

**НАСРИДДИНОВ
АБУБАКР САИДКУЛОВИЧ**

**Физико-химические основы получения гидрогелевых композиций на основе
пектина и зеина кукурузы**

02.00.04 –Физическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук



Работа выполнена в лаборатории «Высокомолекулярные соединения» Института химии им. В.И. Никитина Академии наук Республики Таджикистан.

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Мухидинов Зайниддин Камарович

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Исобаев Музафар Джумаевич

кандидат химических наук, доцент.
Раджабов Умарали Раджабович

Ведущая организация: Таджикский Национальный университет,
кафедра физической и коллоидной химии.

Защита диссертации состоится «11» апреля 2012 г. в 12. 00 часов на заседании диссертационного совета ДМ.047.003.01 при Институте химии им. В.И. Никитина АН РТ по адресу: 734063, Душанбе, ул. Айни, 299/2 e-mail: gulchera@list.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института химии им. В. И. Никитина Академии наук Республики Таджикистан по адресу: 734063, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2.

Автореферат разослан: « 10 » Марта 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук



Касымова Г.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Трехмерно сшитые биополимерные гидрогели являются наиболее привлекательными объектами исследования в качестве носителей активных веществ и гелей-абсорбентов. Благодаря уникальному набору физико-химических свойств, они широко применяются в различных областях медицины, сельского хозяйства, биотехнологии, электроники и т.д.

Уровень организации пористой структуры гидрогелей можно контролировать путем изменения смешанных составов биополимеров, их поперечных связей и способности набухать в различных средах. Путем изменения пористости геля можно достичь эффективности инкапсулирования лекарственных веществ (ЛВ), пищевых ингредиентов (ПИ) и высвобождения этих веществ из гидрогелевых матриц посредством контролируемой диффузии. На самом деле, эффективность гидрогелей, в качестве систем доставки ЛВ (СДЛ), зависит от фармакокинетических параметров ЛВ и ПИ в практических условиях: чем дольше скорость высвобождения, тем эффективнее созданная система.

В настоящее время в рационе питания большинства населения преобладает высокое потребление жиров, сахаров и углеводов. К тому же, ухудшающаяся экологическая обстановка приводит к резкому увеличению заболеваний желудочно – кишечного тракта (ЖКТ), печени, поджелудочной железы, сердечно – сосудистой системы, заболеваний, связанных с нарушением обмена веществ (ожирение, сахарный диабет и др.). Следует отметить, что создание носителей ЛВ и продуктов питания нового поколения в настоящее время немыслимо без применения пищевых и биологически активных добавок, обладающих детоксикационными и радиопротекторными свойствами.

Перспективными исходными реагентами для получения таких гидрогелей являются полисахариды и белки. Разработка физико-химических основ получения функциональных материалов для хранения и упаковки сельскохозяйственных продуктов, и особенно для безопасной доставки ЛВ в нужный участок организма, представляет чрезвычайно актуальную научно-техническую задачу современной науки.

В связи с этим, изучение физико-химических особенностей формирования комплексов пектина различной природы с зеином кукурузы, для создания новых композиционных систем, способных осуществлять контролируемое высвобождение находящихся в них компонентов, представляет собой актуальную задачу.

Работа проводилась в соответствии с планом НИР Института химии им. В.И. Никитина АН Республики Таджикистан «Поиск и создание новых полимерных материалов и биологически активных веществ на базе продуктов синтетического и растительного сырья» (ГР №0106ТД414) и проекта МНТЦ Т-1419.

Цель и задачи исследования. Целью диссертационной работы является физико-химическое обоснование процессов получения гидрогелевых микросфер на основе пектина и зеина кукурузы, с участием сшивающих металлов (кальция и цинка), и изучение диффузии и кинетики высвобождения активного ингредиента из них.

Для выполнения поставленной цели были решены следующие задачи:

- изучено влияние состава растворителя и состояния исходного сырья на выход зеина кукурузы и его физико-химическую характеристику;
- разработаны физико-химические методы анализа компонентного состава зеина;
- изучено формирование пектин-зеиновых гидрогелей на основе различных пектинов и зеина с участием ионов двухвалентных металлов (Ca^{2+} и Zn^{2+});
- изучено влияние типа пектина, соотношения компонентов на выход гидрогелевых микросфер, степень их набухания и адсорбцию модельного вещества;
- выявлены общие закономерности в выборе оптимальной матрицы-носителя гидрогелевых микросфер с максимальной степенью адсорбции модельного ЛВ;
- изучены процесс диффузии и кинетика высвобождения модельного ЛВ из гидрогелевых микросфер.

Научная новизна работы:

- ✓ впервые, методом турбидиметрического титрования (ТТ) определён фракционный состав зеина кукурузы, указывающий на широкое молекулярно-массовое распределение макромолекул зеина и существование пяти макромолекулярных фракций;
- ✓ методом ТТ и ИК-Фурье спектроскопии изучен процесс формирования комплексов и установлено, что в системе пектин/зеин образуются два типа комплексов: иотропное, пектин- Ca^{2+} - зеин, и лиотропное, посредством электростатического, гидрофобного взаимодействий и коацервации двух биополимеров;
- ✓ найден оптимизированный состав гидрогелей с низкомолекулярным яблочным пектином, пролонгирующий выход лекарств до 48 и более часов, что является важным для доставки ЛВ в кишечник;
- ✓ на основании кинетических исследований установлено, что с увеличением доли зеина в составе полимерной композиции, диффузия ЛВ замедляется и она становится лимитирующей стадией высвобождения ЛВ из матрицы.

Положения, выносимые на защиту:

- физико-химические основы формирования пектин-зеиновых гидрогелей с участием ионов двухвалентных металлов (Ca^{2+} и Zn^{2+}) и пектина из различных источников;
- разработка оптимальных условий для получения гидрогелевых микросфер с максимальной степенью адсорбции модельного ЛВ;
- изучение процессов диффузии и кинетики высвобождения модельного ЛВ из гидрогелевых микросфер.

Практическая значимость работы. Физико-химические аспекты формирования гидрогелевых композитов на основе низкометилированных (НМ)-пектинов и зеина кукурузы способствуют созданию гелеобразующих материалов, природных носителей лекарственных средств и сорбентов, которые могут найти применение в пищевой и фармацевтической отраслях промышленности.

Разработанные методики анализа фракционного состава зеинов кукурузы с применением гель электрофореза и турбидиметрии, могут быть применены при анализе гидрофобных белков из растительного материала.

Метод турбидиметрического титрования, как удобный инструмент, может быть использован для характеристики фракционного состава белков и изучения процесса формирования пектин-белковых комплексов.

Вклад автора в проведенное исследование состоял в подборе и анализе научной литературы, разработке методов анализа, проведении экспериментов, обработке экспериментальных данных, обсуждении и оформлении полученных результатов.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 статей и 9 тезисов докладов.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на Международной науч-прак. конференции «Перспективы развития науки и образования в XX I веке», (Душанбе, 2008г.); The 9th International Hydrocolloids Conference, Singapore, 15-19 June 2008; Международной научной конференции «Современные тенденции в химии полимеров», (Алматы, 2008г.); The 2nd International Symposium on Edible Plant Resources and Bioactive ingredients. Urumqi, China, July 28-August, 2010; The 16th Gum and Stabilisers for the Food Industry, Wageningen, the Nitherlands, 28 –June-1-July, 2011; 14th IUPAC International Symposium on Macromolecular Complexes (MMC), University of Helsinki, Helsinki, Finland, 14-17 August, 2011.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой отечественной и зарубежной литературы, включающего 108 источников. Работа изложена на 100 страницах компьютерного текста, содержит 18 рисунков и 13 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Литературный обзор

Обобщены и проанализированы литературные данные, по характеристике пектинов и зеина кукурузы, формированию и свойствам перекрестно-сшитых гидрогелей и применению биополимерных носителей. На основании существующих теоретических и экспериментальных исследований сформулированы методологические подходы к формированию и свойствам перекрестно-сшитых гидрогелей; гидрогелей на основе пектина и белков как носителей пищевых ингредиентов и лекарственных веществ; поперечно сшитых гидрогелей на основе пектина и ионов двухвалентных металлов Zn^{2+} и Ca^{2+} ; применению биополимерных носителей для доставки ЛВ в желудочно-кишечный тракт.

Глава 2. Материалы и методы исследования

Описаны характеристика исходных материалов, способы очистки и методы контроля степени их чистоты. Приведены методы получения зеина кукурузы и пектинов из растительных материалов и физико-химические методы для их характеристики.

Описана процедура формирования гидрогелевых микросфер на основе пектина и зеина кукурузы и метод определения молекулярных масс пектинов.

Глава 3. Результаты и их обсуждение

1. Выделение и характеристика биополимеров

Результаты исследований показали, что в семенах кукурузы, выращенной в условиях Таджикистана, содержится 7.2% общего белка, из них 50% составляют пищевые растительные белки. Установлены оптимальные условия выделения зеина кукурузы с максимальным выходом и растворимого в этаноле.

Показано, что высоковольтный электрофорез в ПААГ при рН 3.1 в присутствие мочевины даёт хорошее разрешение и может быть использован при исследовании компонентного состава зеинов кукурузы.

По дифференциальной кривой турбидиметрического титрования установлено существование пяти макромолекулярных фракций, с узким молекулярно-массовым распределением. Профиль и распределение этих фракций указывают на наличие в зеине двух полипептидов: α -зеина (24 kDa и 26 kDa); γ -зеина (22 kDa); β -зеина (17 kDa) и δ -зеина, соответственно. Таким образом, показано, что для определения ММР протеинов, метод турбидиметрического титрования, может быть альтернативным в сравнении с такими дорогостоящими методами, как гель хроматография, ультрацентрифугирование и светорассеивание.

В работе были использованы пектиновые полисахариды из яблок и подсолнечника, полученные разработанным нами методом быстрого гидролиза-экстракции в автоклаве под давлением, и коммерческие цитрусовые пектины (CP Kelco, США). Концентрирование и очистку пектиновых веществ при этом проводили методом диа-ультрафильтрации. Качество пектина определяли путем измерения молекулярной массы методом гель-проникающей хроматографии на хроматографе с высоким разрешением (Waters, USA). Молекулярная масса пектинов определялась одновременно с помощью программного обеспечения ASTRA 5.3.2.15 (Wyatt Technology) и Breez (Waters).

2. Исследование комплексообразования НМ-пектина и зеина кукурузы

Турбидиметрическое титрование зеина пектинами

В работе использовали как ионотропный, так и лиотропный процессы гелеобразования для изучения механизма комплексообразования между зеином кукурузы и НМ-пектинами с помощью турбидиметрического метода.

Ионотропное гелеобразование низкометилированного пектина с участием ионов кальция является основой при создании носителей лекарственных препаратов. Однако высокая степень набухаемости пектина в физиологических условиях может способствовать преждевременному распаду, вследствие расширения размера пор геля. Предотвратить данный процесс можно за счет увеличения водостойкости пектина, которая достигается в комбинации с водостойкими материалами. Одним из таких материалов является спирторастворимый белок зерна кукурузы – зеин.

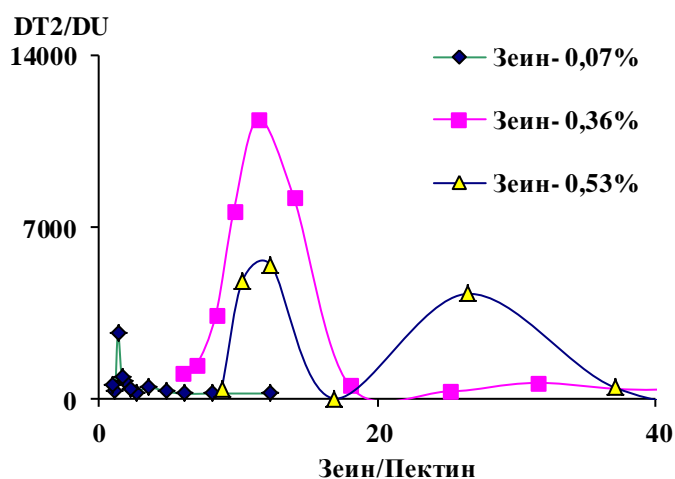
Наряду с НМ – яблочным пектинам также использовали коммерческий ЦНМ - пектин (GENU LM-12CG из CP Kelco, СЭ 38).

Поскольку зеин растворяется в этаноле, а пектин в воде, мы использовали процесс иотропного гелеобразования пектина с ионами кальция для вовлечения зеиновых кластеров в матрикс геля.

В данном случае стабилизированные ионами кальция межфазные адсорбционные слои, содержащие зеин и пектиновые цепи, обеспечивают исключительно высокую устойчивость гидрогелей. Для получения гидрогеля, 1,020 г. зеина растворяли в 30 мл этанола (94 %), путем предварительного замачивания порошка зеина для гидратации биополимера в 20 мл этанола подогретого до 40-50°C и промешивали, затем раствор центрифугировали при 6000 об/мин (4300g), объем раствора доводим до 100 мл. Не растворившуюся фракцию белка (около 17%) вычитывали при коррекции концентрации зеина.

Процесс образования комплексов контролировали методами: кондуктометрии (на приборе WTW GmbH Laboratory pH meter inoLab ph conductivity meter inoLab cond Level 1), pH метрии (на приборе WTW GmbH Laboratory pH-meter inoLab pH Level 1) и турбидиметрии (на приборе 2100 AN IS, HACH, USA). Комплексы получали путём постепенного добавления раствора пектина в 75% раствор этанола, содержащего зеин и хлористый кальций, при постоянном перемешивании. Количество Ca^{2+} брали в расчёте - 25 мг на 1 гр. пектина. Полученные данные показывают, что образование зеин-пектиновых комплексов проходит в узком интервале pH.

Рис 1. Дифференциальные кривые турбидиметрического титрования зеина 0,1% ным раствором пектина в присутствии 0,0028% CaCl_2 .



На рис 1. представлены дифференциальные кривые турбидиметрического титрования раствора зеина различной концентрации, в присутствии 0,0028% CaCl_2 , 0,1 % раствором пектина.

Во всех случаях pH растворов уменьшается от 5,5-6,0 до 3,5-4,0, что указывает на связывание ионов кальция в результате высвобождения ионов водорода карбоксильных групп пектина и протеина.

При низкой концентрации зеина появляется лишь слабое помутнение, из-за высокой скорости взаимодействия ионов кальция с полигалактуроновыми кислотами. С увеличением концентрации зеина и одновременно с уменьшением активности ионов кальция, наблюдается постепенный рост мутности растворов зеин-пектиновых комплексов, который проходит через максимум, указывающий на завершение процесса комплексообразования при оптимальном соотношении зеина и пектина равном 12. Дальнейшее прибавление раствора зеина к раствору пектина приводит к образованию второго пика мутности при соотношении зеина и пектина 27.

На рис 2. представлены кривые турбидиметрического титрования зеин-пектиновых комплексов в присутствии повышенной концентрации (0,028 %) CaCl_2 .

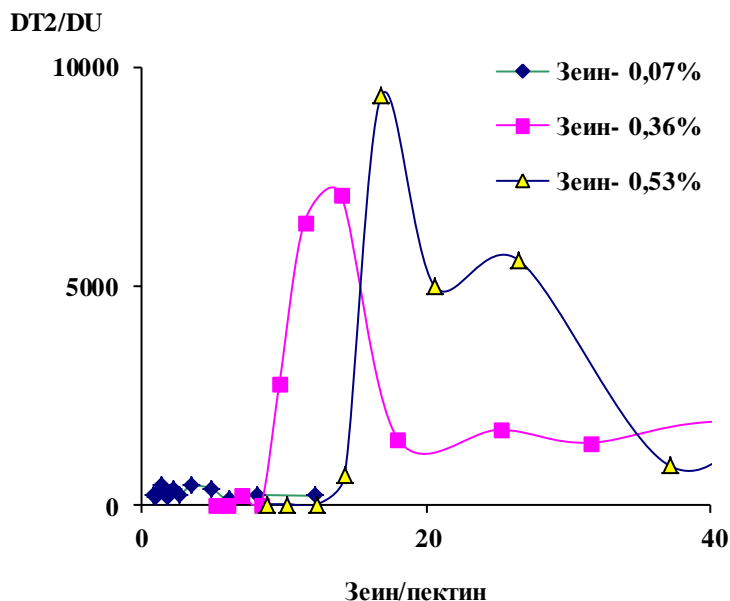


Рис 2. Дифференциальные кривые турбидиметрического титрования зеина 0,1% ным раствором пектина в присутствии 0,028% CaCl_2 .

Как видно, с увеличением концентрации CaCl_2 на порядок, дифференциальная единица нефелометрического помутнения по отношению к объемной доле пектина ($\Delta T_2/\Delta \gamma$) при концентрации

зеина 0,36 значительно увеличивается от 7000 до 11500. В данных условиях второй максимум на кривых исчезает, так как при взаимодействии пектина с кальцием весь зеин вовлекается в комплекс. В то же время, увеличение концентрации зеина приводит к образованию двух максимумов, указывающих на образование различных комплексов. Максимальная точка здесь появляется при соотношении зеина и пектина 13, для первого типа (пектин- Ca^{2+} -зеин), и 27, для второго типа (пектин-зеин) комплексов.

Бимодальное распределение кривых, вероятно, связано с образованием двух видов комплексов: пектин- Ca^{2+} -зеин и пектин-зеин, поскольку при увеличении концентрации зеина (0.53%) наблюдается увеличение интенсивности второго пика.

На рисунках также заметен сдвиг максимумов проявления мутности с возрастанием как концентрации зеина, так и ионов кальция, что связано с регулируемостью процесса гелеобразования в данной системе.

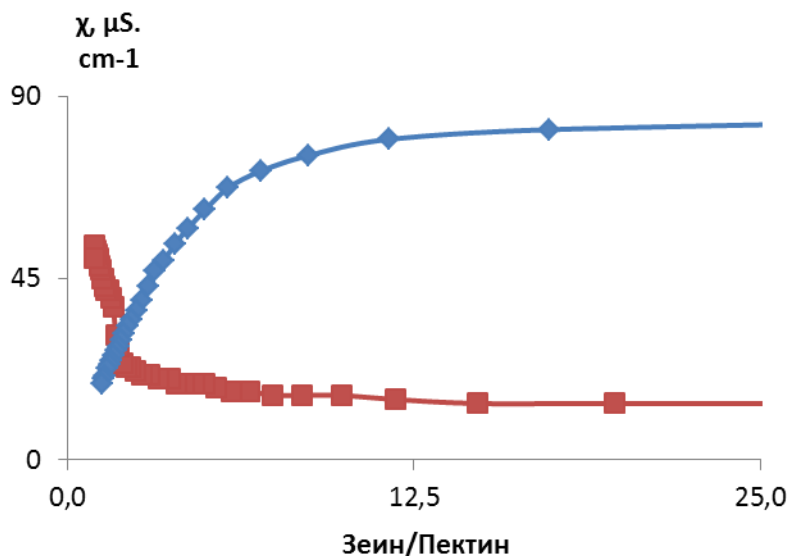


Рис 3. Кондуктометрические кривые титрования: верхняя линия 0,1% раствор зеина 0,1% раствором пектина; нижняя - 0,1% раствор пектина 0,1% раствором зеина.

На кривых кондуктометрического титрования (рис 3.) не наблюдается резкое изменение электропроводности раствора ком-

плексов, что позволяет предполагать что, комплексообразование происходит не за счёт электростатических взаимодействий, а за счёт коацервации биополимеров.

Таким образом, можно заключить, что методом турбидиметрического титрования, как наиболее простого инструмента для изучения процесса образования пектин-белкового комплекса, дана количественная оценка состава и структуры комплекса. Первый тип пектин-зеинового комплекса образуется в результате электростатического взаимодействия, в основном посредством поперечного связывания кальция с пектиновыми цепями при соотношении зеина и пектина до 17. Второй тип, вероятно, формируется путем гидрофобных взаимодействий или комплексных коацерваций двух биополимеров при соотношении зеина и пектина более 25.

3. Формирование гидрогелевых микросфер на основе зеина и пектина с инкапсулированным лекарственным веществом

А. Гидрогелевые микросферы на основе цитрусового НМ-31 пектина и зеина.

Задача настоящего исследования состояла в разработке условий получения пектин-зеиновых комплексов с инкапсулированным лекарством для возможного их применения в качестве лекарственного средства при лечении кишечных заболеваний.

В работе использовали пектины выделенные из цитрусов: ЦНМ-31 (GENU 12CG-CP Kelco,) и НМ-9 (GENU L/200-CP Kelco); В качестве модельного лекарства использовали нестероидный противовоспалительный препарат пироксикам (РХ).

Для получения смешанных гелей также использовали лактоглобулин (Lg), выделенный из молочной сыворотки.

Пектин-зеиновые комплексы формировались путём постепенного добавления раствора пектина к 75% спиртовому раствору зеина, содержащего РХ и CaCl_2 при комнатной температуре. Количество зеина варьировалось от 50 до 1000 мг, пектина от 200 до 350 мг, РХ 20 мг, во всех экспериментах, за исключением 5 при соотношении П/З - 1:1.4 (200 мг). Полученные комплексы промывали водой, 50% спиртом для удаления несвязанных компонентов и высушивали при 25-30°C до постоянного веса.

Для определения РХ, связанного в комплексы, отбирали 15 мг сухого материала, добавляли 10 мл 75% этанола, содержащего 0.4% NaOH, 0.5% Твин-20, термостатировали при 37°C в течение ночи и в аликвотах по калибровочному графику, построенному по стандартному РХ, определяли общее содержание РХ на спектрофотометре (UV 1 Thermo Spectronic, UK) при 355 нм.

В табл. 1. представлено соотношение основных компонентов, взятых для формирования комплексов с цитрусовым пектином и их характеристика: вес комплекса, степень набухания и количество связанного РХ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что степень насыщения РХ в комплексах зависит от соотношения П/З: чем больше зеина в комплексе, тем больше степень связывания РХ.

Таблица 1.

Соотношение компонентов для получения пектин-зеиновых комплексов и их характеристика

№	Зеин, мг	CaCl ₂ (2%), мл	РХ, мг	Пектин, мг	П/З соотн-е	V, мл	Выход компл., %	Степень набух-я	Кол-во инкапс. РХ
1	50	1.24	20	300	6:1	30	17,5	139.0	12.4
2	100	1.24	20	300	3:1	30	16,7	179.0	9.8
3	250	1.03	20	250	1:1	30	38,5	49.0	37.0
4	500	1.03	20	350	1:1.2	32	46,0	33.2	57.0
5	500	1.03	50	350	1:1.2	32	57,0	13.9	51.7
6	500	1.03	20	250	1:1.5	30	57,1	19.4	72.6
7	1000	0.83	20	200	1:5	30	65,6	7.5	93.8

На рис 4. показано влияние зеина на выход микросфер, степень их набухания и содержание инкапсулированного РХ.

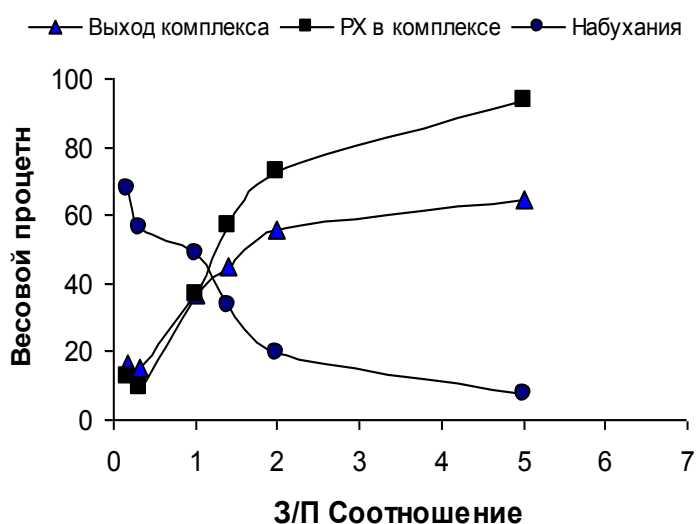
При всех соотношениях П/З, с увеличением содержания зеина от 1 до 5, эффективность инкапсулирования увеличивается от 9.8 до 93.8 масса.%.

Рис 4. Зависимость выхода микросфер, степени набухания и содержания РХ от соотношения З/П.

В то же время, необходимо отметить, что желаемый эффект не был достигнут при увеличении количества РХ в 10 раз при соотношении З/П =1.4:1. Это, по-видимому, связано с природой биополимеров и плотностью упаковки гидрофобных участков полимерной цепи. В данном случае можно утверждать, что в образовании комплексов участвуют энтальпийные факторы.

Следует отметить, что на свойства комплексов протеин/полисахарид оказывают влияние природа биополимеров, их соотношение, молекулярная масса, плотность заряда и ряд других факторов. В случае пектин-зеиновых комплексов следует предполагать, что взаимодействие происходит посредством ионных и водородных связей, поскольку гидрофобные взаимодействия незначительны.

Результаты турбидиметрического титрования в присутствии ионов кальция показали, что с увеличением концентрации CaCl₂ весь зеин вовлекается в комплекс. В то же время с увеличением концентрации зеина образуются два типа комплексов: пектин-Ca²⁺- зеин и пектин-зеин. Первый тип образуется, возможно, в результате электростатического взаимодействия, за счет поперечного связывания Ca²⁺ с пектиновыми цепями.



Второй тип, вероятно, путем слабых гидрофобных взаимодействий или коацервации двух биополимеров.

Как известно, одним из важных показателей для эффективного капсулирования лекарственного средства является степень набухания комплексов. Результаты наших исследований показали (табл 1.), что степень набухания зависит от соотношения пектина и зеина в комплексе: чем выше соотношение пектин/зеин, тем больше степень набухания. Высокая степень набухания отмечалась в комплексах с соотношением П/З = 6:1 и 3:1. Предполагается, что данные комплексы будут проявлять кинетику преждевременного распада с высвобождением лекарственного средства в условиях ЖКТ. Чем выше содержание зеина, тем ниже степень набухания, при этом вес комплексов заметно увеличивается. Наиболее оптимальными соотношениями П/З являются - 1:1, 1:1.2 и 1:1.5.

Необходимо отметить, что для доставки лекарственного средства в область прямой кишки требуется, чтобы инкапсулированное лекарство оставалось неповрежденным в верхней части ЖКТ и белковый матрикс был защищен от воздействия протеаз.

Для получения комплексов с инкапсулированным лекарством, стойких в верхней части ЖКТ, нами осуществлялась модификация экспериментов путем изменения соотношения П/З, концентрации сшивающих металлов, РХ и технологии получения комплексов. С этой целью комплексы формировались путем добавления раствора пектина, содержащего РХ к 75%-му спиртовому раствору зеина, содержащего CaCl_2 или ZnSO_4 , причем РХ и сшивающие металлы брали вдвое больше.

В. Гидрогелевые микросферы на основе цитрусового НМ-9 пектина и зеина

В данной части работы в качестве НМ пектина использовали высокомолекулярный цитрусовый НМ-9 пектин. Для сравнительной оценки в ряде экспериментов, ионы кальция заменяли на ионы цинка. Были получены также смешанные комплексы, включающие лактоглобулин – П/З/Lg. В этом случае к раствору пектина с РХ добавляли Lg и эту смесь, по каплям, приливали к спиртовому раствору зеина с CaCl_2 и без CaCl_2 . Полученные, таким образом, гидрогелевые комплексы промывали трижды 50% спиртом и высушивали. Содержание инкапсулированного РХ определяли последовательной экстракцией 75% этанолом и фосфатным буфером при pH 6.4. В табл. 2. представлено содержание основных компонентов для получения комплексов, содержащих пектин, зеин с инкапсулированным РХ.

З/П микросферы формировались двумя способами: а) путём добавления раствора пектина (12мл) к 75 об.% спиртовому раствору зеина (15мл), содержащему РХ и CaCl_2 (из расчета 30 мг Ca^{2+} на 1 г пектина) при комнатной температуре и перемешивании; б) путем прикапывания водного раствора пектина (12 мл), содержащего РХ в 3мл 75 об.% спирта к 13 мл смеси 75 об.% спиртового раствора зеина и солей двухвалентных металлов (CaCl_2 , ZnSO_4), причем РХ и сшивающие металлы брали вдвое больше. Концентрация зеина варьировалась от 50 до 1000 мг, пектина от 200 до 350 мг, РХ - 20 и 50 мг, во всех экспериментах, за исключением комплекса с соотношением З/П =1.4:1, где РХ брали в избытке (200 мг). Полученные комплексы промывали водой, 50 об.% этанолом, для удаления несвязанных компонентов, и высушивали при 25-30⁰С до постоянного веса.

Количество РХ связанного в комплексы, определяли по калибровочному графику, построенному по стандартному РХ, на спектрофотометре UV-1 Thermo Spectronic (UK) при 355 нм, по ранее описанному методу. Полученные микросферы отличались по структуре в зависимости от свойств пектинов. Были получены хорошо сформированные гидрогелевые микросферы, в форме шариков (табл 2.).

Таблица 2.

З/П гидрогелевые микрокапсулы на основе цитрусового НМ-9 пектина и их характеристика

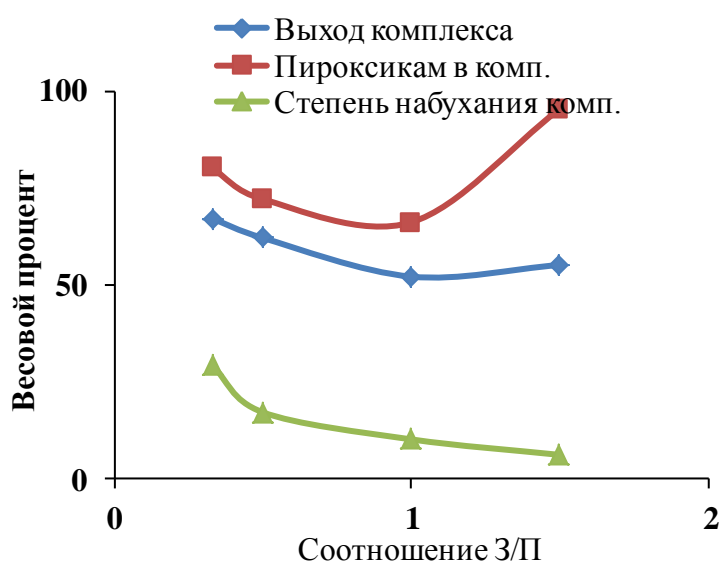
З/ П, Мас- саовое со- отно-е	Тип пектина	M ²⁺ , %		РХ, мг	Выход геля, %	Степень набухания	Сод-е РХ в компл- се, %
		Ca ²⁺	Zn ²⁺				
2:1	LM Citrus	3.70		50	66.70	13.69	75.80
1:3	LM Citrus	3.56		50	64.20	29.10	81.80
1.2:1	LM Citrus	2.02		50	46.60	21.00	95.20
1:1	LM Citrus	1.26		50	34.50	11.50	66.00
1:1	LM Citrus	2.44		50	76.30	10.33	66.00
1:1	LM Citrus	2.57		20	35.70	11.00	53.30
1:3	LM Citrus		1.85	50	61.20	31.10	86.00
1:2	LM Citrus		1.08	50	28.60	19.50	52.80
1.5:1	LM Citrus		1.27	50	45.00	16.00	80.60
2:1	LM Citrus		1.08	50	34.50	5.80	80.60

На рис 5. продемонстрирован характер изменения основных параметров гидрогелевых микросфер, полученных на основе цитрусового пектина НМ-9. Как видно, при высоком содержании одного из биополимеров, выход комплексов и содержание РХ имеют максимальные значения; а при равных соотношениях, эти параметры проходят через минимум.

Рис 5. Зависимость выхода микрокапсул, в присутствии ионов Ca²⁺, степени набухания и содержания РХ от соотношения З/П.

Как и в комплексах с цитрусовым НМ-31 пектином, полученных по первому способу, в данном случае степень набухания микросфер уменьшается с увеличением массовой доли зеина.

На рис 6. показано влияние количества ионов Ca²⁺ в микросферах, с соотношением З/П 1:1, на выход и содержание адсорбированного РХ. Как видно, максимальный выход комплекса наблюдается при содержании Ca²⁺ 2,02% , в то время как РХ больше адсор-



бируется при увеличении ионов Ca^{2+} до 2,44%. Полученные данные показывают, что регулируя содержанием ионов Ca^{2+} , можно получать комплексы с оптимальным выходом и высокой степенью инкапсулирования ЛВ.

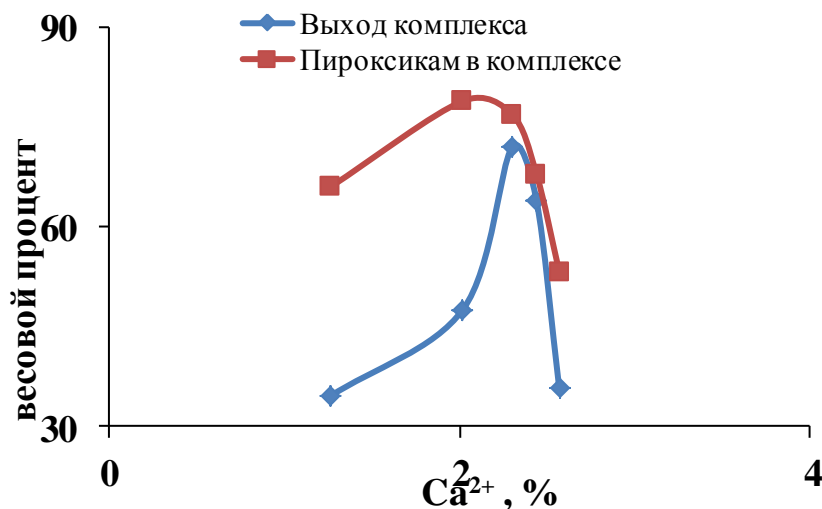
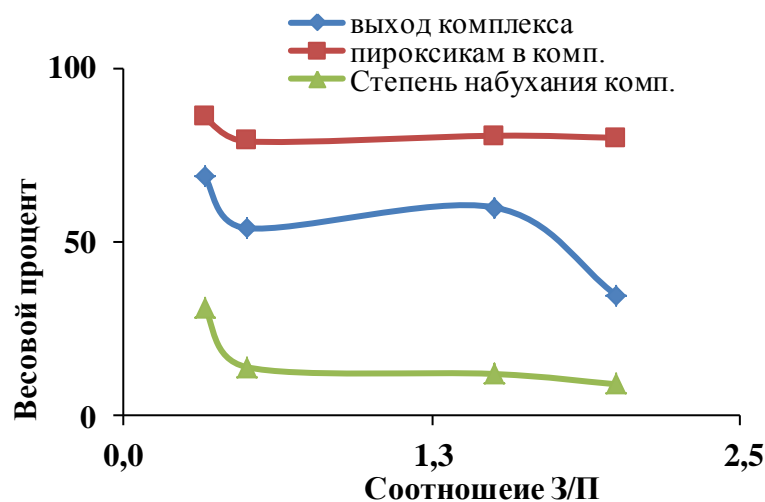


Рис 6. Влияние количества ионов Ca^{2+} на выход гидрогелевых микросфер и содержание инкапсулированного РХ: пектин цитрусовый НМ-9; соотношение З/П = 1:1.

При замене ионов Ca^{2+} на ионы Zn^{2+} (З/П = 1.2 и 3) масса гидрогелевых микросфер уменьшается незначительно, а степень

насыщения РХ при соотношении З/П 1.2 понижается от 95 до 80 масса %; а с увеличением доли пектина (З/П 1:3), наоборот, увеличивается от 81 до 86 масс. % (рис 7). В данном случае, как видно, характер изменения кривых такой же, как и на рис 5. за исключением значения степени набухания.

Рис 7. Зависимость выхода микросфер, степени набухания и содержания РХ от соотношения З/П: пектин цитрусовый – НМ-9, сшивающий металл Zn^{2+} .



Полученные данные подтверждают предположение о том, что ионы Zn^{2+} , по сравнению с ионами Ca^{2+} , как

сшивающие металлы, способствуют образованию более компактной структуры с пектином, что представляется важным при создании носителей ЛВ стойких к деградации в верхней части ЖКТ.

С. Гидрогелевые микросферы на основе яблочных ВМ- и НМ-пектинов и зеина.

З/П микросферы с ВМ-ЯПМ и НМ-ЯПШ яблочными пектинами с соотношением З/П 1:6, 1:1 и 2:1, были получены при аналогичных условиях. Из данных табл 3. следует, что комплексы с НМ-АМ пектином отличались большим весом и степенью набухания. Однако степень насыщения РХ была выше у комплексов с НМ-ЯПШ пектином.

Из представленных данных очевидно, что с увеличением содержания ионов Ca^{2+} в реакционной смеси повышался выход микросфер. При замене ионов Ca^{2+} на ионы Zn^{2+} , степень насыщения микросфер ЛВ при соотношении З/П 1:1 заметно увеличивалась, при этом выход несколько уменьшался, что подтверждает об образовании различных по структуре комплексов.

Таблица 3.

З/П гидрогелевые микросферы на основе яблочных пектинов (ВМ-ЯПМ и НМ-ЯПШ) и их характеристика

З/П, Мас- саовое соотн-е	Тип пектина	M^{2+} , %		РХ, мг	Выход ге- ля, %	Степень набухания	Сод-е РХ в геле, %
		Ca^{2+}	Zn^{2+}				
1:2	ВМ-ЯПМ	1,78		20	26,50	26.14	58.75
1:1	ВМ-ЯПМ	2,57		20	36,30	27.74	32.50
6:1	ВМ-ЯПМ	3,52		20	43,90	30.16	39.00
1:2	НМ-ЯПШ	1,78		20	30,90	5,25	66.00
1:1	НМ-ЯПШ	2,57		20	33,90	8,94	61.10
1:1	НМ-ЯПШ		1,62	20	25,00	16.71	71.50
1:6	НМ-ЯПШ	3,52		20	29,30	22.70	70.20

Как видно, с увеличением доли зеина в комплексе, количество захваченного ЛВ, также как в предыдущих случаях, проходит через минимум, а затем увеличивается, хотя выход микросфер на основе яблочного НМ-ЯПШ пектина заметно уменьшается. Однако, по сравнению с микросферами, полученные на основе цитрусового НМ-9 пектина, выход микросфер и содержание РХ с яблочным пектином почти в два раза меньше.

Однако степень связывания РХ в комплексы на основе НМ яблочного пектина НМ-ЯПШ в присутствии ионов двухвалентных металлов была больше, чем у ВМ-АМ пектина. Эти отличия, как уже отмечалось, связаны с особенностями структуры полисахарида, образующего с зеином коацерваты, способные захватывать ЛВ.

Если при формировании микросфер с использованием НМ-пектинов комплексы образуются, в основном, за счет поперечных связей с ионами двухвалентных металлов, то в случае с ВМ-пектином, за счет гидрофобных взаимодействий биополимеров. Это гипотеза подтверждается исчезновением полосы в области 1745 см^{-1} в ИК спектрах комплекса (рис.8), которую относят к валетным колебаниям карбонильных групп метилированных карбоксильных групп пектина ($-\text{COOCH}_3$). Анализ ИК-Фурье спектров пектин/зеин комплекса показал, что участие CH_3 группы в формировании комплекса сопровождается расширением соответствующих полос валентных колебаний, а именно, 2928 и 2966 см^{-1} для CH_3 группы, а также усиление эфирных (C-O-C , валетных колебаний) групп в области 1115 см^{-1} .

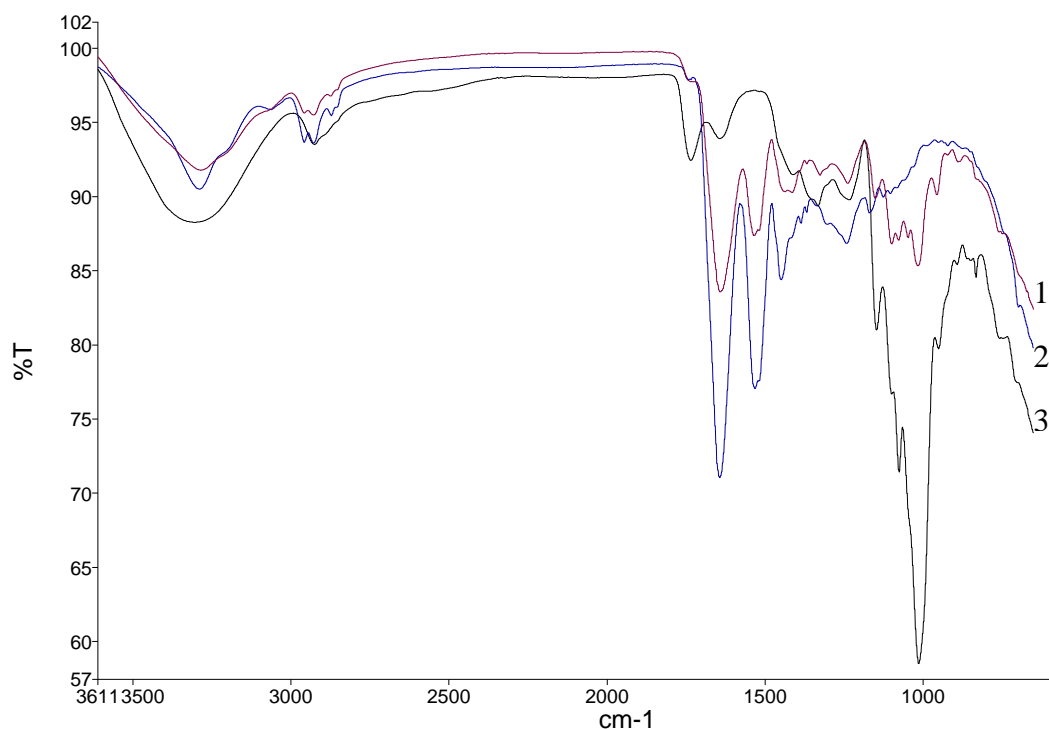


Рис 8. ИК Фуре спектры комплекса Пектин/зеин 1:1- (1); Зеина (CAS9010 Sigma) -(2) и пектина ПВШ-40-(3)

Таким образом, в результате исследований определены оптимальные условия получения микросфер на основе природных биополимеров - пектина и зеина с инкапсулированным ЛВ. Показано, что на процесс образования комплексов, степень насыщения микросфер лекарством влияют природа биополимеров, их соотношение, присутствие двухвалентных металлов и молекулярная масса пектина. При формировании микросфер с использованием НМ-пектинов комплексы образуются, в основном, за счет поперечных связей с ионами двухвалентных металлов, а в случае с ВМ-пектином, за счет гидрофобных взаимодействий биополимеров. В результате получен ряд микросфер, на основе биоразрушающихся и биосовместимых полимеров - пектина и зеина, которые могут найти применение при создании носителей ЛВ с контролируемым высвобождением.

4. Оценка процесса диффузии и кинетики высвобождения активного ингредиента из гидрогелей на основе различных пектинов и зеина

Как показали предыдущие исследования фармакокинетики данных систем, разработанные гидрогели открывают широкие возможности для использования их в качестве носителей лекарств, позволяющих уменьшить курсовую дозу и частоту проявлений побочных эффектов.

Одна из основных задач данной работы заключалась в исследовании процесса диффузии и кинетики высвобождения модельного лекарства из разработанных нами гидрогелей в виде микросфер на основе пектин - зеиновых комплексов, поперечно сшитых ионами двухвалентных металлов, в кислых и щелочных средах.

Получение таких комплексов основывалось на идее создания целенаправленной системы доставки ЛВ, которая обеспечит целостность его в кислой (физиологической среде желудка) и щелочной (среда тонкой кишки) средах. Механизм действия такой си-

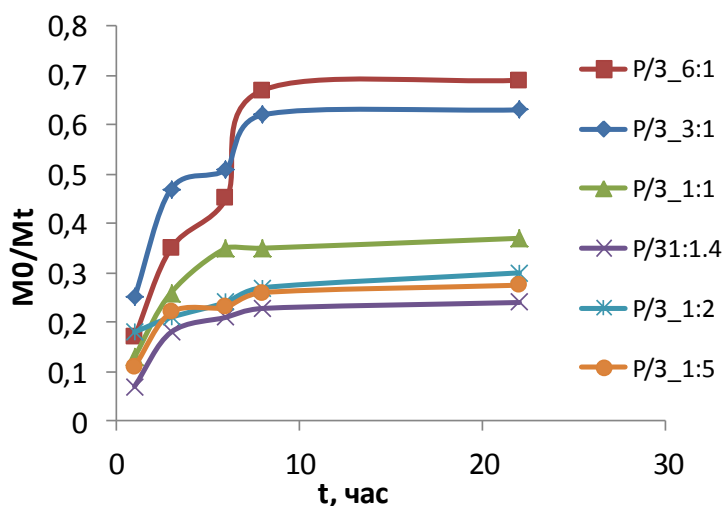
стемы основан на том, что пектин, стабилизированный поперечными связями ионами металла, способен защитить протеин от воздействия протеаз в верхней части ЖКТ. Зеин, в свою очередь, располагаясь на поверхности и внутри полимерной сетки, будет препятствовать набуханию пектинового геля и быстрому высвобождению лекарства. Однако следует учитывать, что скорость диффузии лекарства будет также зависеть от типа пектина и пектин-протеинового взаимодействия, плотности упаковки полимерной цепи и структуры самих биополимеров.

Для исследования кинетики процесса были приготовлены буферы с pH 1.2 (HCl/KCl 0.2M) и pH 6.4 (0.2M фосфатный буфер). Высушенные комплексы помещали в диализные мешки в количествах 50 мг, заливали 50 мл буфера pH 1.2 и pH 6.4 и помещали в прибор для определения растворимости ЛВ при 37°C. Через определённые промежутки времени замеряли на спектрофотометре UV 1 Thermo Spectronic, (Англия) экстинкцию растворов при 355 нм и по калибровочному графику, построенному по стандартному РХ, определяли количество высвобожденного лекарства (Mt). Общее количество вовлеченного лекарства в гидрогелевые комплексы (Mo), определяли как описано в работе.

Представляло интерес исследовать способность данных систем сдерживать влияние протеаз во время прохождения через верхнюю часть ЖКТ. С этой целью изучалась кинетика выхода РХ, из полученных пектин/ зеиновых (П/З) микросфер, в искусственно созданной среде желудка и кишечника.

На рис 9. представлена кинетика высвобождения РХ из П/З микросфер с высоким и низким содержанием цитрусового пектина в условиях, моделирующих среду желудка.

Рис 9. Кинетика высвобождения пироксикама из пектин-зеиновых микросфер на основе цитрусового пектина НМ-31 при pH 1.2



Известно, что ЛВ, адсорбированный на поверхности геля пектината кальция, практически полностью высвобождается за короткий период времени. Видно, что добавление зеина - гидрофобного полимера, несколько замедляет выход модельного вещества-РХ.

Полученные результаты подтверждают представленную выше точку зрения: из микросфер с высоким соотношением П/З (6:1 и 3:1) высвобождалось около 40-50 вес % РХ в первые 6 часов инкубации в среде желудка, а оставшееся ЛВ при этих условиях, высвобождалось по линейному механизму (кинетика нулевого порядка). Это говорит о том, что гидрогели формировались как за счет поперечных связей пектин- Ca^{2+} , так и за счет гидрофобных взаимодействий пектина с зеином.

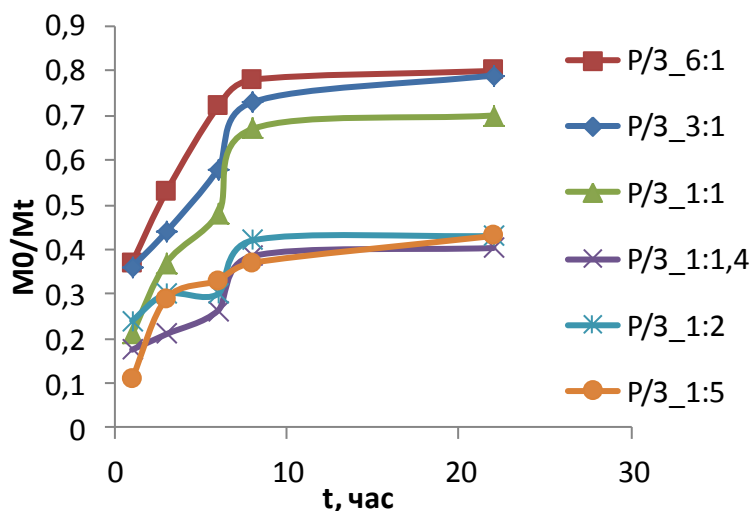


Рис 10. Кинетика высвобождения пироксикама из пектин-зеиновых микрофер на основе цитрусового пектина НМ-31 при pH 6.4.

С увеличением зеина в составе полимерной композиции (П/З 1:1, 1:1.4, 1:2, 1:5) диффузия ЛВ замедляется и только 20 вес % РХ десорбируется за тот же промежуток времени, остальная часть из микрофер высвобождается по линейному механизму. Несмотря на высокое содержание

зеина, гидрогели не подвергались воздействию фермента, присутствующего в составе исследуемой среды.

При инкубации гидрогелевых микрофер в фосфатном буфера, pH 6.4, соответствующего среде толстого отдела кишечника, наблюдаются небольшие изменения только в начальном периоде времени и кинетические кривые имеют линейный характер, затем изменяются со временем (рис. 10).

Количество высвободившегося ЛВ выше, чем при pH 1.2 и достигает 55-75% от общего количества адсорбированного ЛВ. Заметное отличие наблюдается для микрофер П/З с соотношением 1:1. Если количество высвободившегося ЛВ при pH 1.2 составляло 38% за 24 часа инкубации, то за этот же промежуток времени выход ЛВ при pH 6.4 достигает 72%.

Можно предполагать, что РХ адсорбируется на поверхности пектинового геля, а не внутри зеиновых кластеров. В данном случае механизм высвобождения ЛВ в основном определяется степенью набухания гидрогелей.

Замедленный выход ЛВ связан с стерическим препятствием молекул свободного зеина и связанного с пектином: чем больше их в гидрогеле, тем медленнее высвобождается ЛВ.

Кинетика высвобождения РХ из П/З комплексов с низкомолекулярным яблочным пектином НМ-40, сформированных ионами Ca^{2+} и Zn^{2+} , представлена на рис 11.

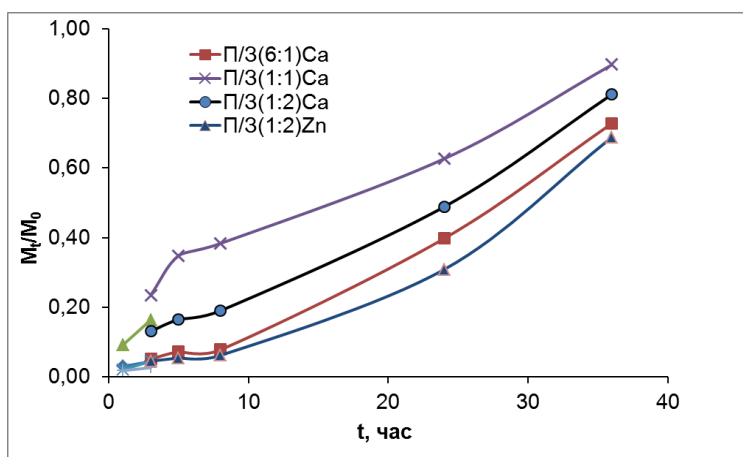


Рис 11. Кинетика высвобождения пироксикама из пектин-зеиновых микрофер на основе яблочного пектина НМ-40 при pH 1.2 (до 3 часов, pH 1.2) и pH 6.4 (от 3 до 36 часов).

По сравнению с ранее изученными комплексами, включающими высокомолекулярные пектины, кинетика выхода ЛВ из данной системы имела прямолинейный характер.

Общее количество РХ высвобожденное из гидрогелевых комплексов составляло менее 20 вес % после 8 часовой инкубации в условиях, моделирующих среду ЖКТ.

Таким образом, гидрогели с низкомолекулярным НМ-40 яблочным пектином, по сравнению с гидрогелями на основе цитрусового пектина, пролонгировали выход ЛВ до 36 и более часов, что является важным для доставки многих ЛВ в кишечник.

Кинетика процессов, протекающих в системах гидрогель-раствор, представляет собой один из самых сложных разделов физической химии полимерных систем. Устоявшихся теорий в области изучения кинетики набухания гидрогелей, существует не так много. Сложность количественного описания кинетики высвобождения ЛВ связана с необходимостью учета специфики состояния полимерной композиции, т.е. ее структуры и морфологии. Более того, среди научных и патентных публикаций в указанной области лишь крайне ограниченное число работ описывает транспорт в терапевтических матрицах, полученных из смесевых композиций.

Количественная оценка процесса высвобождения ЛВ из СДЛ проводилась путем анализа данных, с использованием классического уравнения для реакции первого порядка.

Хигуши разрабатывал модель для диффузного высвобождения препарата из пористой матрицы, при условии, когда препарат находится в избытке.

$$Q = kt^{1/2} \quad (1),$$

где, Q количество высвободившегося ЛВ, k - константа и t - время.

В этой псевдо установившейся модели мы предполагаем, что растворение препарата не влияет на скорость его высвобождения; то есть, выход препарата можно контролировать процессом диффузии во внешний раствор, являющимся относительно быстрым. Для системы с полным погружением, где общая концентрация раствора не равна нулю, кинетическое уравнение имеет кубическую форму:

$$f = \frac{M_t}{M_0} = 3K_r t^{1/2} - 3(K_r t^{1/2})^2 + (K_r t^{1/2})^3 \quad (2)$$

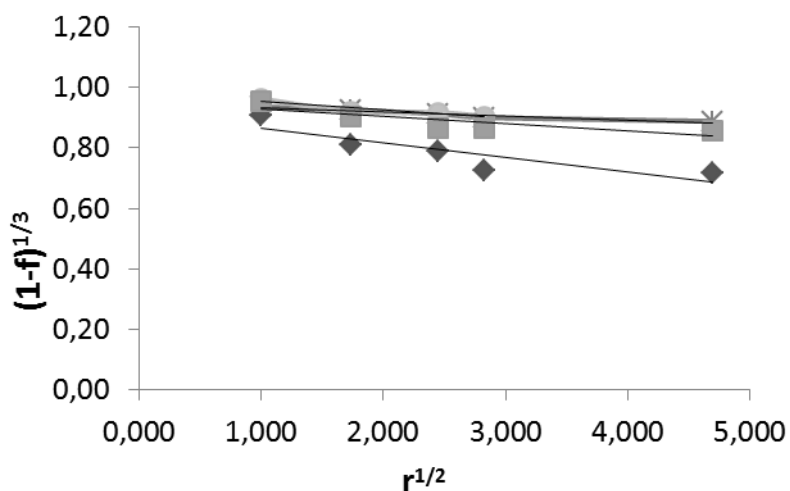
где: f фракция материала, выпущенного во времени t и K_r константа скорости выпуска.

Это выражение может быть в линейной форме:

$$(1 - f_t)^{1/3} = 1 - K_r t^{1/2} \quad (3)$$

Значение константы скорости высвобождения препарата находят графически из наклона кривой, характеризующей линейную зависимость левой части вышеупомянутого выражения, как функции квадратного корня времени (рис 12 и 13). Полученные, таким образом, константы скорости выхода ЛВ представлены в табл. 4-7.

Рассчитанные параметры кинетики транспорта РХ из выбранных зеин/пектиновых микросфер на основе цитрусового-НМ31 и яблочного-НМ40 пектинов находятся в полном соответствии с уравнением (3). Зависимость фракции вышедшего ЛВ из гидрогелей от корня квадратного времени имеет линейный характер, с коэффициентам корреляции 0.86 -0.99. Это указывает на диффузионный характер процесса высвобождения активного ингредиента из гидрогелевых микросфер.



Эта указывает на диффузионный характер процесса высвобождения активного ингредиента из гидрогелевых микросфер.

Рис. 12. Зависимость $(1-f)^{1/3}$ от квадратного корня времени для цитрусового пектина НМ-31 при рН 1.2.

Выход ЛВ в кислой среде рН 1.2 несколько меньше, чем в щелочной (рН 6.4), что указывает

на влияние набухания полимерной цепи, в данном случае пектина, в матрице гидрогеля на процесс диффузии ЛВ.

Таблица 4

Уравнение прямой линии и значения константы скорости выхода ЛВ из гидрогелей на основе цитрусового пектина при рН 1.2

Пектин/Зеин	Уравнение $(1-f_t)^{1/3} = 1 - K_r t^{1/2}$	R ²	Kr * 10 ² ч ^{-1/2}
1:5	y = -0,0148x + 0,9836	0,8903	1.49
1:2	y = -0,0132x + 0,9458	0,9339	1.32
1:1.4	y = -0,0153x + 1,0005	0,9123	1.50
1:1	y = -0,0241x + 0,9509	0,8810	2.41
3:1	y = -0,0481x + 0,9118	0,8767	4.81
6:1	y = -0,0732x + 0,9847	0,8687	7.32

Таблица 5

Уравнение прямой линии и значения константы скорости выхода ЛВ из гидрогелей на основе цитрусового пектина НМ-31 при рН 6.4

Пектин/Зеин	Уравнение $(1-f_t)^{1/3} = 1 - K_r t^{1/2}$	R ²	Kr * 10 ² ч ^{-1/2}
1:5	y = -0,0325x + 0,9656	0,8219	3.25
1:2	y = -0,0232x + 0,9293	0,8713	2.32
1:1.4	y = -0,0281x + 0,9629	0,8626	2.81
1:1	y = -0,0711x + 0,9699	0,8308	7.11
3:1	y = -0,0771x + 0,9309	0,8865	7.71
6:1	y = -0,0744x + 0,8846	0,8758	7.44

Рис. 13. Зависимость $(1-f_t)^{1/3}$ от квадратного корня времени для яблочного пектина НМ-40 при рН 1.2.

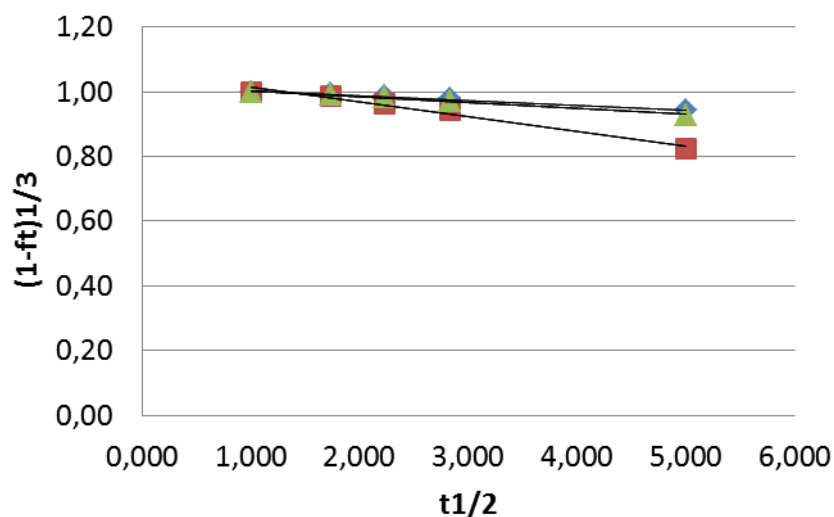


Таблица 6

Уравнение прямой линии и значения константы скорости выхода ЛВ из гидрогелей на основе яблочного пектина НМ-40 при рН 1.2

Пектин/Зеин	Уравнение $(1-f_t)^{1/3} = 1 - K_r t^{1/2}$	R^2	$K_r * 10^2 \text{ ч}^{-1/2}$
1:2	$y = -0,0148x + 1,0184$	0,9707	1.48
1:1	$y = -0,0454x + 1,0592$	0,975	4.54
6:1	$y = -0,0181x + 1,0207$	0,9919	1.81

Таблица 7

Уравнение прямой линии и значения константы скорости выхода ЛВ из гидрогелей на основе яблочного пектина НМ-40 при рН 6.4

Пектин/Зеин	Уравнение $(1-f_t)^{1/3} = 1 - K_r t^{1/2}$	R^2	$K_r * 10^2 \text{ ч}^{-1/2}$
1:2	$y = -0,1189x + 1,1297$	0,9392	11.89
1:1	$y = -0,1317x + 1,1321$	0,9418	13.17
6:1	$y = -0,1227x + 1,1296$	0,9088	12.27

На рис. 14 представлена зависимость константы скорости высвобождения РХ (уравнение 3) из пектин-зеиновых микросфер на основе цитрусового пектина НМ-31 при рН 1.2 и 6.4. Вклад степени набухания пектиновых цепей, четко продемонстрирован на примере зависимости константы скорости выхода ЛВ из гидрогелей с цитрусовым НМ 31 пектином.

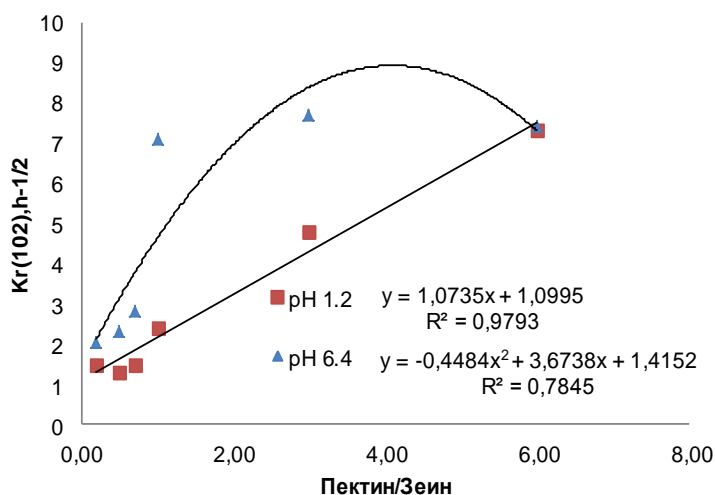


Рис 14. Зависимость константы высвобождения РХ (уравнение 3) из пектин-зеиновых микросфер на основе цитрусового пектина НМ-31.

Из кривых зависимости константы выхода активного ингредиента из микросфер на основе цитрусового пектина НМ-31 в исследуемых средах, представленного на рис.14, четко видно, что константа скорости выхода РХ

из изученных СДЛ прямолинейно возрастает с увеличением доли пектина в гидрогелях, но описывается различными уравнениями. У яблочного пектина этот вклад заметно сказывается почти на порядок, на увеличение константы скорости выхода ЛВ, при контакте гидрогелей с щелочной средой, приводящей к диссоциации свободных карбоксильных групп, что способствовало набуханию цепей и диффузии ЛВ во внешний раствор.

Диффузия адсорбированных веществ в полимерном матриксе зависит от множества факторов, включая морфологию сети, состав и набухание полимеров, содержание воды, концентрацию растворенных веществ и др. В случае с пектином, также и от природы иона двухвалентного металла, образующего поперечные связи с цепочками пектина. Эти основополагающие факторы могут комбинироваться, вызывая химическое или физическое влияние, замедляющее диффузию растворенного вещества.

Учитывая, что механизм высвобождения ЛВ зависит от структуры полимерной композиции, ее физического состояния, которые в свою очередь зависят от соотношения биополимеров, проводили оценку механизма диффузии ЛВ по уравнению Ритгер-Пеппаса:

$$M_t/M_\infty = k_1 t^n \quad (4)$$

где: k_1 переменная константа, n константа характеризующая коэффициент диффузии и механизм транспорта ЛВ. Это уравнение используется для оценки совместного (парного) вклада диффузии, подчиняющегося закону Фика и высокоэластичной релаксации полимерной системы. При $n=0.5$ она диффузионная, при $n>0.5$ показывает аномальный транспорт, не подчиняющийся закону Фика, при $n=1.0$ предполагает релаксационно-контролируемый транспорт, или так называемый «случай II» .

С целью приближения результатов в реальных условиях при транспорте ЛВ в ЖКТ решение уравнения (4) проводили также для двух участков кинетических кривых: для малого времени эксперимента, до 4 часов инкубации в среде желудка (pH 1.2), и для большего времени, после 5 часов инкубации в среде кишечника. Значения параметров

K_I и n , полученные таким образом, разделились при условии $M_t/M_\infty < 0.5$ и $M_t/M_\infty > 0.5$ (табл 8).

Таблица 8.

Параметры уравнения (4), K_I и n для П/З микросфер, полученных на основе цитрусового пектина НМ-31 при рН, моделирующих среду желудка и кишечника.

Пектин/Зеин	РХ в компл., %	$M_t/M_\infty < 0.5$, рН 1,2			$M_t/M_\infty > 0.5$, рН 6,4		
		$k \cdot 10^2$, min ⁻¹	n	R^2	$k \cdot 10^2$, min ⁻¹	n	R^2
6.0	12.4	1.32	0.69	0.99	0.47	0.08	0.92
3.0	19.8	1.48	0.54	0.99	0.93	0.16	0.85
1.0	37.0	1.70	0.67	0.99	1.05	0.18	0.73
0.5	72.6	1.75	0.60	0.92	1.47	0.24	0.80
0.2	93.8	1.50	0.62	0.99	1.52	0.24	0.95

Анализируя механизм высвобождения ЛВ, с использованием полученных результатов, можно сделать вывод, что десорбция РХ в кислых условиях (рН 1.2) при малом времени, только из микросфер при соотношении П/З 3:1, носит диффузионный характер ($n=0.54$), в то время как при других изученных соотношениях П/З, указывает на аномальный характер диффузии слабо подчиняющийся закону Фика.

С увеличением рН среды (6.4) происходит ионизация свободных карбоксильных групп биополимеров, приводящая к набуханию полимерной сетки, поэтому в механизм десорбции ЛВ при кишечном моделировании, кроме того, вносят свой вклад также релаксационные эффекты.

В данных условиях $M_t/M_\infty > 0.5$ механизм высвобождения ЛВ носит только диффузионный характер и изменяется от соотношения П/З (табл. 8). Однако рост константы диффузии, вероятно, связан со степенью заполнения гидрогелевых носителей: с возрастанием количества РХ в гидрогелях скорость диффузии растет.

На основе анализа представленных результатов можно предполагать, что РХ адсорбированный на поверхности микросфер будет высвобождаться в первые часы инкубации по механизму диффузии и растворения ЛВ независимо от рН среды. Высокая степень высвобождения происходит вследствие релаксации полимерной сетки при воздействии напряжения в процессе набухания полимера в условиях среды. Кроме того, гидрофобные взаимодействия протеина с РХ должны еще больше замедлять выход ЛВ из полимерной сетки. С увеличением содержания зеина, при рН 1.2, должны усиливаться релаксационные процессы полимерной сетки за счет ионизации аминокрупп, однако этот процесс, из-за малого количества аминокрупп в зеине, заметного влияния на скорость диффузии не оказывает. В то время как при рН 6.4, с увеличением доли зеина, наблюдается рост скорости диффузии как из-за высокой степени заполнения гидрогелей РХ, так и за счет ионизации карбоксильных групп (в основном пектина). Необходимо отметить, что в микросферах с большим содержанием зеина, высвобождение ЛВ происходит скорее по механизму кооперативной десорбции: чем больше степень заполнения ЛВ микросфер, тем больше скорость диффузии.

Наблюдаемая двухступенчатая скорость высвобождения РХ из комплексов обусловлена, вероятно, различным механизмом взаимодействия РХ с пектином и зеином, который был показан ранее.

Таким образом, на основании кинетических исследований, выявлен механизм процесса высвобождения модельного ЛВ из гидрогелевых П/З микросфер, путем изменения соотношением биополимеров и степени их заполнения ЛВ, что позволяет регулировать скоростью диффузии и является необходимым при создании матричных пролонгированных систем для контролируемого высвобождения ЛВ. Установлено, что лимитирующую роль в процессе высвобождения РХ из гидрогелевых микросфер играет диффузия терапевтического агента в матрице, что подтверждается низкой величиной экспонента в уравнении Ритгера-Пепасса.

ВЫВОДЫ

1. Разработан способ получения комплексов в виде гидрогелевых микросфер, стабилизированных поперечными связями ионами металла и гидрофобными участками зеина, способных защитить белок от воздействия протеаз в верхней части ЖКТ, и препятствующих набуханию пектинового геля.
2. Впервые, методом турбидиметрического титрования определён фракционный состав зеина кукурузы, который указывает на широкое молекулярно-массовое распределение макромолекул зеина и наличие пяти макромолекулярных фракций.
3. Методом ТТ и ИК-Фурье спектроскопии установлено, что в системе пектин/зеин образуются два типа комплексов: ионотропное, пектин- Ca^{2+} - зеин, и лиотропное, посредством электростатического и гидрофобного взаимодействий или коацервации двух биополимеров.
4. Установлено, что выход и степень насыщения комплексов ЛВ зависит от соотношения З/П: чем больше зеина в комплексе, тем больше степень связывания ЛВ.
5. Найдены оптимизированные составы гидрогелей с низкомолекулярным НМ-40 яблочным пектином, которые в сравнении с гидрогелями на основе цитрусового пектина, пролонгировали выход лекарств до 48 и более часов, что является важным для доставки протеиновых лекарств в кишечник.
6. На основании кинетических исследований установлено, что при замене ионов кальция ионами цинка и введение в полимерный матрикс гидрофобного полимера, диффузия ЛВ замедляется, что подтверждается низкой величиной экспонента в уравнении Ритгера-Пепасса.
7. На основе анализа кинетических данных, выявлен механизм процесса высвобождения модельного ЛВ из гидрогелевых П/З микросфер в кислых и щелочных растворах, что позволяет регулировать скоростью диффузии.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Мухидинов З.К., Насриддинов А.С., Штанчаев А.Ш., Тешаев Х.И., Халиков Д.Х. Турбидиметрическое титрование зеина кукурузной муки // Доклады АН РТ. 2007. (9). №50, С. 725-730.
2. Мухидинов З.К., Насриддинов А.С., Усманова С.Р. Штанчаев А.Ш., Тешаев Х.И. Халиков Д.Х., Образование Зеин-Пектиновых комплексов // Материалы III Международной науч.-прак. конф. «Перспективы развития науки и образования в XX I веке». Душанбе-2008. . С. 170-173.
3. Muhiddinov Z.K., Khalikov D. Kh, Teshaeв Kh.I. and Nasriddinov A.S. Some Hydrodynamic Properties of Pectin in Dilute Solution // The 9th International Hydrocolloids Conference. 15-19 June 2008, Singapore. p. 47-48.
4. Мухидинов З.К., Fisman M.L., Горшкова Р.М., Насриддинов А.С., Халиков Д.Х. Молекулярная масса пектинов, полученных в автоклаве // Химический журнал Казахстана. 2008, Алматы. №специальный выпуск (21). С. 60-65.
5. Мухидинов З.К., Штанчаев А.Ш, Насриддинов А.С., Бобокалонов Д.Т.,Тешаев Х.И. Халиков Д.Х. Нерастворимые комплексы белков молочной сыворотки с различными пектинами // Доклады АН РТ. 2008. т 8. №51, С. . 607-614.
6. Мухидинов З. К., Касимова Г.Ф., Бобокалонов Д.Т., Насриддинов А.С., Халиков Д.Х., Тешаев Х.И., Лин-Шу Лиу. Гидрогелевые микросферы на основе биоразрушающих полимеров, как носители лекарственных средств. // Изв АН РТ. 2009. №1 (134). С. 59-65.
7. Muhiddinov Z.K., Nasriddinov A.S., Kasivova G. F., Jonmurodov A. S., Liu L.S.. Composites from corn zein and different pectin for nutrient and drug delivery // The 2nd International Symposium on Edible Plan Resources and The Bioactive Ingredients. Urumqi China July 28-August, 2010. p. 153-154.
8. Muhiddinov Z.K., Fishman M. L., Avloev Kh. Kh., Norova M. T., Nasriddinov A.S. and Khalikov D. Kh. Effect of Temperature on the Intrinsic Viscosity and Conformation of Different Pectins // Polymer Science,2010 (NATURAL POLYMERS) Ser.A, 2010 . №52, 12. С. 1257-1263.
9. Muhiddinov Z.K., Nasridinov A., Gorshkova R., Khalikov D., Fishman M. Molar mass and molar mass distribution of pectin from different sources // Abstract Book, 14th IUPAC International Symposium on Macromolecular Complexes (MMC), University of Helsinki. Helsinki, Finland, August 14-17, 2011. №№4 (141). p. . 110.
10. Muhiddinov Z.K., Kasimova G.F., Nasriddinov A.S., Teshaeв Kh.I, LS Liu Pectin-Zein Hydrogel for delivery of Drug and Nutrient // The 16th Gum and Stabilizers for the Food Industry. Wageningen, the Nitherlands 28th June-1st July, 2011.

Разрешено к печати 29.02.2012 г. Сдано в печать 07.02.2012 г.
Формат 60x84^{1/16} Гарнитура Times New Roman. Объем 1,25 л.
Бумага офсетная. Печать офсетная
Заказ № 27/12 Тираж 100 экз.

Издательство «Истеъдод»
734025, г. Душанбе, проспект Рудаки, 36.
Тел: 992 37 2219543, e-mail: istedod2010@mail.ru