаемые взаимодействием двух полиэлектролитных полимеров за счет сильной, но обратимой электростатической и диполь-дипольной ассоциации, а также реализации водородных и гидрофобных связей функционально-активных полисахаридов [1,2]. В отличие от химически сшитых комплексов, ПЭК обычно нетоксичны, соответствуют критериям биodeградации и биосовместимости [3]. В качестве катионного полисахарида для формирования ПЭК наиболее часто используется хитозан, полиэлектролитные комплексы которого с рядом природных и синтетических полианионов представляют интерес для использования в пищевой промышленности, биомедицине, фармации, в том числе и в качестве систем доставки лекарственных веществ. Фосфаты полисахаридов представляют особый интерес в создании ПЭК с хитозаном, потому что они

характеризуются низкой токсичностью, биоразлагаемостью, биосовместимостью, высокой сорбционной способностью по отношению к низко- и высокомолекулярным биологически активным веществам [4].

Проспидин (Pr) является широко используемым для лечения многих видов злокачественных новообразований противоопухолевым веществом, обладает местным типом действия, хотя и демонстрирует разную степень активности, что связано с быстрым выведением цитостатика из организма [5]. Целью этой работы было получение новых лекарственных форм проспирина в виде хитозан/декстранфосфатных капсул (CS-DP) с гидрогелевым ядром за счет образования полиэлектролитных комплексов и кальций/декстранфосфатных гранул (Ca-DP) за счет ионного сшивания кальцием и сравнение для них степени иммобилизации и скорости релиза противоопухолевого вещества.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В данной работе в качестве исходных материалов использовали фосфат декстрана с содержанием фосфатных групп 2,29 и 2,53 ммоль/г для водорастворимого (среднемассовая молекулярная масса 271 кДа) и гелеобразующего (степень набухания в воде 82 г/г) образцов, соответственно, хитозан (среднемассовая молекулярная масса 181 кДа, степень деацетилирования 77,8%) и фармакопейную субстанцию проспирина хлорид (далее проспидин), синтезированную в УП «Унитехпром БГУ».

Гранулы Ca-DP, нагруженные проспидином (Pr-Ca-DP), были получены методом ионного гелеобразования. Для этого к раствору фосфата декстрана (40 мг/мл) добавляли раствор проспирина (20 мг/мл) при постоянном перемешивании, выдерживали в течение 1 часа для сорбции лекарственного вещества, полученный раствор по каплям добавляли к 3% раствору ацетата кальция. Процесс получения CS-DP, нагруженного проспидином (Pr-CS-DP), включал измельчение в лабораторном блендере, просеивание и коллекционирование порошков фосфата декстрана размером от 0,25 мм до 0,50 мм и от 1,00 мм до 1,50 мм (полученные затем на их основе капсулы далее были обозначены как CS-DP-S и CS-DP-B, соответственно). 50 мг полученных сухих порошков постепенно добавляли при перемешивании к 100 мг хитозана, растворенного в 25 мл 0,1 М уксусной кислоты, и оставляли на одни сутки для формирования капсул. 1,25 мл раствора проспирина (20 мг/мл) добавляли к капсулам и выдерживали в течение 8 часов для иммобилизации цитостатика. Полученные гранулы и капсулы были промыты деионизированной водой и лиофильно высушены в течение 48 часов.

Морфологию структурных элементов гранул Ca-DP и капсул CS-DP исследовали методом сканирующей электронной микроскопии на электронном микроскопе LEO 1420. pH-зависимое набухание гранул Ca-DP и капсул CS-DP было изучено путем погружения образцов в буферные растворы с pH 2,0 и 7,4 [5]. Высвобождение проспирина проводили в фосфатный буферный солевой раствор (pH 7,4 и 2,0) через диализную целлофановую мембрану [6]. Количество иммобилизованного и высвобожденного проспирина определяли модифицированным методом Кьельдаля [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

Образование CS-DP с гидрогелевым ядром происходит за счет формирования полиэлектролитных комплексов при набухании гелеобразующего фосфата декстрана в растворе хитозана. В результате ядро капсул состоит преимущественно из гидрогеля фосфата декстрана и небольшого количества хитозана. Общее содержание фосфата декстрана в составе капсул составило 87,8% для CS-DP-S и 92,4% для CS-DP-B.

Было показано, что оптимальным массовым соотношением полисахаридов для формирования капсул является хитозан : фосфат декстрана = 2 : 1, в то время как при повышении содержания фосфата декстрана капсулы не могли быть сформированы из-за слипания частиц при их набухании. В результате такого способа синтеза CS-DP капсулы имеют неправильную форму, однако остаются стабильными при различных значениях pH в течение достаточно продолжительного времени. Было установлено, что оптимальная концентрация ацетата кальция для образования сферических гранул Ca-DP составляет 2-4%. Когда молярное соотношение выходило за пределы этого диапазона, гранулы не могли быть сформированы или имели плохую сферичность.

Полученные в ходе исследования данные (таблица 1) показали, что наибольшую степень набухания имеют капсулы CS-DP-S и CS-DP-B в среде с pH 7,4. Равновесное набухание для таких образцов составило 22,2 и 22,9 г/г, соответственно. В случае гранул Ca-DP равновесное набухание статистически не отличается при изменении pH из-за того, что большинство фосфорнокислых групп было связано ионами кальция.

Таблица 1

Равновесная степень набухания изученных образцов

Степень набухания, г/г					
Ca-DP		CS-DP-S		CS-DP-B	
pH 2,0	pH 7,4	pH 2,0	pH 7,4	pH 2,0	pH 7,4
6,3	7,5	11,6	22,2	12,8	22,9

При изучении сорбции противоопухолевого вещества проспицина были показано, что капсулы CS-DP по сравнению с гранулами Ca-DP проявляют значительно большую сорбционную способность по отношению к цитостатику (таблица 2). Данный факт можно объяснить отчасти различным строением капсул и гранул, что было подтверждено исследованием структуры образцов методом сканирующей электронной микроскопии. Т.к. капсулы имеют более пористую и волокнистую структуру, это позволяет большему количеству противоопухолевого вещества проникнуть в полость полимера. Для CS-DP количество инкапсулированного проспицина составляло более 90%, в то время как для Ca-DP не достигало и 40% также из-за того, что значительная часть фосфатных групп была связана ионами кальция и не могла взаимодействовать с цитостатиком [6].

Таблица 2

Инкапсуляция проспицина гранулами Ca-DP и капсулами CS-DP

Инкапсуляция, %		
Ca-DP	CS-DP-S	CS-DP-B
33,6	87,4	91,3

Все изученные образцы показали значительное пролонгирование высвобождения через целлофановую мембрану в сравнении с раствором проспицина за счет связывания цитостатика в результате ионно-обменной сорбции и/или его распределения в матрице образцов во время набухания. Количество высвобожденного вещества для растворимого фосфата декстрана, гелеобразующего фосфата декстрана, Ca-DP, CS-DP-S и CS-DP-B составило $91,5 \pm 3,9\%$, $68,5 \pm 2,4\%$, $34,8 \pm 1,4\%$, $20,3 \pm 1,6\%$ и $26,8\% \pm 2,4\%$ через 24 ч при pH 2,0 соответственно.

В случае Ca-DP уменьшение скорости высвобождения связано с низкой пористостью в результате связывания модифицированного полисахарида ионами кальция. Уменьшение скорости высвобождения проспицина для CS-DP капсул происходит за счет покрытия капсул хитозаном и, как результат, уменьшения пористости поверхности капсул при этом взаимодействии. Скорость высвобождения для Ca-DP выше в pH 2,0 по сравнению с pH 7,4 из-за того, что они могут подвергаться кислотнo-катализируемому гидролизу [5]. Для CS-DP имела место обратная тенденция, а именно большая скорость высвобождения наблюдалась при pH 7,4 по сравнению с pH 2,0, что связано с депротонированием аминогрупп хитозана при повышении pH и ослаблением их взаимодействий с фосфатными группами. Скорость высвобождения противоопухолевого вещества ниже для CS-DP-B в сравнении с CS-DP-S, что может быть объяснено большим размером капсул, и, соответственно, более долгой диффузией лекарства. Резкого высвобождения не наблюдалось для CS-DP при различном pH и для Ca-DP в pH 2,0 несмотря на существенное уменьшение равновесной

степени набухания при изменении pH, что связано с сильным взаимодействием между фосфатом декстрана и проспидином и выравниванием профиля высвобождения при использовании капсул и гранул в сравнении с гидрогелями модифицированного полисахарида [6].

Библиографические ссылки

1. D. Wu, L. Zhu, Y. Li, X. Zhang, S. Xu, G. Yang, T. Delair, Chitosan-based Colloidal Polyelectrolyte Complexes for Drug Delivery: A Review, *Carbohydr. Polym.* 238 (2020) 116126.
2. X. Yang, H. Du, J. Liu, G. Zhai, Advanced Nanocarriers Based on Heparin and Its Derivatives for Cancer Management, *Biomacromolecules*. 16 (2015) 423–436.
3. S.J. de Jong, B. van Eerdenbrugh, C.F. van Nostrum, J.J. Kettenes-van den Bosch, W.E. Hennink, Physically crosslinked dextran hydrogels by stereocomplex formation of lactic acid oligomers: degradation and protein release behavior, *J. Control. Release*. 71 (2001) 261–275.
4. D. Merino, A.Y. Mansilla, T.J. Gutiérrez, C.A. Casalongué, V.A. Alvarez, Chitosan coated-phosphorylated starch films: Water interaction, transparency and antibacterial properties, *React. Funct. Polym.* 131 (2018) 445–453.
5. S.O. Solomevich, P.M. Bychkovsky, T.L. Yurkshtovich, N. V. Golub, P.Y. Mirchuk, M.Y. Revtovich, A.I. Shmak, Biodegradable pH-sensitive prospidine-loaded dextran phosphate based hydrogels for local tumor therapy, *Carbohydr. Polym.* 226 (2019) 115308.
6. Solomevich, S. O. Millimeter-sized chitosan/dextran phosphate capsules and calcium/dextran phosphate beads for regulating prospidine release / S. O. Solomevich, A. V. Cherkasova, D. A. Salamevich, // *Materials Letters*. 8 (2021) 129720.