

На правах рукописи

**Седякина Наталья Евгеньевна**

**Получение и исследование свойств  
хитозановых микросфер как систем  
контролируемой  
доставки инсулина**

(02.00.11 – Коллоидная химия)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

**Москва 2015**

Работа выполнена на кафедре технологии химико-фармацевтических и косметических средств Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева

**Научный руководитель:**

доктор химических наук, профессор  
**Авраменко Григорий Владимирович**  
ФГБОУ ВПО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»,  
заведующий кафедрой технологии химико-фармацевтических и косметических средств

**Официальные оппоненты:**

доктор химических наук  
**Калинина Мария Александровна**  
ФГБУ Науки «Институт физической химии и электрохимии имени А.Н.Фрумкина» РАН,  
ведущий научный сотрудник

кандидат химических наук, доцент  
**Соболева Оксана Анатольевна**  
ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,  
кафедра коллоидной химии

**Ведущая организация:**

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (ПКУ)»

Защита состоится «02» июня 2015 года в 14:00 на заседании диссертационного совета Д 212.204.11 при РХТУ им. Д. И. Менделеева (125047 г. Москва, Миусская пл., д. 9) в конференц-зале (ауд.443).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре РХТУ им. Д.И. Менделеева.

Автореферат диссертации разослан «    »

2015 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
Д 212.204.11.

Мурашова Н.М.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Разработка систем пероральной доставки инсулина вызывает повышенный интерес исследователей в связи с возможностью отказа от инъекционной формы введения, имеющей ряд недостатков, таких как болезненные ощущения пациента и риск инфицирования. Одним из перспективных природных биополимеров для создания систем доставки протеинов и пептидных лекарств, в том числе инсулина, является хитозан – биосовместимый, биodeградируемый, мукоадгезивный полимер.

Хитозановые микросферы, предназначенные для включения в них водорастворимых биологически активных веществ (БАВ), могут быть получены введением полимера в водную фазу в процессе приготовления обратных эмульсий вода/парафиновое масло, стабилизированных эмульгаторами II рода. Установление закономерностей адсорбции поверхностно-активных веществ (ПАВ) и полимера на межфазной границе, изучение влияния на свойства эмульсий природы и концентраций ПАВ и полимера, а также соотношения компонентов в исходной системе, позволяет осуществить выбор оптимальных условий для получения гелевых хитозановых микросфер с высокой удельной поверхностью.

**Цель работы** заключалась в разработке коллоидно-химических основ получения хитозановых микросфер, предназначенных для контролируемой доставки инсулина.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- исследовать влияние неионогенных ПАВ на межфазное натяжение на границе «водный раствор уксусной кислоты – парафиновое масло»;
- определить адсорбционную способность хитозана и систем полимер – ПАВ на межфазной границе;
- определить границы области существования эмульсии в зависимости от состава и температуры системы;
- изучить влияние адсорбционной способности исследуемых ПАВ и хитозана на дисперсность и агрегативную устойчивость полученных на их основе эмульсий и характеристики хитозановых микросфер;
- получить гелевые микросферы заданной дисперсности, способные удерживать инсулин и обеспечивать его пролонгированное высвобождение.

- исследовать влияние плотности сшивки хитозанового геля на сорбционную емкость микросфер и кинетику высвобождения инсулина.

**Научная новизна.** Определены значения критических концентраций мицеллообразования (ККМ) и минимального межфазного натяжения ПАВ ряда полиглицерил полирицинолеатов (ПГПР) на границе воды и масла, рассчитаны параметры адсорбционного слоя. Получены изотермы межфазного натяжения систем хитозан – ПАВ. Определены области существования эмульсий, стабилизированных ПГПР. Установлена взаимосвязь между адсорбционной способностью исследуемых ПАВ и хитозана с коллоидно-химическими характеристиками исходных эмульсий и свойствами конечных хитозановых микросфер.

**Практическая значимость.** Установленные закономерности адсорбции полиглицерил полирицинолеатов, хитозана, и смесей полимер – ПАВ на границе раздела «уксусная кислота – парафиновое масло», а также коллоидно-химические характеристики эмульсий на их основе, позволяют направленно контролировать размеры хитозановых микросфер, плотность сшивки полимерной матрицы, эффективность включения в них инсулина и скорость выделения БАВ. На основе эмульсий вода – парафиновое масло, стабилизированных ПГПР, получены хитозановые микросферы с размерами 2-4 мкм, способные обеспечивать эффективность включения инсулина до 80% и его высвобождение от 80 до 100% в течение 24 часов. Полученные результаты могут быть использованы для разработки систем пероральной доставки инсулина.

**Личный вклад автора.** На всех этапах работы автор принимал непосредственное участие в планировании и выполнении экспериментов, анализе и интерпретации результатов, формулировании выводов.

**Апробация работы.** Результаты работы докладывались и обсуждались на I Научно-практической конференции «Технология и анализ косметических средств и фармацевтических препаратов» (Москва, 2011), Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы химической науки и образования» (Чебоксары, 2012), II и III Всероссийской научной конференции с международным участием «Успехи синтеза и комплексообразования» (Москва, 2012, 2014), Международной научно-практической конференции "Фундаментальные и прикладные исследования, разработка и применение высоких технологий в промышленности и экономике" (Санкт-Петербург, 2012), Международной научно-

практической конференции «Новые химико-фармацевтические технологии» (Москва, 2012), 68-й региональной конференции по фармации и фармакологии (Пятигорск, 2013), VI Российском симпозиуме «Белки и пептиды» (Уфа, 2013), IV Международной конференции по коллоидной химии и физико-химической механике (Москва, 2013), Всероссийской научной конференции по фундаментальным вопросам адсорбции (Тверь, 2013), XV Международной научно-технической конференции «Наукоемкие химические технологии» (Московская область, 2014).

**Публикации.** По теме работы опубликовано 3 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК, а также 12 тезисов докладов на различных конференциях.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части и обсуждения результатов. Работа изложена на 177 страницах машинописного текста, содержит 96 рисунков и 20 таблиц. Список литературы представлен из 191 наименования.

### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Во введении** обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы основные цели исследования, научная новизна и практическая значимость.

**В первой главе** представлен аналитический обзор литературных данных. Рассмотрены общие характеристики систем контролируемой доставки лекарственных веществ (ЛВ) на основе биоразлагаемых полимеров. Приведены основные физико-химические свойства хитозана и показаны преимущества хитозановых микросфер как потенциальных систем контролируемой доставки инсулина в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). Описаны основные методы получения хитозановых микросфер и существующие в настоящий момент способы регулирования скорости высвобождения инсулина из хитозановых микросфер в среду, имитирующую среду тонкого кишечника. Обсуждены пути повышения агрегативной устойчивости эмульсий, используемых для получения систем доставки ЛВ.

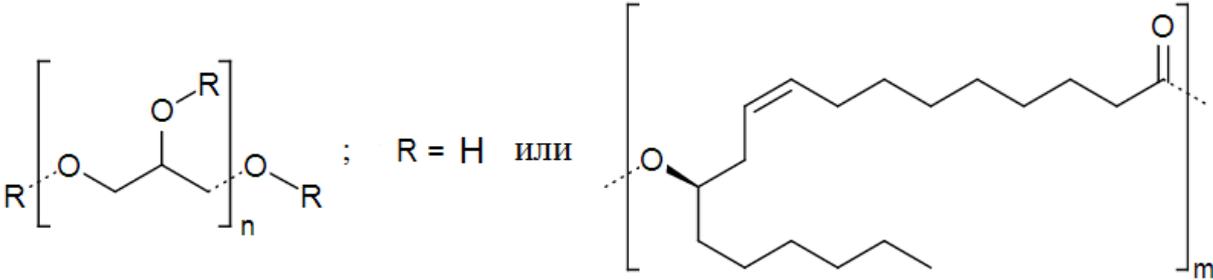
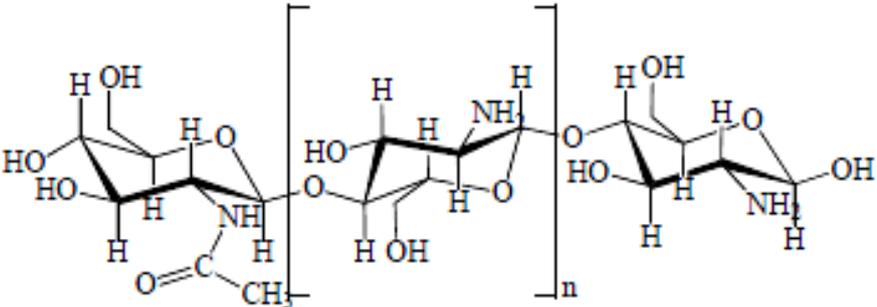
**Во второй главе** приведены основные характеристики исходных соединений (таблица 1), а также методики экспериментов.

Межфазное натяжение на границе жидкость-жидкость определяли методом объема-веса капли. Оценку реологических свойств эмульсий вода – масло проводили при помощи ротационного вискозиметра. Для определения вязкости разбавленных неструктурированных растворов полиглицерил полирицинолеатов использовали капиллярный вискозиметр Уббелодде. Определение формы и морфологии микросфер

проводили методом сканирующей электронной микроскопии. При выполнении дисперсионного анализа использовали световой микроскоп Биомед-2 (Биомед, Россия). Концентрацию инсулина в растворах определяли по методу Бредфорда при помощи спектрофотометра Helios Zeta (Thermo Fisher Scientific, США) на аналитической длине волны 595 нм.

Таблица 1.

## Характеристика объектов исследования.

	
<p>n = 6  <b><u>Полиглицерил-6-полирицинолеат-15 (ПГ-6-ПР) (торговое название Hexaglyn PR-15)</u></b> – неионогенное ПАВ (НПАВ). ГЛБ 3,2. Эмульгатор и стабилизатор для эмульсий в/м. Молекулярная масса 4885 г/моль.</p>	<p>n = 10  <b><u>Полиглицерил-10-полирицинолеат-20 (ПГ-10-ПР) (торговое название Decaglyn PR-20)</u></b> – неионогенное ПАВ (НПАВ). ГЛБ 3,2. Эмульгатор и стабилизатор для эмульсий в/м. Молекулярная масса 6662 г/моль.</p>
	
<p><b><u>Хитозан</u></b> – аминополисахарид; биосовместимый, биodeградируемый, мукоадгезивный полимер. Среднемассовая молекулярная масса 200 000 г/моль (по данным производителя). Степень деацетилирования 82%.</p>	

**В третьей главе** изложены результаты исследования и проводится их обсуждение.

Были получены изотермы межфазного натяжения поверхностно-активных веществ ряда полиглицерил полирицинолеатов на границе фаз вода – парафиновое

масло и рассчитаны параметры адсорбционного слоя исследуемых ПАВ (рис.1, табл.2). Установлено, что полиглицерил-6-полирицинолеат в большей степени снижает межфазное натяжение ( $\sigma_{\text{мин}}$  3,6 мН/м), по сравнению с полиглицерил-10-полирицинолеатом ( $\sigma_{\text{мин}}$  5,4 мН/м), а также обладает меньшим значением критической концентрации мицеллообразования. Вследствие этого для дальнейших исследований были выбраны системы, содержащие ПГ-6-ПР. Было показано, что хитозан по сравнению с ПАВ проявляет относительно низкую поверхностную активность (рис.2).

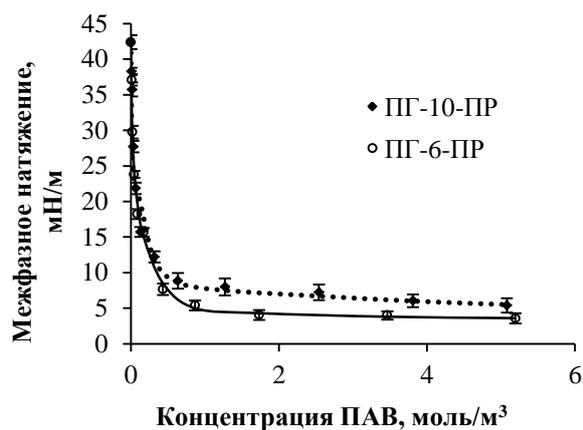


Рисунок 1. Изотермы межфазного натяжения ПГПР на границе парафинового масла и 2%-го раствора уксусной кислоты.

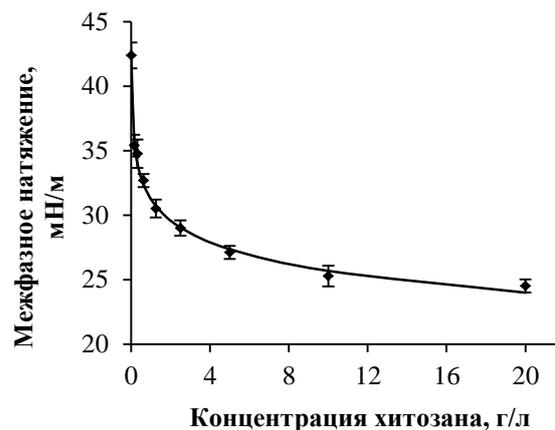


Рисунок 2. Изотерма межфазного натяжения на границе парафинового масла и растворов хитозана в 2%-й уксусной кислоте.

Таблица 2.

Значения параметров адсорбционных слоёв ПАВ на межфазной границе вода/масло.

ПАВ	ККМ, моль/м <sup>3</sup>	$\sigma_{\text{мин}}$ , мН/м	$A_{\infty} \cdot 10^6$ , моль/м <sup>2</sup>	$s_0$ , нм <sup>2</sup>	$\delta$ , нм	ГЛБ (по данным производителя)
ПГ-6-ПР	2,3±0,1	3,6±0,5	4,7±0,3	0,35±0,02	19,0±1,4	3,2
ПГ-10-ПР	2,5±0,1	5,4±0,8	4,9±0,5	0,34±0,01	28,0±2,1	3,2

Были получены изотермы межфазного натяжения систем полимер – ПАВ (рис.3). Показано, что при повышении концентрации хитозана в водной фазе от 0 до 20 г/л, значения величин минимального межфазного натяжения находятся в пределах 3,0 – 3,5 мН/м (содержание ПАВ в масле 6,93 моль/м<sup>3</sup>). При этом на начальном участке кривых (при низких концентрациях ПАВ в масле) происходит некоторое падение величины межфазного натяжения с увеличением концентрации хитозана в растворе. На границе раздела фаз при совместной адсорбции ПАВ и полимера могут

происходить следующие процессы: конкурентная адсорбция или образование комплекса полимер – ПАВ. Из литературы известно, что положительно заряженные протонированные аминогруппы хитозана способны в кислой среде связывать жирные кислоты, образуя нерастворимые ПАВ-полиэлектrolитные комплексы (ПАВ-ПЭК).

Исходя из полученных нами данных, можно сделать вывод о том, что при использовании в качестве ПАВ полиглицерил-6-полирицинолеата, преобладающим является процесс связывания молекул хитозана и ПГ-6-ПР, который может происходить в водной фазе за счет образования водородных связей между гидроксильными группами ПАВ и протонированными и депротонированными аминогруппами хитозана.

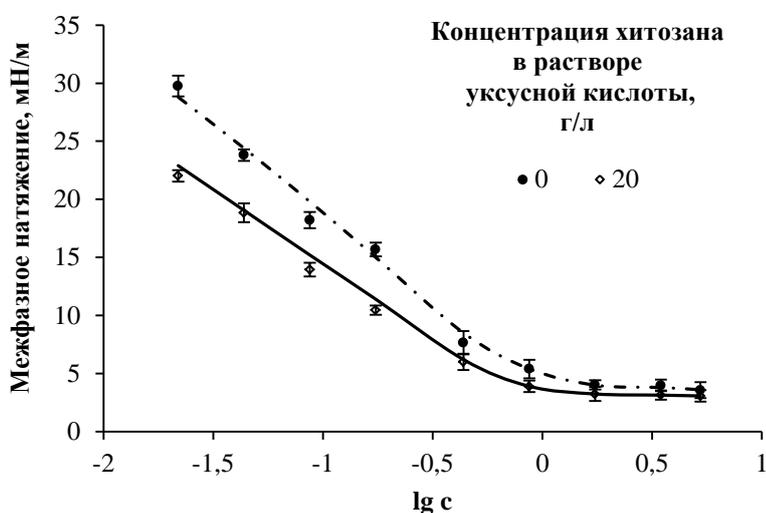
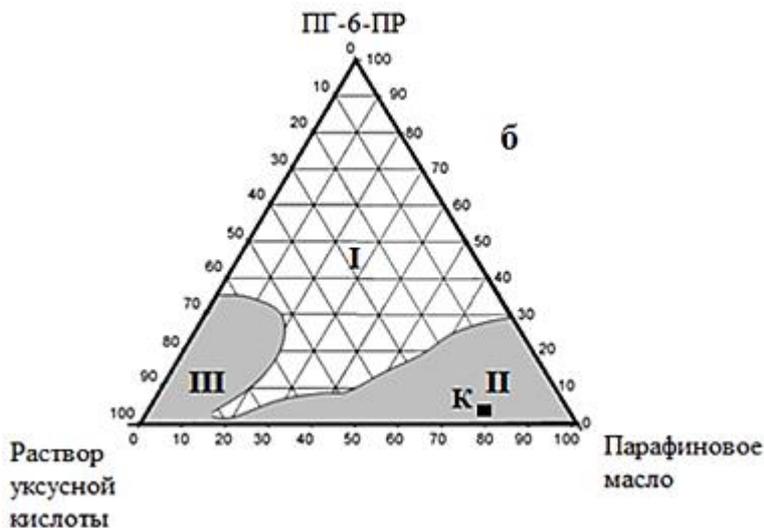
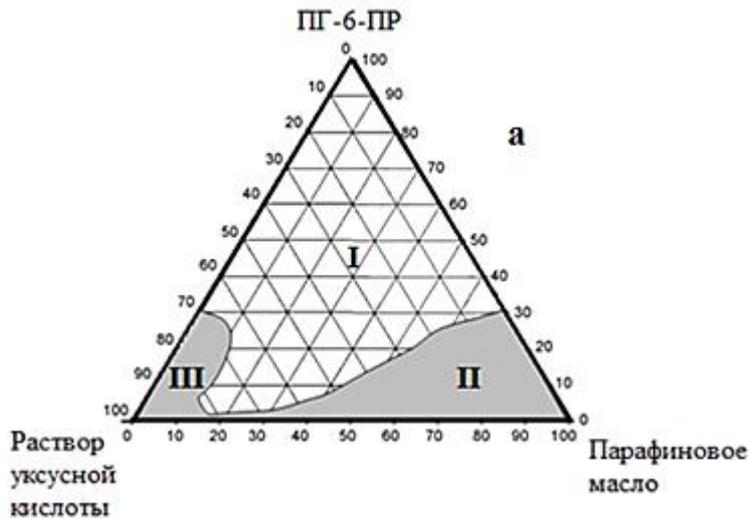


Рисунок 3. Изотермы межфазного натяжения ПГ-6-ПР на границе раздела водный раствор уксусной кислоты/парафиновое масло при разных концентрациях хитозана в водной фазе.

занимает обширную площадь на диаграмме и при небольшом содержании ПАВ представляет собой стабильную эмульсию. При концентрации ПГ-6-ПР ~30% масс. на диаграмме появляются области расслоения (II, III), площадь которых увеличивается с ростом температуры. Область расслоения, расположенная в правом нижнем углу диаграммы, представляется наиболее оптимальной для получения хитозановых микросфер в связи с тем, что равновесные эмульсии на основе данных систем являются менее концентрированными, так как капли дисперсной фазы находятся в избытке масла, что способствует лучшему выделению микросфер.

С целью выбора оптимального соотношения исходных компонентов для получения микросфер на основе эмульсий вода/масло были определены границы области существования эмульсии в системе 2%й раствор уксусной кислоты/ПГ-6-ПР/парафиновое масло при 20°C и 60°C (рис.4).

Макроскопически однородная система (I)



**I** – макроскопически однородная система; области расслоения эмульсий: **II** – расслоение с отделением избытка масла; **III** – расслоение с отделением избытка воды.

Рисунок 4. Треугольники Гиббса системы 2%й раствор уксусной кислоты /ПГ-6-ПР/ парафиновое масло. Влияние состава и температуры на расслоение эмульсий: 20°C (а) и 60°C (б).

Поскольку на практике для получения эмульсий удобнее использовать низкие концентрации ПАВ, нами были более подробно рассмотрены характеристики систем, полученных при концентрациях ПГ-6-ПР 2% масс. Свежеприготовленные эмульсии выдерживали при комнатной температуре до полного расслоения. Затем избыток масляной фазы декантировали и проводили дисперсионный анализ полученных образцов эмульсий. Было показано, что с увеличением содержания водной фазы в системе от 10% масс. до 80% масс., среднемассовый диаметр капель эмульсий падает от 17,2 мкм до 10 мкм, а концентрация внутренней фазы увеличивается от 39 до 77% об. (рис.5а). Рост доли внутренней фазы в обратной эмульсии способствует усилению взаимодействия частиц, вызванного их

сближением, и приводит к формированию пространственной структуры; при этом между частицами остается прослойка прочных поверхностных слоев, которая препятствует коалесценции капель и росту их размеров. Для дальнейших

исследований было выбрано соотношение вода/масло 2:8 (точка К, рис.4б), поскольку в этом случае не возникает стесненных условий и частицы хитозанового геля могут быть легко выделены из системы, а капли дисперсной фазы данной эмульсии имеют сравнительно небольшие размеры.

Было изучено влияние концентрации ПАВ в исходной системе и концентрации хитозана в водном растворе уксусной кислоты на свойства обратных эмульсий (рис.5 б, в).

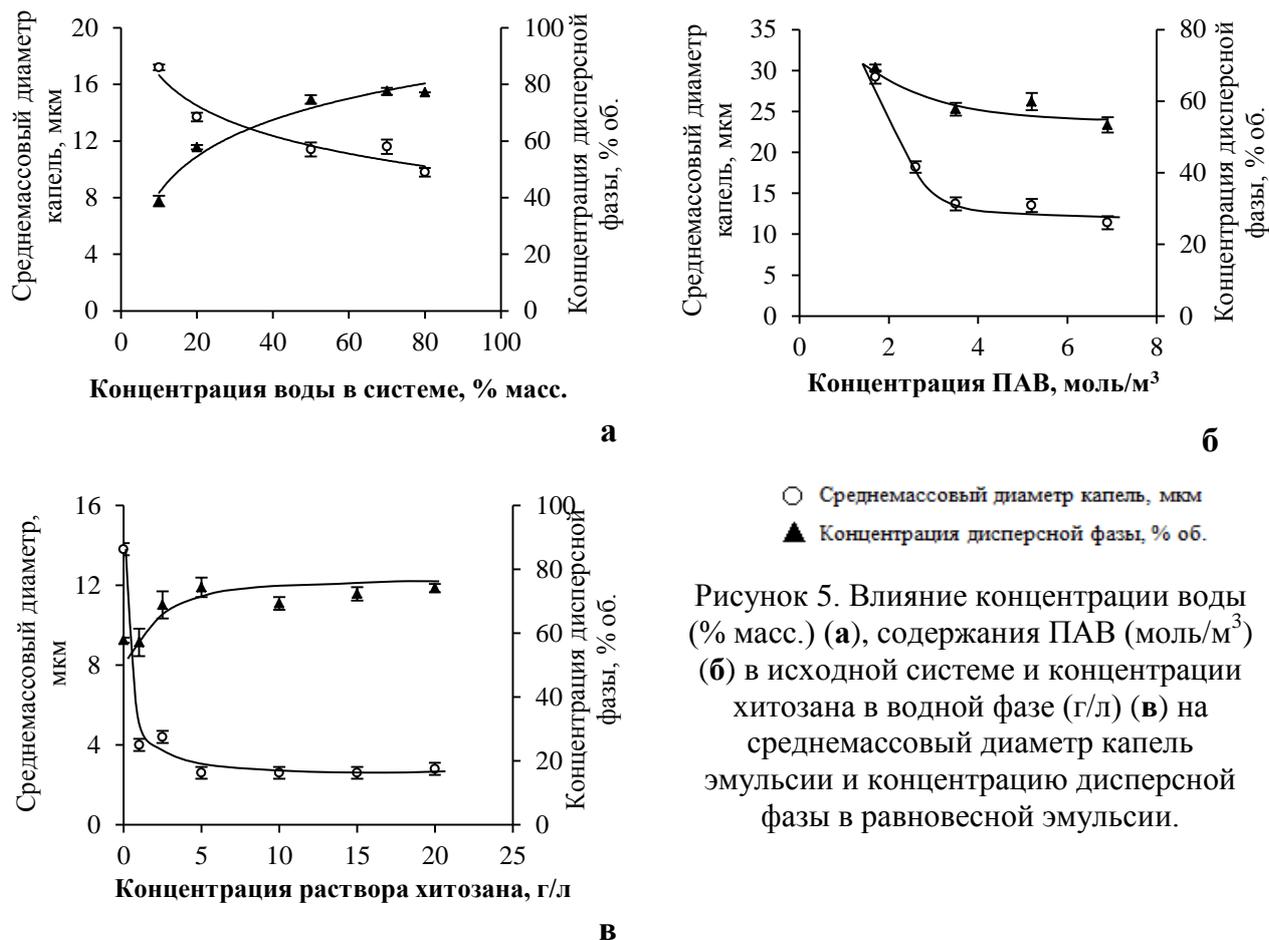


Рисунок 5. Влияние концентрации воды (% масс.) (а), содержания ПАВ (моль/м<sup>3</sup>) (б) в исходной системе и концентрации хитозана в водной фазе (г/л) (в) на среднемассовый диаметр каплей эмульсии и концентрацию дисперсной фазы в равновесной эмульсии.

Установлено, что рост содержания ПАВ в системе от 1,7 моль/м<sup>3</sup> (1% масс.) до 7,2 моль/м<sup>3</sup> (4% масс.) способствует понижению значения среднемассового диаметра каплей от 28 до 12 мкм, а также уменьшению концентрации дисперсной фазы в эмульсии от 69,3 %об. до 53,4% об. (рис.5б). Поскольку почти все используемые в данном исследовании концентрации ПГ-6-ПР выше ККМ, можно говорить о том, что уменьшение среднего диаметра каплей с ростом концентрации ПАВ связано с повышением вязкости дисперсионной среды вследствие образования мицеллярных систем в растворе ПАВ (рис.6). Это затрудняет ее вытеснение из зазора между

частицами и снижает вероятность коалесценции. На рисунке 7 приведены кривые зависимости эффективной вязкости эмульсий в/м с одинаковой концентрацией дисперсной фазы и разным содержанием ПГ-6-ПР от напряжения сдвига.

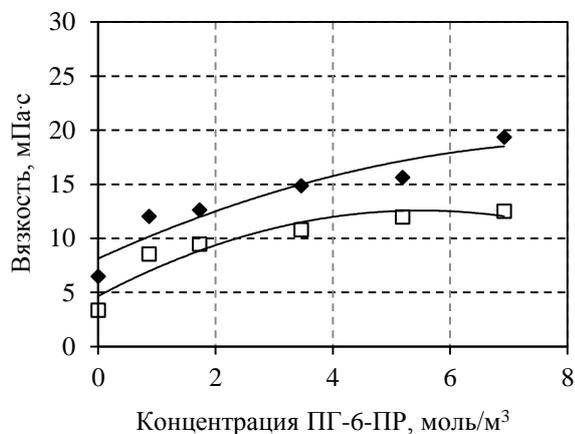


Рисунок 6. Вязкость растворов ПГ-6-ПР в парафиновом масле при 20 °C (◆) и 60 °C (□).

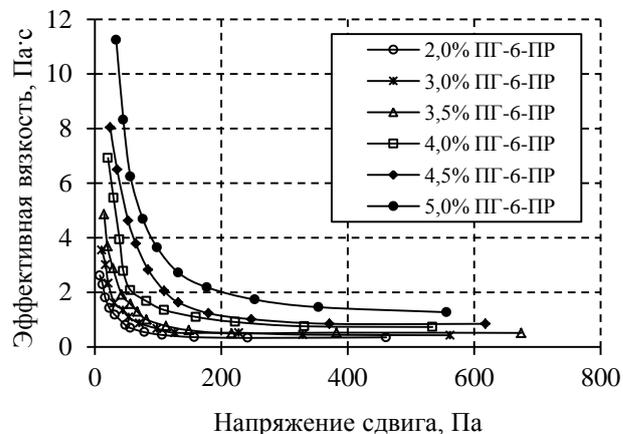


Рисунок 7. Влияние содержания ПГ-6-ПР (% масс.) на эффективную вязкость эмульсий.

Установлено, что с увеличением содержания ПГ-6-ПР в системе от 2% до 5% масс. происходит значительное повышение вязкости эмульсии от 2,6 до 11,2 Па·с. Расчет прочности единичных контактов в соответствии с моделью Потанина А.А. и Урьева Н.Б. показал, что это обусловлено образованием коагуляционной пространственной структуры (таблица 3). Наряду с ростом вязкости дисперсионной среды за счет формирования структуры мицелл в растворе ПАВ, взаимная фиксация частиц дисперсной фазы, разделенных прослойками поверхностных слоев, способствует снижению интенсивности процесса коалесценции капель эмульсии. Это приводит к уменьшению их размеров.

Таблица 3.

Расчет прочности единичных контактов в исследуемых эмульсиях в соответствии с моделью Потанина А.А. и Урьева Н.Б.

Концентрация ПГ-6-ПР, % масс.	2,0	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
Прочность единичных контактов $\bar{F}_1 \cdot 10^9$ , Н	0,8	1,2	1,1	1,6	1,5	1,9

Было установлено, что с увеличением содержания полимера в водной фазе происходит значительное уменьшение размеров микрокапель (от 13,8 мкм до 2,6 мкм) (рис.5в), полидисперсности (рис.8) и повышение концентрации дисперсной фазы в равновесных эмульсиях (от ~ 57% об. до ~73 % об.). Это свидетельствует о росте

агрегативной устойчивости системы, который можно объяснить образованием комплекса полимер – ПАВ на межфазной границе, стабилизирующим капли дисперсной фазы.

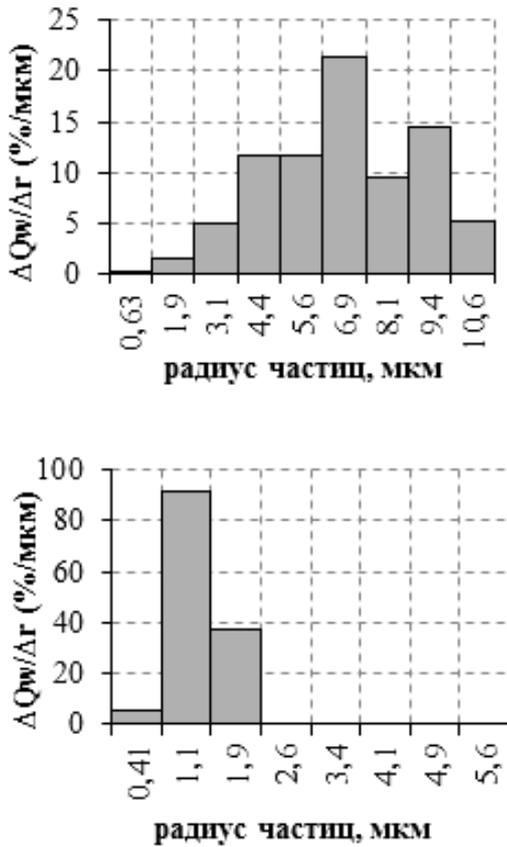


Рисунок 8. Гистограммы массового распределения по размерам капель обратных эмульсий, полученных на основе систем с различным содержанием хитозана в растворе уксусной кислоты: (а) – 0 г/л; (б) – 10 г/л.

По результатам исследования для последующей работы были выбраны концентрации ПГ-6-ПР в системе 3,5 моль/м<sup>3</sup> (2% масс.) и хитозана в водной фазе 10 г/л.

Данные, полученные нами в результате изучения адсорбционной способности ПАВ и хитозана, а также дисперсности и агрегативной устойчивости эмульсий на их основе, позволяют регулировать такие характеристики хитозановых микросфер как размеры и полидисперсность, устойчивость к агрегации, степень сшивки хитозанового геля.

Хитозановые микросферы были получены на основе эмульсии вода/парафиновое масло, стабилизированной ПГ-6-ПР, с последующим отверждением капель дисперсной фазы лимонной кислотой, добавление которой к эмульсии приводит к сшивке макромолекул хитозана и формированию прочного гидрогеля. Форму, размеры и распределение по размерам микросфер оценивали с помощью оптической

и электронной микроскопии (рис.9). Установлено, что зависимости средних размеров микросфер от соотношения фаз вода:масло, концентрации ПАВ и полимера в исходной системе в целом коррелируют с зависимостями среднемассовых диаметров капель исходных эмульсий от тех же параметров (рис.10). Исключением является значительное увеличение размеров частиц при использовании высоких концентраций ПАВ и хитозана (4% масс. и 20 г/л, соответственно), не наблюдаемое в исходных эмульсиях. В данном случае рост размеров микросфер связан с их агрегацией в процессе выделения и отмывки центрифугированием.

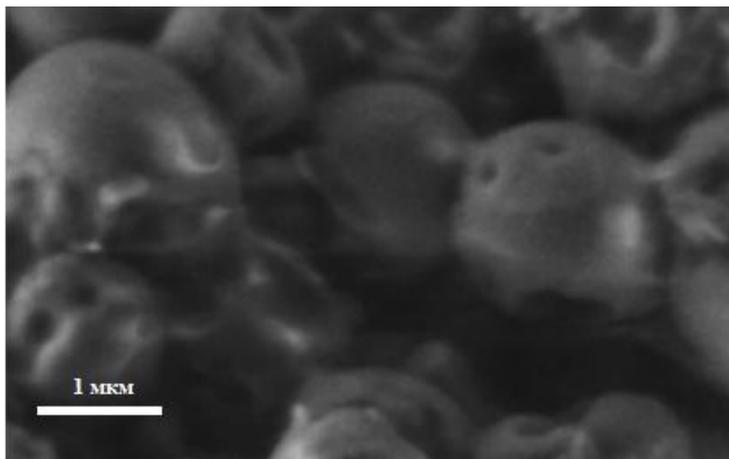
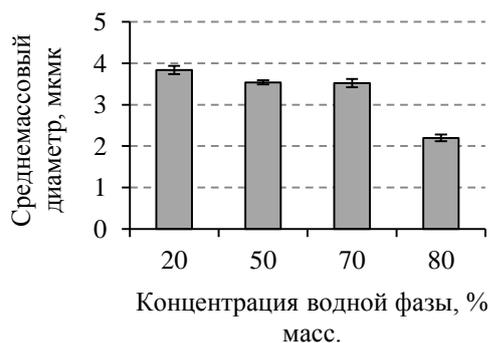


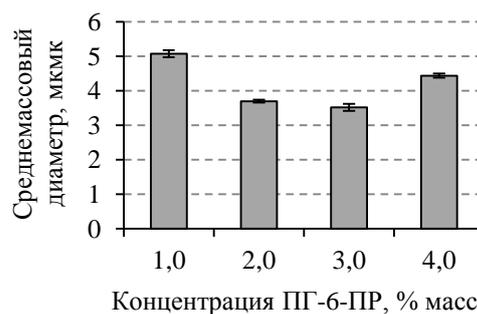
Рисунок 9. Микрофотография образца микросфер, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа Jeol JSM-6700F.

Включение инсулина осуществляли методом сорбции. Микросферы выдерживали в растворе инсулина с концентрацией 1,55 г/л в течение 48 часов. Наполненные микросферы выделяли и высушивали; в растворах определяли количество остаточного пептида методом Брэдфорд. Эффективность

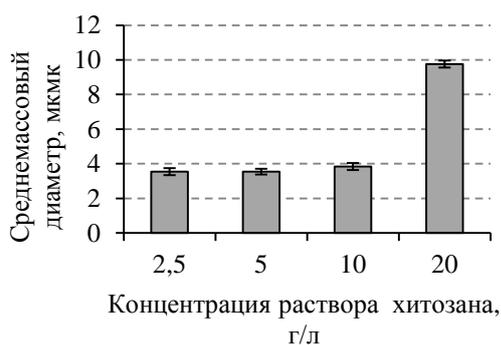
включения инсулина в микросферы определяли по разнице между первоначальной его концентрацией в растворе и концентрацией после включения. Результаты приведены на рис. 11.



а



б



в

Рисунок 10. Влияние содержания водной фазы (% масс.) (а), концентрации ПГ-6-ПР (% масс.) (б) в исходной системе и концентрации хитозана в водной фазе (г/л) (в) на средние размеры образцов микросфер.

Установлено, что с увеличением содержания водной фазы в исходной системе от 20% до 80% масс., эффективность включения инсулина в микросферы понижается от 79% до 52% (рис.11а). Это связано с меньшей свободной для адсорбции межфазной поверхностью более агрегированных частиц.

Рост концентрации ПГПР в исходной системе не оказывал значительного влияния на эффективность включения БАВ (рис. 11б). При увеличении концентрации полимера в водной фазе от 2,5 до 20 г/л, эффективность включения уменьшалась от 80% до 32,6% (рис. 11в). Понижение эффективности включения связано с ростом степени сшивки образца при увеличении содержания хитозана. Рост степени сшивки приводит к снижению способности гелевых частиц к набуханию и уменьшает эффективность включения инсулина.



а



б

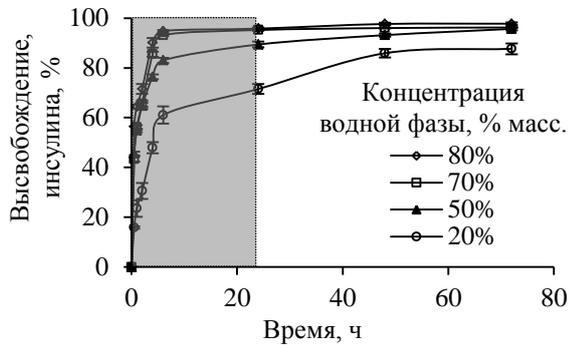


в

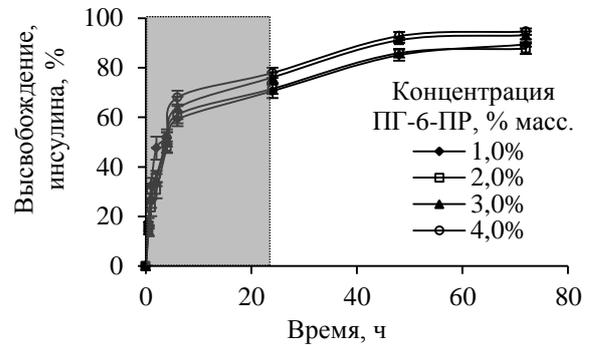
Рисунок 11. Влияние содержания водной фазы (% масс.) (а), концентрации ПГ-6-ПР (% масс.) (б) в исходной системе и концентрации хитозана в водной фазе (г/л) (в) на эффективность включения инсулина в микросферы.

Была исследована кинетика высвобождения инсулина из хитозановых микросфер в фосфатно-солевой буфер при рН 7,4. Показано, что высвобождение основного количества включенного пептида происходит за 24 часа (рис.12). Высвобождение лекарственного вещества из микросфер может происходить за счет диффузии молекул протеина или деградации полимерной матрицы. При этом первоначально происходит быстрое высвобождение молекул, адсорбированных на поверхности частиц, и лишь затем – более медленное высвобождение БАВ, включенного внутрь микросфер. Рост процента первоначального высвобождения инсулина от 61% до 95% при увеличении концентраций водной фазы в исходной системе от 20% до 80% масс. (рис. 12а), также как и его повышение от 60% до 70% при увеличении содержания ПАВ в системе от 1 до 4% масс. (рис. 12б), свидетельствует о том, что в процессе сорбции значительная часть молекул остается

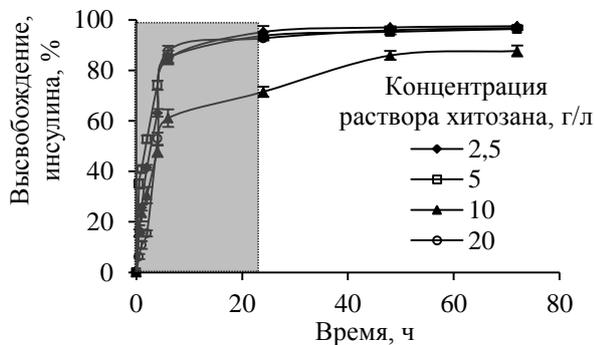
на поверхности микросфер. Это связано с тем, что в более агрегированных образцах включаемое вещество адсорбируется на поверхности и лишь сравнительно небольшое количество молекул инсулина проникает внутрь микросфер.



а



б



в

Рисунок 12. Влияние содержания водной фазы (% масс.) (а), концентрации ПГ-6-ПР (% масс.) (б) в исходной системе и концентрации хитозана в водной фазе (г/л) (в) на кинетику высвобождения инсулина в фосфатно-солевой буфер (рН 7,4).

Выделенная цветом область соответствует высвобождению инсулина за 24 часа.

Повышение концентрации хитозана в водной фазе от 2,5 до 20 г/л приводит к уменьшению процента первоначального высвобождения от 85% до 61% (рис. 12в). В данном случае на процент первоначального высвобождения и скорость высвобождения оказывает влияние степень сшивки полимерной матрицы. При небольшом содержании полимера в образце низкая степень сшивки обеспечивает высокий процент набухания гелевых частиц и, следовательно, большую эффективность включения. При этом значительная часть макромолекул инсулина диффундирует внутрь микросфер. Однако, после помещения наполненных микросфер в фосфатно-солевой буфер, низкая степень сшивки полимерной матрицы не позволяет молекулам БАВ удерживаться внутри таких частиц, вследствие этого происходит быстрое высвобождение лекарственного вещества.

Таким образом, комплекс проведенных исследований предоставляет возможность регулировать размеры, устойчивость к агрегации хитозановых микросфер, эффективность включения в них инсулина и скорость выделения БАВ. Помещение хитозановых микросфер с заданными свойствами в капсулы с

кислотостойким покрытием позволило бы защитить включенный инсулин от гидролиза под действием кислой среды желудка и обеспечить его контролируемое высвобождение в тонком кишечнике при рН 7,4. При этом мукоадгезивные свойства хитозана должны способствовать адсорбции микросфер на стенках тонкого кишечника и повышать эффективность всасывания препарата.

### ВЫВОДЫ

1. Выявлены закономерности адсорбции ПАВ ряда полиглицерил полирицинолеатов на границе раздела фаз «раствор уксусной кислоты – парафиновое масло». Показано, что ПГ-6-ПР в большей степени снижает межфазное натяжение ( $\sigma_{\min}$  3,6 мН/м) по сравнению с ПГ-10-ПР ( $\sigma_{\min}$  5,4 мН/м), а также обладает меньшим значением ККМ (2,3 и 2,5 моль/м<sup>3</sup>, соответственно), поэтому является более эффективным эмульгатором для получения обратных эмульсий.
2. Исследование зависимости межфазного натяжения от концентрации ПАВ в системах ПАВ – хитозан позволило сделать вывод о том, что на межфазной границе вода/масло происходит образование комплекса между молекулами ПАВ и хитозана.
3. Исследование влияния состава и температуры на положение границ области существования эмульсии и областей расслоения в системе раствор уксусной кислоты/полиглицерил полирицинолеат/парафиновое масло позволило подобрать соотношение водной и масляной фаз (2:8) для получения микросфер наиболее устойчивых к агрегации в процессе их выделения и отмывки, а также обладающих сравнительно небольшими размерами и высокой эффективностью включения БАВ.
4. Изучено влияние адсорбционной способности ПАВ и хитозана на коллоидно-химические характеристики полученных на их основе эмульсий и свойства хитозановых микросфер. Определены условия получения микросфер с регулируемым размером, плотностью сшивки полимерной матрицы и свободной для адсорбции инсулина поверхностью частиц. Установлены оптимальные в исследуемом диапазоне концентрации ПГ-6-ПР (2% масс.) и хитозана (0,2% масс. в исходной системе (10 г/л в водной фазе)).
5. На основе эмульсий вода – парафиновое масло, стабилизированных ПППР, получены хитозановые микросферы с размерами 2-4 мкм, способные обеспечивать эффективность включения инсулина до 80% и его высвобождение от 80 до 100% в течение 24 часов.

**Список опубликованных по теме диссертации работ:**

1. Седякина Н.Е., Островский К.П., Волкова А.Е., Авраменко Г.В. Исследование адсорбции ПАВ ряда полиглицерил полирицинолеатов на границе раздела фаз «раствор уксусной кислоты – парафиновое масло» и оценка их влияния на фазовые границы существования эмульсии // Бутлеровские сообщения. 2012. Т.32. №11. С. 15-23.
2. Седякина Н.Е., Авраменко Г.В. Влияние неионогенных ПАВ на характеристики хитозановых микросфер с включенным белком // Химическая технология. 2014. №2. С.112-117.
3. Седякина Н.Е., Островский К.П., Силаева А.О., Кривощепов А.Ф., Авраменко Г.В. Влияние концентрации ПАВ и полимера на свойства эмульсий вода – парафиновое масло // Химическая технология. 2014. №9. С.522-527.
4. Седякина Н.Е., Силаева А.О., Авраменко Г.В. Получение и характеристики хитозановых микросфер с включенным инсулином // Технология и анализ косметических средств и фармацевтических препаратов: сб. тезисов Научно-практической конференции. РХТУ им. Д.И. Менделеева. Москва, 2011. С.34.
5. Седякина Н.Е., Силаева А.О., Тищенко Е.Ю., Авраменко Г.В. Хитозановые микросферы как системы контролируемой доставки лекарственных веществ // Современные проблемы химической науки и образования: сб. материалов Всероссийской конференции с международным участием. Чебоксары, 2012. Т.2. С.180.
6. Седякина Н.Е., Прибыткова А.П., Авраменко Г.В. Изучение комплексообразования хитозана с лимонной кислотой // Успехи синтеза и комплексообразования: тезисы докладов Второй Всероссийской научной конференции с международным участием. М.: РУДН, 2012. Ч.2. С.157.
7. Седякина Н.Е., Силаева А.О., Авраменко Г.В. Инсулин-содержащие микросферы для пероральной доставки белка // Новые химико-фармацевтические технологии: сб. научных трудов Международной научно-практической конференции. М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2012. С.221-224.
8. Седякина Н.Е., Силаева А.О., Авраменко Г.В. Изучение свойств эмульсий, стабилизированных ПАВ ряда полиглицерил полирицинолеатов // Фундаментальные и прикладные исследования, разработка и применение высоких технологий в

промышленности и экономике: сб. статей XIV Международной научно-практической конференции. Санкт-Петербург, 2012. Ч.2. С.210-212.

9. Седякина Н.Е., Островский К.П., Авраменко Г.В. Влияние концентрации полиглицерил-6-полирицинолеата на свойства эмульсий вода/парафиновое масло и хитозановых микросфер, полученных на их основе // Сб. научных трудов 68-й региональной конференции по фармации и фармакологии. Пятигорск, 2013. С.200.

10. Седякина Н.Е., Авраменко Г.В. Изучение влияния поверхностно-активных веществ на свойства хитозановых микросфер с включенным белком // Белки и пептиды: материалы VI Российского симпозиума. Уфа, 2013. С.275.

11. Sedyakina N.E., Krivoshchepov A.F., Avramenko G.V. Effect of chitosan on the properties of water-in-oil emulsions stabilized by nonionic surfactant // IV International Conference on Colloid Chemistry and Physicochemical Mechanics: book of abstracts, IC-CCPCM 2013. Moscow, 2013. P. 392-393.

12. Sedyakina N.E., Avramenko G.V. Biodegradable microspheres based on chitosan as promising insulin delivery systems // IV International Conference on Colloid Chemistry and Physicochemical Mechanics: book of abstracts, IC-CCPCM 2013. Moscow, 2013. P. 494.

13. Седякина Н.Е., Островский К.П., Кривощепов А.Ф., Авраменко Г.В. Исследование совместной адсорбции хитозана и ПАВ ряда полиглицерил полирицинолеатов на межфазной границе вода – парафиновое масло // Сб. трудов Всероссийской научной конференции по фундаментальным вопросам адсорбции. Тверь, 2013. С. 243.

14. Седякина Н.Е., Островский К.П., Авраменко Г.В. Влияние лимонной кислоты на агрегативную устойчивость обратных эмульсий, содержащих хитозан // Успехи синтеза и комплексообразования: тезисы докладов Третьей Всероссийской научной конференции с международным участием. М.: РУДН, 2014. Ч.2. С.216.

15. Sedyakina N.E., Pribytkova A.P., Avramenko G.V. Study of the crosslinking chitosan – citric acid interaction // High-Tech in Chemical Engineering – 2014: abstracts of XV International Scientific Conference. Zvenigorod, Moscow region, 2014. P. 299.