

ОЦЕНКА ТЕМПОВ ВЫХОДА ПАРАЦЕТАМОЛА ИЗ СИНТЕТИЧЕСКИХ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МАТРИКСОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИКАПРОЛАКТОНА

А.А. Ракина, Е.А. Генке

aar37@tpu.ru

Научный руководитель: Твердохлебов С.И., к.ф.-м.н., Физико-технический институт, кафедра экспериментальной физики

Сегодня в научном сообществе активно обсуждаются адресная доставка и возможности контролируемого высвобождения плохо растворимых в воде лекарственных препаратов. Причины этого просты: во-первых, локализация препарата позволит ускорить процесс его воздействия и, во-вторых, позволит сократить необходимые дозы, что облегчит прием для детей и стариков, а контролируемое высвобождение приведет к тому, что материал будет «пить таблетки за вас», постепенно передавая организму определенные объемы лекарства. В частности, весьма перспективными материалами для реализации эффективной доставки лекарств в организм человека представляются синтетические биodeградируемые полимерные матриксы на основе поликапролактона (PCL) и нерастворимого в воде лекарственного препарата, получаемые методом электроспиннинга [1]. Хорошие результаты были достигнуты включением в подобную матрицу ибупрофена и карведилола [2]. Целью данного исследования было создание опытных образцов матриксов на основе PCL и парацетамола и оценка темпов выхода препарата в буферную среду.

Для приготовления прядильных растворов были использованы поликапролактон (PCL) $M \sim 70,000\text{--}90,000$ г / моль (Sigma-Aldrich, Германия), гексафторизопропанол (ГФИП) (Экос-1, Россия), парацетамол (Shandong Xinhua Pharmaceutical, Китай). Фосфатно-солевой буферный раствор ($pH = 7,4$) получали путем смешивания 200 мл дистиллированной воды с 2 таблетками порошка фос-фатно-солевого буфера (Биолот, Россия).

Контрольный раствор PCL (7 мас. %) готовили путем растворения 4,5 г гранул PCL в 59,8 г ГФИП. Для приготовления (8 мас. %, 16 мас. %, 32 мас. %, в пересчете на сухую массу полимера) растворов PCL с парацетамолом, в предварительно растворенный в ГФИП порошок парацетамола добавляли 4,5 г гранул PCL, затем добавляли остальную массу растворителя (в расчете 59,8 г на весь раствор). Смеси выдерживали в течение 30 ч при комнатной температуре в герметичных стеклянных контейнерах до полной гомогенизации.

Формование волокнистого материала выполнялось на установке для электроспиннинга Nanop-01 (MECC CO., Япония) на цилиндрическом коллекторе диаметром 200 мм при средней температуре в камере 23 °С и относительной влажности $\phi = 15$ %. Параметры процесса, использованные в данном исследовании, приведены в таблице 1.

Таблица 1. Параметры процесса, оптимизированные для подготовки нановолокон PCL, загруженных парацетамолом

Параметр, ед. измерения	Значение	Параметр, ед. измерения	Значение
Напряжение, кВ	20	Ширина матрикса, мм	70
Скорость подачи, мл/ч	5	Диаметр иглы, мм	1.2 (18G)
Скорость вращения коллектора, об/мин	50	Расстояние между иглой и коллектором, мм	150
Объем раствора, мл	8	Частота/интервал очистки иглы, мин	10/0

Полученные матриксы показали различную адгезию к коллектору, которая усиливалась с увеличением концентрации лекарственного средства. Для отделения матрикса с загруженным парацетамолом от поверхности коллектора без повреждения структуры материала был использован изопропиловый спирт в качестве увлажняющего агента. После отделения образцы были помещены в лабораторную вакуумную камеру на 24 часа (5×10^{-3} кПа) для удаления остаточных растворителей.

Средний диаметр нановолокон определялся с помощью СЭМ (Quanta 200 3D Dual Beam, FEI Company, США). Представители каждой группы образцов, помещенные на токопроводящий скотч, подвергались напылению тонкого слоя золота, чтобы обеспечить электрический контакт материала с подложкой и предотвратить накопление отрицательного заряда на поверхности образцов. 100 слу-

чайным образом выбранных волокон были измерены с использованием программного обеспечения ImageJ (NH, USA). Средний диаметр волокна и его стандартное отклонение указаны на рис. 1.

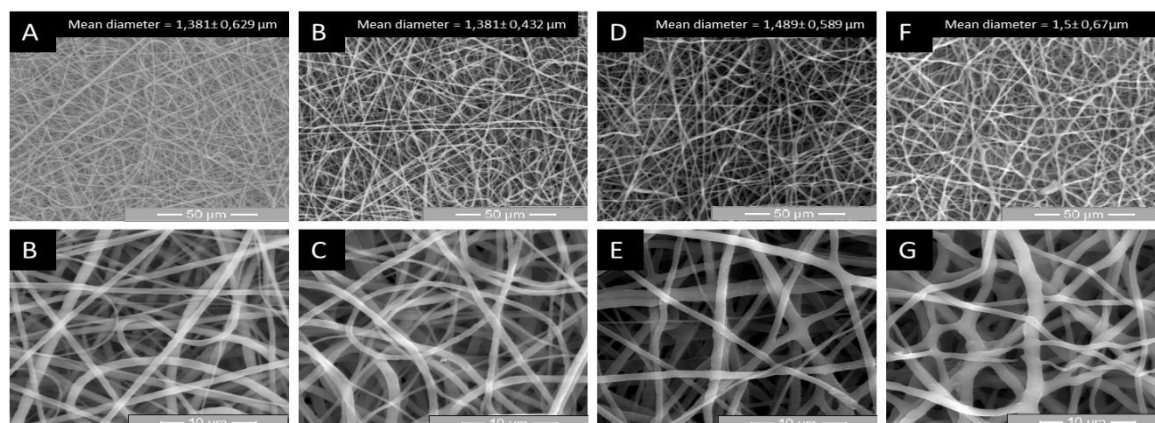


Рисунок 1. СЭМ-изображения нановолокон PCL с концентрацией 8 мас. % (B($\times 1000$), C($\times 20000$)), 16 мас. % (D, E), 32 мас. % (F, G) парацетамола (от массы сухого полимера) и контрольного образца (A, B).

Электроспиннинг прядильных растворов по выбранным параметрам (таблица 1) позволил получить ориентированные случайным образом волокна с высокоразвитой поверхностью. Были успешно получены матриксы с высоким содержанием парацетамола (рис. 1, F, G). Высокое содержание лекарственного вещества влияет на морфологию матриксов, как показано на рис. 1 и сообщалось ранее в работах [3,4]. На СЭМ-изображениях сформованных с включением парацетамола матриксов видны нановолокна с гладкой поверхностью, без видимых кристаллов, что указывает на полное проникновение парацетамола в тело волокон. В то же время, заметна тенденция к слипанию волокон при увеличении содержания лекарственного препарата. На макроскопическом уровне это явление коррелирует с изменением адгезии между матриксом и коллектором.

Для первичного анализа скорости выхода парацетамола из матрикса был выбран матрикс с 16 масс. % содержанием парацетамола. Из матрикса были вырезаны четыре квадратных образца площадью 35 мм $\times$ 35 мм. Образцы были помещены в четыре стеклянных сосуда и закреплены с помощью держателей из нержавеющей стали. Затем 35 мл фосфатно-солевого буфера (pH = 7,2–7,4), выбранного в качестве среды, моделирующей физиологические жидкости, добавляли к каждому образцу так, чтобы полностью покрыть его поверхность. Образцы выдерживались при комнатной температуре в течение двух недель на магнитной мешалке. Через заранее определенные промежутки времени 200 мкл раствора отбирали на пробу и возвращали равный объем чистого буфера. После центрифугирования (3 мин, 50000 оборотов в минуту) образец анализировали с помощью ВЭЖХ (Agilent 1200 Infinity, Agilent Technologies, USA) для определения концентрации парацетамола. Анализ проводили с использованием колонки C18 (3,5 мкм, 75 мм $\times$ 2 мм, МИЛИХРОМ, Россия) при 35 °С. Подвижная фаза – ацетонитрил и трифторуксусная кислота в объемном соотношении 90:10. Скорость потока элюэнта – 0,2 мл/мин, парацетамол определяли с помощью детектора диодной матрицы на длине волны 240 нм.

По результатам ВЭЖХ строились кинетические зависимости (рис. 2).

В первые 10 минут эксперимента происходит резкий скачок концентрации парацетамола, и затем наступает область насыщения. Концентрация, при достижении которой выход лекарственного препарата значительно замедляется, соответствует 60 %.

Такие быстрые темпы выхода парацетамола могут быть объяснены тем, что лекарство концентрируется преимущественно на поверхности нановолокон, а величина совокупной площади поверхности материала существенно превосходит величину его объема. Также, тот факт, что концентрация парацетамола в буферном растворе не увеличивается по достижении 60 %, возможно связан, с тем, что часть лекарства могла быть удалена вместе со спиртом в процессе отделения материала от коллектора.

Полученные результаты показали, что метод электроспиннинга может быть использован для получения нановолокон PCL с высокой концентрацией парацетамола. Для матрикса с содержанием парацетамола 16 мас. % показано, что интенсивный процесс выхода крайне короток и занимает около 10 минут, что указывает на локализацию вещества преимущественно на поверхности нановолокон.

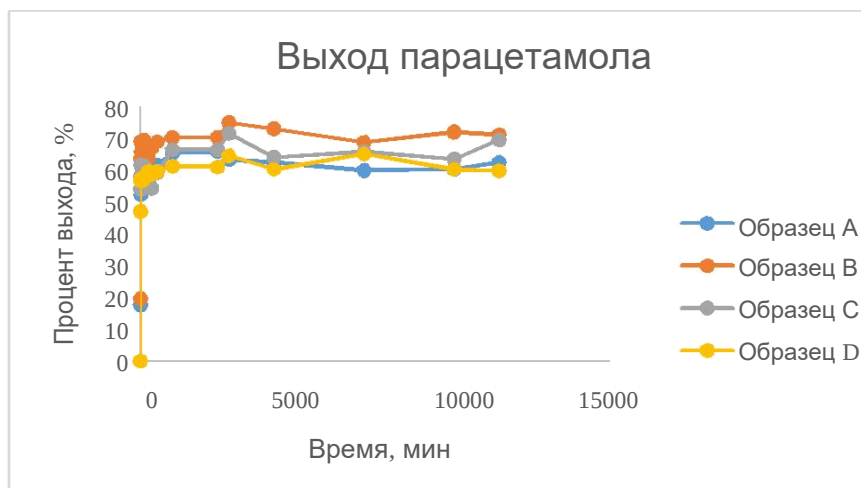


Рисунок 2. Кинетические зависимости выхода парацетамола из матриксов в буферном растворе

В дальнейшем для более детальной оценки исследуемых процессов необходимо произвести дополнительные исследования материала: изучение распределения массы препарата на поверхности и в объеме матрикса и точное определение фактического содержания лекарства в образце после за-вершения всех операций синтеза и обработки.

В целом, формирование нановолоконных материалов методом электроспиннинга представляет собой многообещающий подход к адресной доставке и контролируемому выходу плохо растворимых в воде лекарственных средств.

Исследование было финансово поддержано Министерством образования и науки Российской Федерации, Федеральная целевая программа (соглашение № 14.578.21.0031, уникальный идентификатор RFMEFI57814X0031).

Список литературы

1. Precipitation casting of polycaprolactone for applications in tissue engineering and drug delivery / A.G. A.Coombes et al. //Biomaterials. – 2004. – Т. 25. – №. 2. – С. 315–325.
2. Liu H., Leonas K.K., Zhao Y. Antimicrobial properties and release profile of ampicillin from electrospon poly (ϵ -caprolactone) nanofiber yarns / H. Liu, K.K. Leonas, Y. Zhao // J Eng Fiber Fabr. – 2010. – Т. 5. – №. 4. – С. 10–19.
3. Electrospun polycaprolactone nanofibers as a potential oromucosal delivery system for poorly water-soluble drugs / T. Potrč et al. // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2015. – Т. 75. – С. 101–113.
4. Controlled release of metronidazole benzoate from poly ϵ -caprolactone electrospun nanofibers for periodontal diseases / M. Zamani et al. // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2010. – Т. 75. – №. 2. – С. 179–185.