

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт инженерной физики и радиоэлектроники
Базовая кафедра фотоники и лазерных технологий

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий баз. каф. ФиЛТ
_____ А.Н. Втюрин
« ____ » _____ 2018 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Частицы из разнозаряженных природных полисахаридов как система для
инкорпорирования лекарств

16.04.01 «Техническая физика»

16.04.01.02 «Оптическая физика и квантовая электроника»

Научный руководитель	_____	профессор, д-р физ. – мат. наук	Е. А. Слюсарева
Выпускник	_____		И.Ю. Горбатенко
Рецензент	_____	профессор, д-р физ. – мат. наук	В.В. Салмин

Красноярск 2018

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа по теме «Частицы из разнозаряженных природных полисахаридов как система для инкорпорирования лекарств» содержит 38 страниц текстового документа, 17 иллюстраций, 11 формул, 30 использованных источников.

ХИТОЗАН, СУЛЬФАТИРОВАННЫЙ АРАБИНОГАЛАКТАН, ЭРИТРОЗИН В, ПОГЛОЩЕНИЕ, ЗАКОН БУГЕРА – ЛАМБЕРТА – БЕРА, ЗАКОН РЕЛЕЯ, ФОРМУЛА СТОКСА – ЭЙНШТЕЙНА.

Целью работы является получение и оптико-спектральная характеристика полиэлектролитных комплексов сульфатированный арабиногалактан (САГ) - хитозан, а также экспериментальное обоснование возможности использования частиц из разнозаряженных природных полисахаридов как систему для инкорпорирования лекарств.

В ходе работы был произведен синтез полиэлектролитных комплексов САГ – хитозан. Прототипом лекарственного средства был выбран анионный краситель эритрозин В.

Полученные новые частицы из хитозана и САГ имеют размер около 0,3 мкм и ζ -потенциал около +50 мВ. Величина ζ -потенциала, обеспечивающая коллоидную стабильность раствора, сохраняется на протяжении не менее 2-х месяцев (размер частиц также сохраняется). Спектрофотометрическим методом было показано, что при инкорпорировании красителя в процессе синтеза частиц до 84%, при внешнем инкорпорировании до 73% красителя адсорбируется на поверхности частиц, и полностью сохраняется в связанном состоянии не менее 12 дней не зависимо от рН использованного буфера (4,5, 5,4).

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
1 Литературный обзор	6
1.1 Объекты.....	6
1.1.1 Хитозан	6
1.1.2 Сульфатированный арабаногалактан.....	8
1.1.3 Анионный краситель эритрозин В.....	10
1.2 Оптические явления.....	11
1.2.1 Поглощение	11
1.2.2 Рассеяние света	13
1.3 Экспериментальные методы.....	14
1.3.1 Абсорбционная спектроскопия	14
1.3.2 Динамическое светорассеяние.....	16
1.3.3 Дзета-потенциал.....	17
1.4 Необходимость и способы инкорпорирования.....	18
2 Экспериментальная часть.....	21
2.1 Материалы и методы	21
2.1.1 Биополимеры	21
2.1.2 Приборы и методика измерения спектров	21
2.1.3 Обработка результатов измерений.....	22
2.2 Инкорпорирование красителя в биополимерные частицы.....	24
2.3 Результаты и обсуждение.....	30
Заключение	35
Список использованных источников	36

ВВЕДЕНИЕ

Современный производитель лекарственных препаратов постоянно разрабатывает технологии получения многокомпонентных препаратов с определенными свойствами, осваивает новые технологии, главной задачей которых является обеспечение безопасности и повышение эффективности лекарственных веществ. Одним из наиболее перспективных методов регулирования свойств лекарственных веществ является инкапсуляция в оболочку. Например, известно, что антираковый препарат доксорубин эффективен, но обладает низкой биодоступностью. Улучшить биодоступность доксорубина можно заключив его в микромолекулярные наноконтейнеры [1] из хитозаносодержащих пленкообразующих субстанций [2].

Инкапсулирование – это процесс, при котором мельчайшие частицы жидкого, твердого или газообразного активного ингредиента упакованы во второй материал для защиты его от воздействий окружающей среды [3].

В последнее время возрастает интерес к использованию биологически активных веществ природного происхождения, которые более безопасны по сравнению с синтетическими аналогами. Особый интерес представляют полиионные полисахариды. Среди природных полианионов, наиболее перспективным является водорастворимый полисахарид арабиногалактан (АГ) из древесины лиственницы, обладающий высокой биологической активностью. После сульфатирования АГ представляет собой анионный водорастворимый полимер с антикоагулянтным и гиполипидемическим действием. Среди природных поликатионных полисахаридов широким спектром активности обладает хитозан – линейный полисахарид, получаемый из природного материала хитина (основного структурного вещества покровов ракообразных) путем деацетилирования, известен своими антимикробными и уникальными адсорбционными свойствами.

Частицы из разнозаряженных полимеров можно использовать в качестве носителя лекарственных средств с улучшенными транспортными свойствами без потери функциональных свойств каждого из полимеров.

Синтез материалов на основе хитозана с функциональными органическими молекулами и исследование их свойств позволит получить новые материалы с уникальными свойствами, усиленными сочетанием химических, флуоресцентных, морфологических свойств элементов, входящих в состав композита.

Цель исследования: получение и оптико-спектральная характеристика полиэлектролитных комплексов сульфатированный арабиногалактан (САГ) – хитозан, а также экспериментальное обоснование возможности использования частиц из разнозаряженных природных полисахаридов как систему для инкорпорирования лекарств.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- 1) подобрать условия образования растворимых комплексов САГ – хитозан и реализовать синтез стабильных коллоидных растворов;
- 2) инкапсулировать анионный краситель (модель лекарственного препарата) в биополимерные комплексы на основе хитозана и САГ;
- 3) провести оптико-спектральную аттестацию морфологических и адсорбционных свойств нового материала.

1 Литературный обзор

1.1 Объекты

1.1.1 Хитозан

Широкораспространенный в природе биополимер хитин открыли Н. Braconnot, А. Odier (1811). Его производное – хитозан обнаружил С. Rouget (1859). В планктоне океанов и морей ежегодно обновляются миллиарды тонн хитина. Хитин содержится в экзоскелете беспозвоночных животных, панцире крабов и других ракообразных, кутикуле насекомых, стенке клеток грибов, оболочке микробов. В последние десятилетия хитин и хитозан интенсивно применяют в медицине, ветеринарии, косметологии, сельском хозяйстве, пищевой промышленности, биотехнологии.

По химической структуре хитин является линейным аминополисахаридом, цепь которого состоит из N-ацетил-2-амино-2-дезоксид-β-D-гликопиранозных звеньев (рисунок 1).

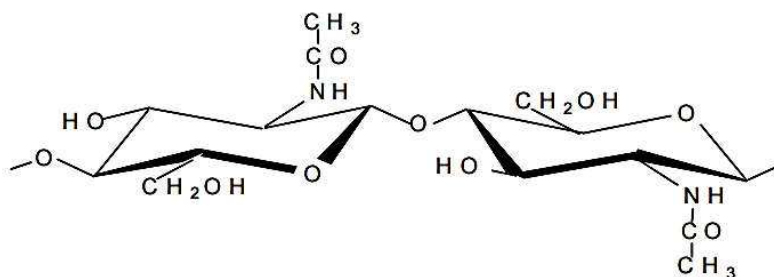


Рисунок 1 – Структурная формула хитина

Так как практически нерастворимый хитин не нашел широкого применения в какой-либо отрасли промышленности, наибольший практический интерес представляет его производное – хитозан.

Хитозан – это катионный аминополисахарид природного происхождения, сополимер глюкозамина и N-ацетилглюкозамина, получение которого осуществляют путем частичного деацетилирования хитина (рисунок 2) [4, 5, 6].

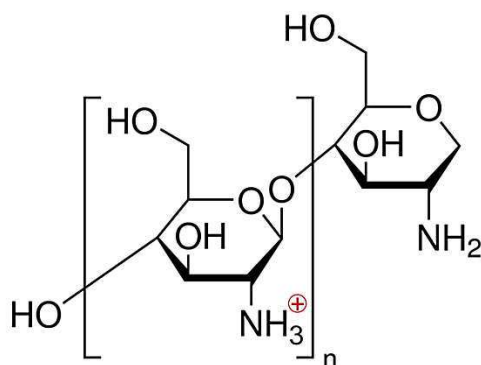


Рисунок 2 – Структурная формула хитозана

Хитозан способен действовать как хелатирующий агент, формировать пленки и, при взаимодействии с противоположно заряженными полимерами, образовывать полиэлектролитные комплексы [6, 7]. В твердом состоянии хитозан представляет собой аморфно-кристаллический полимер, который существует в нескольких полиморфных модификациях [6, 8].

Хитозан нерастворим при нейтральных и щелочных значениях pH, но образует водорастворимые соли в разбавленных растворах органических и неорганических кислот [6, 9]. На растворимость хитозана значительное влияние оказывают степень деацетилирования полимера, его молекулярная масса и распределение N-ацетильных групп в молекуле [6, 8].

Применение хитозана в медицине и фармацевтике обусловлено его свойствами биодegradации, биосовместимости, отсутствии токсичности, мукоадгезии, способности оказывать противовирусное, гепатопротекторное, иммуностимулирующее, антиоксидантное, антибактериальное действия [4, 6, 10, 11].

Преимуществом хитозановых микросфер как систем доставки лечебных веществ является возможность получить желаемый профиль высвобождения препарата посредством использования различных соотношений препарат-полимер и изменения молекулярной массы полимера в процессе получения носителя лекарственного вещества. Являясь небольшими по размеру, микросферы имеют большое соотношение поверхность-объем, и могут быть использованы для контролируемого высвобождения нерастворимых лекарственных препаратов [6].

Наличие аминогрупп в молекуле хитозана предоставляет возможность получать его полиэлектролитные комплексы с рядом полимеров, имеющих в своем составе карбоксильные и сульфогруппы, а также осуществлять сшивку хитозана с низкомолекулярными сшивающими агентами с образованием ковалентной, либо ионной связи. Варьирование условий, при которых происходит сшивка или образование полиэлектролитный комплекс, позволяет регулировать прочность полимерной матрицы микросфер [6].

1.1.2 Сульфатированный арабиногалактан

Перспективным водорастворимым полисахаридом является арабиногалактан (АГ) из древесины лиственницы.

АГ принадлежит к классу углеводов. Это природный полисахарид, чья молекула состоит из звеньев галактозы и арабинозы, соединенных в соотношении: 6 звеньев галактозы к 1 звену арабинозы (рисунок 3).

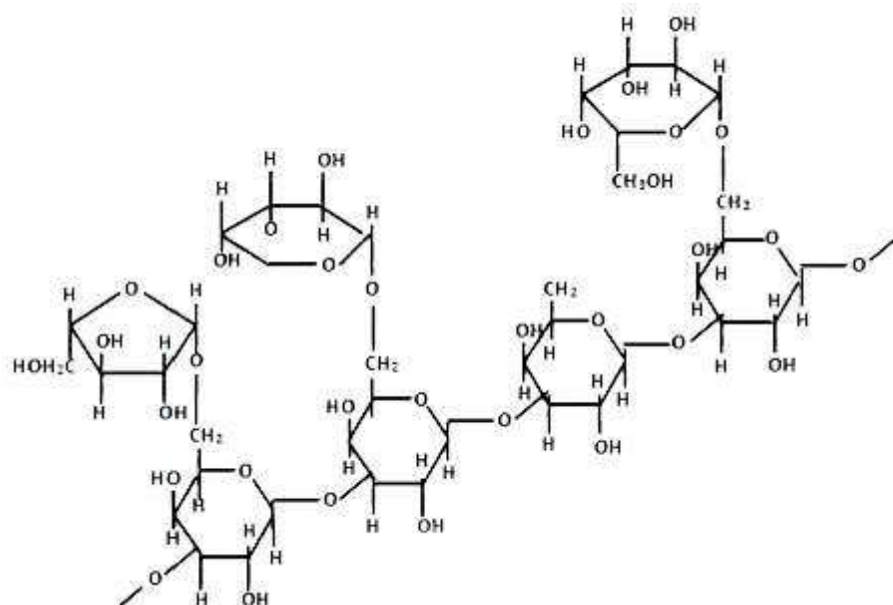


Рисунок 3 – Структурная формула арабиногалактана

Согласно Дж. Аспиналлу, арабиногалактаны подразделяются на 2 типа:

- арабино – 4 – галактаны (тип I);
- арабино – 3,6 – галактаны (тип II).

АГ II типа наиболее распространены и имеют существенное практическое значение. Они составляют основу камедей покрытосеменных растений, например акации, а также голосеменных, особенно лиственницы (*p. Larix*).

АГ, полученный из древесины лиственницы, представляет собой сухой, не смачиваемый порошок с легким хвойным запахом и сладковатым вкусом. Содержание арабиногалактана в ней достигает высокой степени чистоты (96-98%).

АГ обладает высокой биологической активностью (иммуномодулирующая, пребиотическая, гипополидемическая, митогенная, антимуtagenная, гепатопротекторная, гастропротекторная мембранотропность и др.). Он характеризуется также комплексом других чрезвычайно ценных свойств (низкая токсичность, хорошая растворимость в холодной воде, уникально низкая вязкость концентрированных водных растворов, способность связывать жир и удерживать влагу, диспергирующие свойства и др.). Совокупность этих свойств открывает широкие перспективы использования АГ в медицине, ветеринарии, пищевой и косметической промышленности [12, 13]. Значительный интерес для различных отраслей народного хозяйства, и в первую очередь для медицины, представляют продукты модифицирования АГ [12]. Например, сульфатированные производные АГ сохраняют водорастворимость и мембранотропность природного полисахарида, обладают антикоагулянтной и гипополидемической активностью, то есть введение сульфатных групп в структуру АГ делает его потенциальным гепариноидом, а также самостоятельным антимикробным агентом. Помимо этого, САГ благодаря своей полимерной структуре, может выполнять роль матрицы для направленного транспорта различных лекарственных препаратов, а также наследование наноструктурированной морфологии исходного АГ позволяет надеяться на сохранении его иммуномодуляторных и трансмембранных свойств в синтезе новых физиологически активных полимеров.

1.1.3 Анионный краситель эритрозин В

Пищевые красители — это соединения натурального, синтетического и неорганического (минерального) происхождения, которые используются для придания, усиления или восстановления окраски пищевых продуктов.

Эритрозиновый элемент – обычная натриевая соль, краситель синтетической природы (рисунок 4). Синтезируется в лабораторных условиях при наличии ряда реагентов и химических компонентов. Зачастую из солей натрия выделяют флуоресцеин, который успешно йодируют в растворах. Получается Е 127 и вредные примеси хлорида и сульфата натрия. Соединение относят к пищевым красителям, которые придают особый окрас, восстанавливают первоначальный цвет, который был утрачен при обработке. Эритрозин имеет вид красноватого порошка либо гранулята. Независимо от формы прекрасно растворяется в воде и спирте, окрашивая их в красноватый цвет. Совершенно инертно ведет себя в маслах и жирах. На сегодня палитра эритрозинового соединения стала довольно обширной – от грязно-розового до голубоватого оттенка. Запаха не имеет.

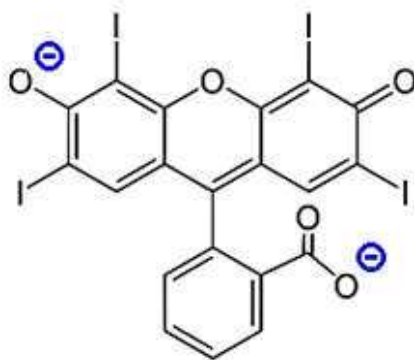


Рисунок 4 – Структурная формула эритрозин В

Краситель E127 относится к опасным веществам для здоровья человека, но не запрещенным в большинстве стран. Эритрозин широко используют в пищевой промышленности для окраски продуктов из фруктов. Но в соки он не добавляется, так как в условиях повышенной кислотности пищевая добавка

образует труднорастворимую кислоту с выпадением осадка. Встречается эритрозин в бисквите, печенье и засахаренной вишне.

Добавка используется не только в пищевой промышленности, но и в косметической, медицинской. С ее помощью придается окраска декоративной косметики и зубной пасте. Водорастворимые виды красителя используются для окрашивания натуральных волокон: хлопка, шелка и шерсти.

В структурной формуле эритрозина присутствует группа COOH , характерная для многих лекарств: аспирин, доксорубин и т.п.

1.2 Оптические явления

1.2.1 Поглощение

Электронные спектры поглощения используются для различных целей. Традиционными областями применения электронной спектроскопии являются качественный и количественный анализ. Однако на фоне других методов, используемых в идентификации органических соединений УФ спектры менее специфичны. Поэтому для определения структуры веществ их используют в сочетании с другими методами. В количественном анализе используются спектры поглощения не только в ультрафиолетовом диапазоне, но и в видимой области спектра.

Электронные спектры поглощения служат основными экспериментальными результатами, на которые опираются квантово-химические расчёты. Благодаря сочетанию экспериментальных и теоретических данных удаётся установить точную структуру вещества, смещение электронной плотности внутри молекулы, электронные состояния, геометрическую конфигурацию молекулы и различные физико-химические величины.

Количественный анализ растворов по электронным спектрам поглощения основан на зависимости относительной величины интенсивности светового

потока, прошедшего через раствор, от концентрации растворенных веществ, определяемой законом Бугера – Ламберта – Бера

$$D = \lg \left(\frac{I_0}{I} \right) = \varepsilon' Cl, \quad (1)$$

где I_0 и I – интенсивности падающего и прошедшего монохроматического светового потока через слой вещества толщиной l и концентрации C . Величина ε' зависящая от частоты монохроматического излучения, называется десятичным показателем поглощения на единицу концентрации вещества. Если концентрация выражена в молях на литр, а толщина слоя в сантиметрах, то ε' называют молярным десятичным коэффициентом экстинкции.

При проведении количественного анализа учитывается межмолекулярное взаимодействие растворителя и других компонентов. Для уменьшения влияния межмолекулярного взаимодействия на точность определения концентрации используют разведенные растворы исследуемого вещества, при которых в случае выполнения закона Бугера – Ламберта – Бера молярный десятичный коэффициент экстинкции возрастает с увеличением концентрации.

Нарушение закона Бугера – Ламберта – Бера происходит также при фотохимических превращениях растворенного вещества и при химическом взаимодействии его молекул между собой или с молекулами растворителя. При проведении абсорбционного анализа с использованием закона Бугера – Ламберта – Бера необходимо измерить зависимость интенсивностей входящего и выходящего из раствора световых потоков от длины волны монохроматического излучения. Основная трудность при таких измерениях состоит в том, что ослабление интенсивности света при прохождении через кювету связано не только с поглощением его растворенным веществом, но и с изменением его первоначального направления при отражениях от поверхностей стенок кюветы, а также в результате рассеяния поглощающей средой.

1.2.2 Рассеяние света

Рассеянием света называют явление, при котором распространяющийся в среде световой пучок отклоняется по всевозможным направлениям.

Необходимое условие для возникновения рассеяния света — наличие оптических неоднородностей, то есть, в частности, областей с иным, чем основная среда, показателем преломления.

Различают два основных вида неоднородностей:

1) мелкие инородные частицы в однородном прозрачном веществе. Такие среды являются мутными: дым (твердые частицы в газе), туман (капельки жидкости в газе), взвеси, эмульсии и т. п. Рассеяние в мутных средах называют явлением Тиндаля;

2) оптические неоднородности, возникающие в чистом веществе из-за статистического отклонения молекул от равномерного распределения (флуктуации плотности). Рассеяние света на неоднородностях этого типа называют молекулярным, например рассеяние света в атмосфере.

Если неоднородности распределены в среде достаточно равномерно, то уменьшение интенсивности проходящего света для рассеяния обоих типов описывается функцией

$$I = I_0 e^{-m_\lambda l}, \quad (2)$$

где m_λ – натуральный показатель рассеяния, зависящий от длины волны.

При молекулярном рассеянии, а также при рассеянии в мутной среде с неоднородностями, размеры которых малы по сравнению с длиной волны (меньше $0,2\lambda$), выполняется закон Релея:

Интенсивность рассеянного света (I_p) обратно пропорциональна четвертой степени длины волны (λ):

$$I_p \sim \frac{1}{\lambda^4} \quad (3)$$

Закон Релея объясняет некоторые явления, наблюдаемые в природе. Например, голубой цвет неба связан с тем, что в солнечном (белом) свете, рассеянном атмосферой, преобладают коротковолновые синие лучи.

1.3 Экспериментальные методы

1.3.1 Абсорбционная спектроскопия

Абсорбционная спектроскопия, изучает спектры поглощения электромагнитного излучения атомами и молекулами вещества в различных агрегатных состояниях. Интенсивность светового потока при его прохождении через исследуемую среду уменьшается вследствие превращения энергии излучения в различные формы внутренней энергии вещества и (или) в энергию вторичного излучения. Поглощательная способность вещества зависит главным образом от электронного строения атомов и молекул, а также от длины волны и поляризации падающего света, толщины слоя, концентрации вещества, наличия электрического и магнитного полей. Для измерения поглощательной способности используют спектрофотометры-оптические приборы, состоящие из источника света, камеры для образцов, монохроматора (призма или дифракционная решетка) и детектора. сигнал от детектора регистрируется в виде непрерывной кривой (спектра поглощения) или в виде таблиц, если спектрофотометр имеет встроенную ЭВМ. Применение абсорбционной спектроскопии основано на следующих законах.

1) Закон Бугера – Ламберта: если среда однородна и слой вещества перпендикулярен падающему параллельному световому потоку, то

$$I = I_0 e^{-kl}, \quad (4)$$

где I_0 и I – интенсивности соответственно падающего и прошедшего через вещество света;

l – толщина слоя;

k – коэффициент поглощения, который не зависит от толщины поглощающего слоя и интенсивности падающего излучения.

2) Закон Бера: каждая молекула или атом независимо от относительного расположения других молекул или атомов поглощает одну и ту же долю энергии излучения, то есть

$$k = \varepsilon C, \quad (5)$$

где C – концентрация вещества. Если C выражена в моль/л, то ε называют молярным коэффициентом поглощения. Отклонения от этого закона свидетельствуют об образовании димеров, полимеров, ассоциатов, о химическом взаимодействии поглощающих частиц.

3) Объединенный закон Бугера – Ламберта – Бера:

$$I = I_0 e^{-\varepsilon Cl} \quad (6)$$

По спектрам поглощения проводят качественный и количественный анализ веществ. Абсорбционная спектроскопия широко применяют для изучения строения вещества. Она особенно эффективна при исследовании процессов в жидких средах; по изменениям положения, интенсивности и формы полос поглощения судят об изменениях состава и строения поглощающих свет частиц без их выделения из растворов.

1.3.2 Динамическое светорассеяние

Для измерения размеров наночастиц используется метод динамического рассеяния света (ДРС). Данный метод позволяет определить коэффициент диффузии дисперсных частиц в жидкости путем анализа корреляционной функции флуктуаций интенсивности рассеянного света. Далее, из коэффициента диффузии рассчитывается радиус наночастиц.

Основные идеи метода динамического рассеяния света:

1) броуновское движение дисперсных частиц или макромолекул в жидкости приводит к флуктуациям локальной концентрации частиц. Результатом этого являются локальные неоднородности показателя преломления и соответственно - флуктуации интенсивности рассеянного света при прохождении лазерного луча через такую среду;

2) коэффициент диффузии частиц обратно пропорционален характерному времени релаксации флуктуаций интенсивности рассеянного света. Это характерное время, в свою очередь, есть время затухания экспоненциальной временной корреляционной функции рассеянного света, которая измеряется с помощью цифрового коррелятора;

3) размер частиц (гидродинамический радиус) рассчитывается по формуле Стокса-Эйнштейна, которая связывает размер частиц с их коэффициентом диффузии и вязкостью жидкости.

$$D = \frac{kT}{6\pi r\eta}, \quad (7)$$

где D – коэффициент диффузии;

η – вязкость среды;

r – радиус частицы;

k – коэффициент Больцмана;

T – абсолютная температура.

Метод динамического рассеяния света используется также для измерения скоростей потоков жидкостей и газов. Традиционно, этот вариант метода носит название лазерной доплеровской анемометрии (ЛДА). В частности, данная конфигурация метода ДРС используется для измерения электрофоретической подвижности наночастиц, откуда рассчитывается их дзета-потенциал.

1.3.3 Дзета-потенциал

Измерение дзета-потенциала используется для определения стабильности растворов и коллоидов.

В дисперсных системах на поверхности частиц (на границе раздела частица-дисперсионная среда) возникает двойной электрический слой. Двойной электрический слой представляет собой слой ионов, образующийся на поверхности частицы в результате адсорбции ионов из раствора или диссоциации поверхностных соединений. Поверхность частицы приобретает слой ионов определенного знака, равномерно распределенный по поверхности и создающий на ней поверхностный заряд. Эти ионы называют потенциалопределяющими. К поверхности частицы из жидкой среды притягиваются ионы противоположного знака, их называют противоионами.

Слой противоионов состоит из двух слоев:

- адсорбционный слой (плотный слой), примыкающий непосредственно к межфазной поверхности. Данный слой формируется в результате электростатического взаимодействия с потенциалопределяющими ионами и специфической адсорбции;

- диффузный слой, в котором находятся противоионы. Эти противоионы притягиваются к частице за счет электростатических сил. Толщина диффузного слоя зависит от свойств системы и может достигать больших значений.

При движении частицы двойной электрический слой разрывается. Место разрыва при перемещении твердой и жидкой фаз друг относительно друга

называется плоскостью скольжения. Плоскость скольжения лежит на границе между диффузными и адсорбционными слоями, либо в диффузном слое вблизи этой границы. Потенциал на плоскости скольжения называют электрокинетическим или дзета-потенциалом (ζ -потенциал).

ζ -потенциал — это разность потенциалов дисперсионной среды и неподвижного слоя жидкости, окружающего частицу.

Для молекул и частиц, которые достаточно малы, высокий ζ -потенциал будет означать стабильность, то есть раствор или дисперсия будет устойчивы по отношению к агрегации. Когда ζ -потенциал низкий, притяжение превышает отталкивание, и устойчивость дисперсии будет нарушаться. Так, коллоиды с высоким ζ -потенциалом являются электрически стабилизированными в то время, как коллоиды с низким ζ -потенциалом склонны коагулировать или флокулировать.

1.4 Необходимость и способы инкорпорирования

Одной из ведущих тенденций, проявляющихся в современной фармакологии, является создание систем направленного транспорта лекарств [14, 15]. Предпосылкой к её появлению явилось то обстоятельство [16], что препарат, введенный в организм традиционными способами, распределяется в нем относительно равномерно, проникая не только в органы-мишени, где он должен проявить терапевтический эффект, но и в другие органы, где действие препарата может носить негативный характер, тем больший, чем большая доза использовалась.

При этом лекарственное вещество достигает своих биологических мишеней в концентрации, значительно меньшей по сравнению с необходимой терапевтической, что вынуждает использовать дозы, которые на один-два порядка превышают теоретически необходимые [17].

Реализация целенаправленного концентрирования лекарственного препарата исключительно или хотя бы преимущественно в зоне, охваченной

патологическим процессом, позволяет резко снизить нежелательные реакции организма на медикаментозное воздействие, сократить терапевтическую дозу лекарства и кратность его введения [18, 19]. В связи с этим по эффективности и минимальной токсичности направленный транспорт фармакологических средств сравнивается с «точечным ударом» [15].

Впервые о возможности адресной доставки лекарств предположил немецкий бактериолог П. Эрлих в конце XIX в. Согласно этому предположению препарат, избирательно находит в организме и убивает опухолевые клетки, не повреждая при этом здоровые ткани. С тех пор селективное воздействие фармакологических агентов на определенные клетки и ткани *in situ* остается предметом многочисленных исследований. Это удалось осуществить благодаря разработке и внедрению в клиническую практику методов направленного транспорта лекарств, которые в настоящее время достаточно разнообразны.

Начиная с 70-х гг. XX в. изучается возможность создания систем доставки лекарств непосредственно к патологическому очагу путем связывания молекул лекарственного вещества и неких других молекул (векторов), обладающих тропностью к определенным клеткам, а также путем заключения молекул лекарства в «биоактивные» капсулы на основе полупроницаемых искусственных или естественных мембран [16, 19, 20].

Для создания лекарственных форм, способных избирательно доставляться к органам-мишеням, разработаны подходы, основанные на пространственном отделении лекарственного препарата от внешней реакционной среды путем помещения его в искусственные микро- и наноконтейнеры [16, 18, 19].

Наиболее эффективные средства для доставки лекарственных средств выступают нанокompозитные полиэлектролитные капсулы [21]. Для их получения применяется метод полиионной сборки, заключающийся в последовательной адсорбции противоположно заряженных молекул

полиэлектролитов на поверхности коллоидных частиц с последующим растворением и удалением исходного темплата [22].

При помощи данного метода могут быть получены капсулы, отличающиеся широким диапазоном размеров (от 50 нм до 50 мкм) с возможностью выбора в качестве материала оболочки практически любых синтетических и природных полиэлектролитов [22, 23], липидных бислоев, неорганических наночастиц; с контролируемой толщиной и многофункциональностью стенок капсулы; их контролируемой проницаемостью для любых низко- и высокомолекулярных соединений [24].

2 Экспериментальная часть

2.1 Материалы и методы

2.1.1 Биополимеры

Конструирование субмикронных биополимерных частиц, осуществлялось на основе низковязкого хитозана, производства «Sigma-Aldrich» и САГ, полученного экологически безопасным методом [25], дистиллированной воды. Прототипом лекарственного средства был выбран анионный краситель эритрозин В. В качестве растворителя был взят ацетатный буфер с рН 5,4 и 4,5. Проверка рН полученного буфера осуществлялась с помощью рН – метра (Hanna, Германия). Для коллоидного синтеза полиэлектролитных комплексов использован оригинальный протокол, успешно примененный ранее для хитозана и хондроитин сульфата [26].

2.1.2 Приборы и методика измерения спектров

Оптические свойства новых гибридных наноматериалов были исследованы методами абсорбционной спектроскопии. Высвобождение функциональных молекул из полимерных частиц было осуществлено путем их осаждения и проведения количественного спектрального анализа надосадочной жидкости.

Спектры поглощения, были сняты с помощью спектрофотометра Lambda 35 (Perkin Elmer, США). Эксперименты проводились в диапазоне длин волн 330 нм – 660 нм. Источник УФ являлась галогенная лампа накаливания мощностью 450 Вт, излучающая в спектральном диапазоне 180 – 1100 нм. Управление прибором, получение и обработка данных осуществляются с персонального компьютера с помощью ПО UV WinLab. Спектральная ширина входных и выходных щелей монохроматоров возбуждения и испускания составляла 2 нм. Все измерения, описанные в представленной работе,

проводились при комнатной температуре с использованием кварцевой кюветы 1×1 см.

Измерение размера частиц производилось методом динамического светорассеяния с использованием анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instrument, Великобритания). Анализ автокорреляционной функции производился в приближении сферических частиц, результат усреднялся по 3-м измерениям. Измерения размеров частиц проводилось в пластиковых кюветах с сечением 1×1 см.

Измерение дзета-потенциала частиц проводилось с использованием анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instrument, Великобритания) методом электрофореза. Результат усреднялся по 3-м измерениям. Применялась U-образная капиллярная кювета малого объема.

2.1.3 Обработка результатов измерений

Обработка результатов осуществлялась с помощью пакета программ фирмы OriginLab Corporation для численного анализа данных и научной графики Origin Pro 7.0 и программы для работы с электронными таблицами Microsoft Excel.

При прохождении света через вещество интенсивность света может ослабляться в результате рассеяния и поглощения. Согласно закону Рэлея, интенсивность рассеянного света обратно пропорциональна длине волны в четвертой степени. Так как нам необходимо получить данные о составе исследуемой среды, поэтому нужно из спектра поглощения вычесть рассеяние и количественным анализом определить долю связанного красителя.

Из рисунка 5 видно, как осуществлялось вычитание рассеяния из спектра поглощения.

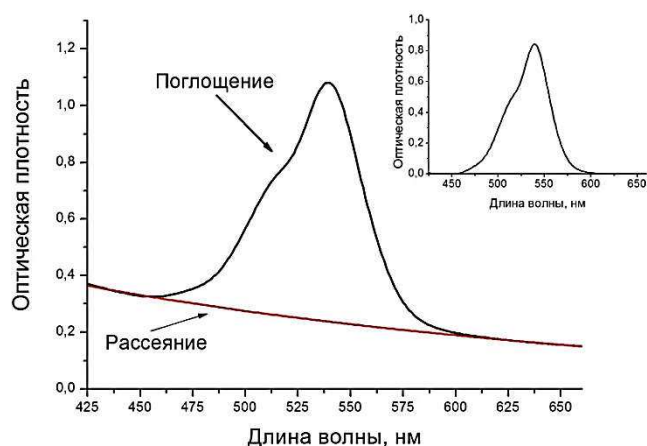
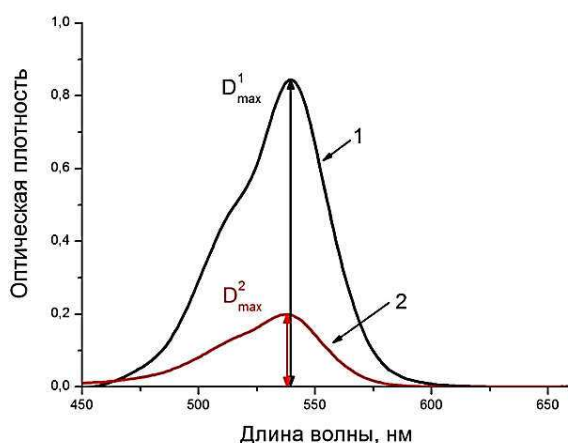


Рисунок 5 – Вычитание рассеяния из спектра поглощения

На рисунке 6 представлены спектры поглощения: 1 – раствора ПЭК до пресипитации, 2 – надосадочной жидкости после пресипитации.



1 – Раствор ПЭК до пресипитации; 2 – надосадочная жидкость после пресипитации

Рисунок 6 – Спектры поглощения

Долю связывания красителя с полимерной частицей можно рассчитать по формуле:

$$p = \frac{D_{max}^1 - D_{max}^2}{D_{max}^1} \quad (8)$$

где p – доля связывания красителя;

D_{max}^1 и D_{max}^2 – максимальное значение оптической плотности среды.

Величина доверительного интервала рассчитывалась по формуле:

$$\Delta x = \sqrt{\frac{\sum(\bar{x} - x_i)^2}{n(n-1)}} \cdot t(\alpha), \quad (9)$$

где x – доля связывания красителя;

n – количество экспериментов;

$t(\alpha)$ – коэффициент Стьюдента.

Статистическое определение достоверности различий согласно критерию Крамера – Уэлча [27] рассчитывалось по формуле:

$$t_s = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n} + \frac{\sigma_2^2}{n}}} \quad (10)$$

$$\sigma^2 = \frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n}, \quad (11)$$

где σ – дисперсия;

n – количество экспериментов;

x – доля связывания красителя.

2.2 Инкорпорирование красителя в биополимерные частицы

Для конструирования субмикронных биополимерных частиц на основе хитозана и САГ был использован метод самосборки (синтез) за счет электростатического связывания противоположно заряженных полисахаридов. Данный принцип конструирования новых материалов известен в России и за

рубежом [28]. Однако для получения стабильного композита необходим тщательный и трудоемкий подбор условий коллоидного синтеза (температурный, концентрационный, кинетический), уникальный для сочетания используемых составляющих, который будет осуществлен впервые.

Конструирование полиэлектролитного комплекса (ПЭК) осуществлялось следующим образом, раствор хитозана предварительно очищали от нерастворимых примесей путем фильтрации. Раствор САГ добавляли по каплям к раствору хитозана при энергичном перемешивании, используя магнитную мешалку не менее 2 часов.

Инкорпорирование красителя в биополимерные частицы осуществлялось двумя способами:

1) путем связывания (с учетом знака заряда поверхности) с одним из полимеров перед этапом «сборки» частиц (рисунок 7);

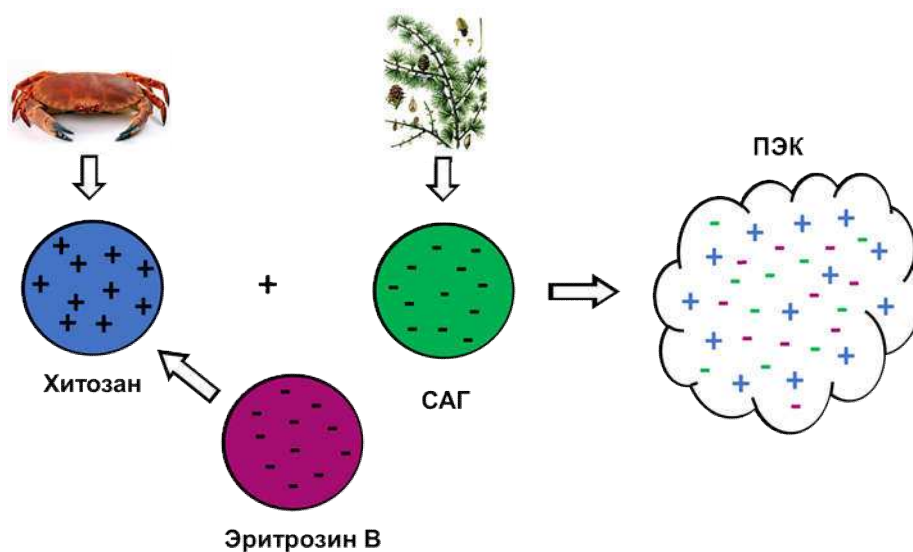


Рисунок 7 – Инкорпорирование красителя путем связывания с одним из полимеров

2) путем связывания с готовым полиэлектролиты комплексом (рисунок 8).

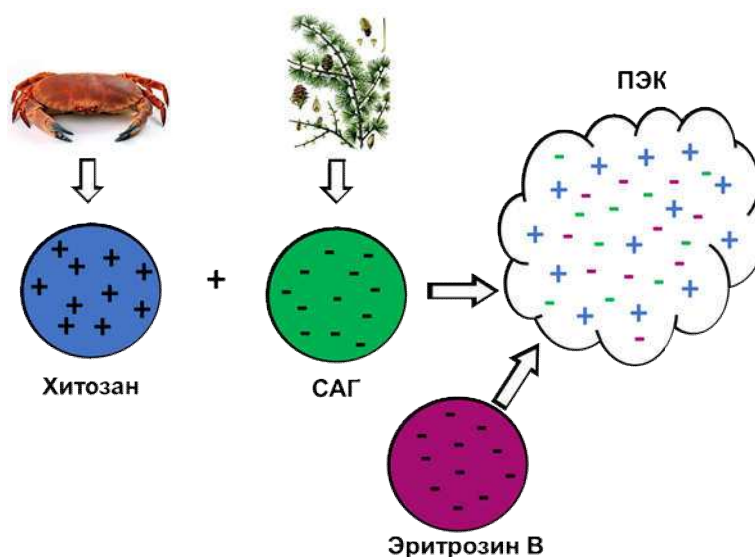


Рисунок 8 – Инкорпорирование красителя путем связывания с готовым ПЭК

При первом способе инкорпорирования, изначально необходимо приготовить ацетатный буфер pH 5,4 с ионной силой 0,15. Для этого требуется сделать два раствора: раствор А – 0,5 N CH_3COOH (3 мл ледяной уксусной кислоты долить к 97 мл дистиллированной воды) и раствор Б-0,5 N CH_3COONa (6,8 г соли растворить в 100 мл, дистиллированной воды). Слить растворы в следующей пропорции: раствор А – 9,5 мл, раствор Б – 90,5 мл. Получившийся буфер имеет ионную силу 0,45.

Для того чтобы ионную силу уменьшить до 0,15, необходимо буфер разбавить в три раза дистиллированной водой: 30 мл – ацетатный буфер, 60 мл – дистиллированная вода. При этом, pH буфера останется прежним 5,4.

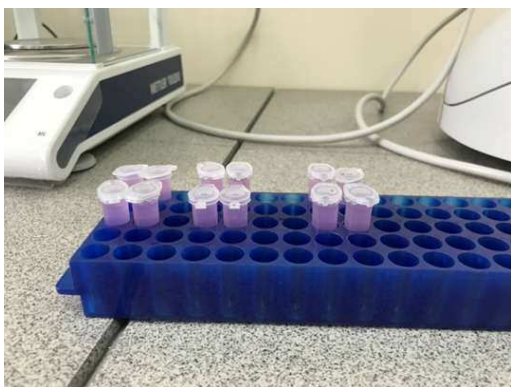
Далее был приготовлен 0,1% раствор хитозана и 0,1 % раствор САГ. При этом соотношения объемов для поликатиона (хитозан) и полианиона (САГ) растворов должно составлять 2:1. Для приготовления раствора хитозана требуется взять 24 мг хитозана и 24 мл буфера. В течение двух часов содержимое перемешивалось с использованием магнитной мешалки. После перемешивания pH раствора стал 5,54. Нерастворимые примеси были удалены

из 0,1% раствора хитозана, путем фильтрации через бумажный фильтр. Для приготовления 0,1% раствора САГ требуется взять 12 мл дистиллированной воды и 12 мг САГ. Содержимое перемешивалось в течение 2 часов. Затем к 0,1% раствору хитозана был добавлен раствор красителя, молярной массы 880 г/моль в соотношении 1:100, а именно 24 мл раствор хитозана, 240 мкл – краситель. Смесь перемешивалась 2 часа. По истечении 2 часов в раствор хитозана с красителем был добавлен по каплям раствор САГ при энергичном перемешивании. Содержимое перемешивалось не менее двух часов (рисунок 9).



Рисунок 9 – Перемешивание раствора 0,1% раствора хитозана с красителем

Получившийся молекулярный полимер был распределен в 12 опендорфов по 2 мл. Для отделения фракции молекулярного полимера от коллоидного раствора, была использована центрифуга Mini Spin plus при скорости 14500 об/мин в течение 5 минут (рисунок 10).



А)



Б)

Рисунок 10 – А) распределение молекулярного полимера в опендорфы;
Б) отделение фракции молекулярного полимера от коллоидного раствора

Образовавшаяся надосадочная жидкость переливалась в отдельный сосуд (рисунок 11). Оставшийся осадок подковыривался и к нему был добавлен кислый раствор, объемом 0,5 мл с рН 4,6.



Рисунок 11 – Надосадочная жидкость после пресипитации

Затем осадок был суспендирован ультразвуком в не буферированном растворителе с рН 5,2 в течение 15 минут. Готовый полиэлектrolитный комплекс сливался в отдельный сосуд объемом 6 мл.

При втором способе инкорпорирования 0,1% раствор хитозана и 0,1% раствор САГ готовился аналогичным способом, описанным выше, соблюдая все пропорции и время приготовления. В раствор хитозана был добавлен по каплям раствор САГ при энергичном перемешивании. Содержимое перемешивалось не менее двух часов. Получившийся молекулярный полимер был распределен в 12 опендорфов по 2 мл. Для отделения фракции

молекулярного полимера от коллоидного раствора, была использована центрифуга Mini Spin plus при скорости 14500 об/мин в течение 5 минут.

Образовавшаяся надосадочная жидкость переливалась в отдельный сосуд. Оставшийся осадок подковыривался и к нему был добавлен кислый раствор, объемом 0,5 мл с рН 4,6. Затем осадок был суспендирован ультразвуком в небуферированном растворителе с рН 5,2 в течение 15 минут. Готовый полиэлектролитный комплекс (ПЭК) сливался в отдельный сосуд объемом 6 мл (рисунок 12).



Рисунок 12 – Полиэлектролитный компелкс.

В готовый ПЭК был добавлен раствор красителя, молярной массы 880 г/моль в соотношении 1:100, а именно 6 мл – ПЭК, 60 мкл – раствор красителя. Содержимое перемешивалось 2,5 часа (рисунок 13).



Рисунок 13 – Перемешивание ПЭК с красителем

Процесс синтеза осуществлялся при разных условиях, был взят ацетатный буфер с разным рН: 5,4 и 4,5.

Чтобы приготовить ацетатный буфер с рН 4,5 необходимо сделать два раствора: раствор А – 0,5 N CH_3COOH (3 мл ледяной уксусной кислоты долить к 97 мл дистиллированной воды) и раствор Б – 0,5 N CH_3COONa (6,8 г соли растворить в 100 мл дистиллированной воды). Слить растворы в следующей пропорции: раствор А – 51 мл, раствор Б – 49 мл. Получившийся буфер будет иметь ионную силу 0,245.

Для того чтобы ионную силу уменьшить до 0,15, необходимо буфер разбавить в 1,6 раз дистиллированной водой: 30 мл – ацетатный буфер, 18 мл – дистиллированная вода. При этом, рН буфера останется прежним 4,5.

2.3 Результаты и обсуждение

Методом динамического светорассеяния были определены размеры биополимерных частиц (рисунок 14). Распределение по размерам является достаточно широким и имеет один максимум (около 0,3 мкм) в отличие от мультимодального распределения по размерам полимерных цепей составляющих полисахаридов. Размер синтезированных частиц из хитозана и САГ изменяется в течение 80 дней незначительно.

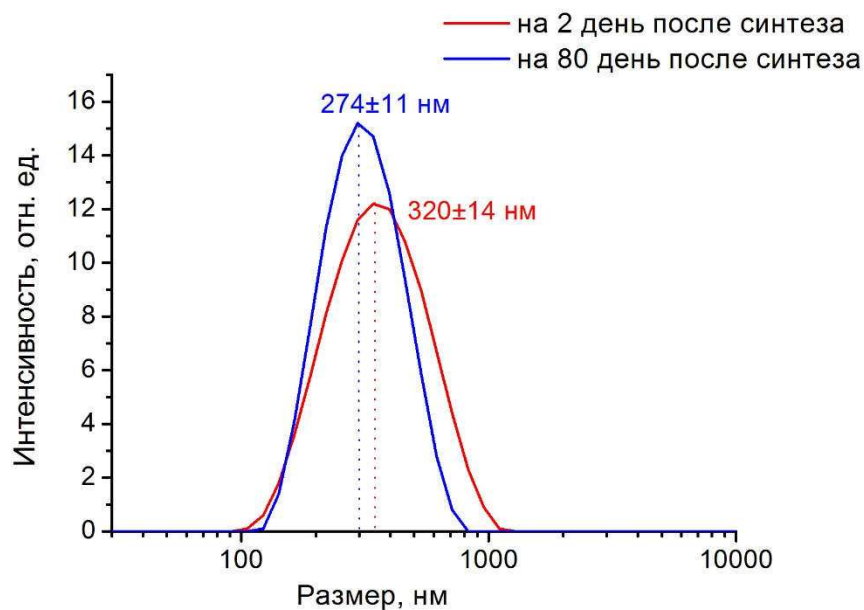


Рисунок 14 – Размер частиц из хитозана и САГ

Известно, что величина ζ -потенциала является одной из важнейших характеристик микрочастиц, широко используемой для прогнозирования стабильности дисперсий. Согласно литературным данным, абсолютное значение ζ -потенциала свыше 30 мВ обеспечивает хорошую, а свыше 60 мВ - отличную физическую стабильность [29]. При исследовании ζ -потенциала новых частиц (при pH 5,4), получены следующие результаты (рисунок 15): ζ -потенциал положителен, и отвечает критерию коллоидной стабильности раствора, сохраняется на протяжении не менее двух месяцев. Положительное значение заряда поверхности обеспечивается за счет аминогрупп хитозана, который, исходя из условий синтеза, является основным (по массе) компонентом частиц. Кроме массового соотношения двух биополимеров на заряд частицы влияет pK_a (константа кислотно-основного равновесия) полиэлектролита. Исходя из значения $pK_a=6,4$ для хитозана [30], можно утверждать, что при более низком значении pH (4,5) величина ζ -потенциала, а значит и коллоидная стабильность раствора будет еще выше.

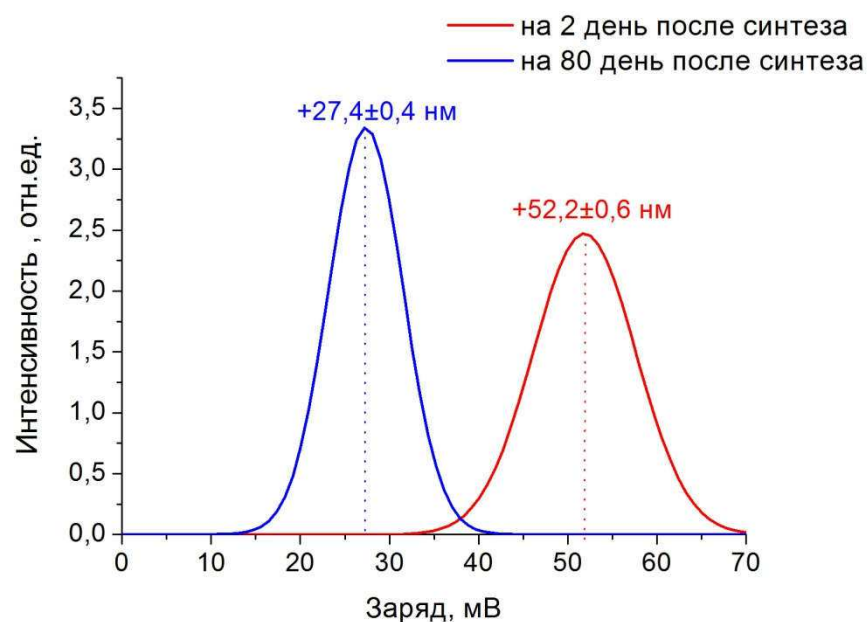


Рисунок 15 – ζ -потенциал новых частиц из хитозана и САГ (рН 5,4)

Далее мы исследовали способность полимерных частиц удерживать краситель для двух способов синтеза частиц (рН 5,4 и рН 4,5), двух способов инкорпорирования красителя (в процессе синтеза частиц и при внешнем инкорпорировании) непосредственно после синтеза, через 6 дней и через 12 дней после синтеза (Таблица 1).

Таблица 1 – Содержание красителя в ПЭК инкорпорированного двумя способами

	1 способ		2 способ	
	рН 5.4	рН 4.5	рН 5.4	рН 4.5
День синтеза	87 %	85 %	76 %	74 %
6 дней	86 %	82 %	75 %	72 %
12 дней	83 %	80 %	73 %	70 %

Погрешность измерения определялась в приближении нормального распределения по t-критерию Стьюдента для трех измерений и $\alpha=0,05$. Графически результаты представлены на рисунках 16, 17.

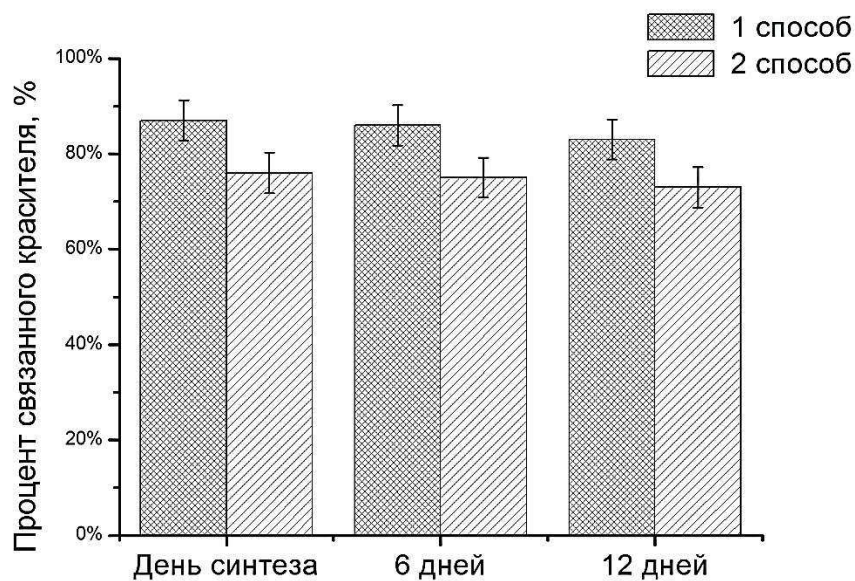


Рисунок 16 – Содержание красителя в ПЭК инкорпорированного в процессе синтеза частиц (первый способ) и при внешнем инкорпорировании (второй способ) при pH 5,4

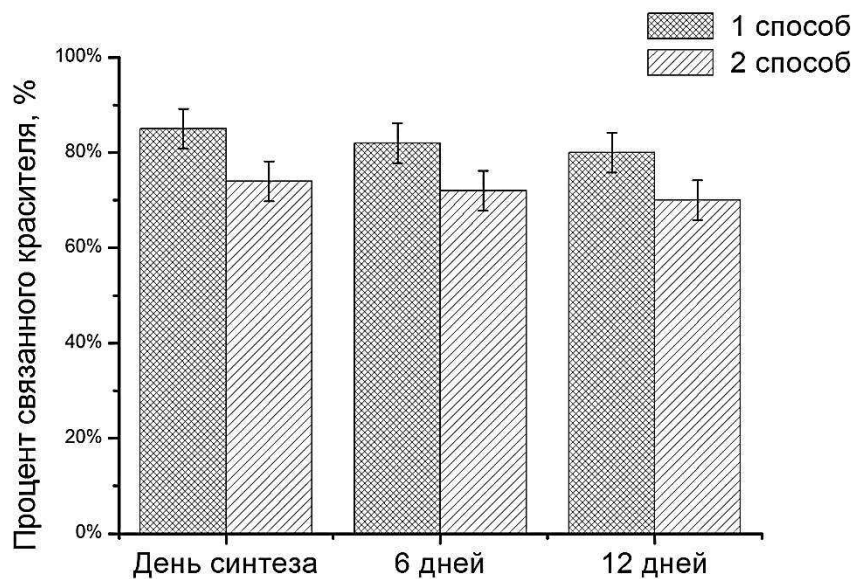


Рисунок 17 – Содержание красителя в ПЭК инкорпорированного в процессе синтеза частиц (первый способ) и при внешнем инкорпорировании (второй способ) при pH 4,5

Полученные результаты проанализированы с точки зрения стабильности связи красителя с полиэлектролитными комплексами, зависимости от условий синтеза частиц (рН) и способа инкорпорирования красителя в частицы. Анализируя результаты таблицы 1 и рисунки 16-17, было выявлено, что:

1) в течение 12 дней существенного выхода красителя из частиц (релиза) не обнаружено (в пределах погрешности). При первом способе инкорпорирования красителя (в процессе синтеза частиц) до 84%, при втором способе (при внешнем инкорпорировании) до 73% красителя адсорбируется на поверхности частиц, и полностью сохраняется в связанном состоянии не менее 12 дней;

2) зависимости от рН, использованного в процессе синтеза не выявлено (в пределах погрешности). На рисунках 16, 17 видно, что гистограммы внешне схожи. По данным представленных в таблице 1, при разном рН, при первом и втором способе инкорпорирования, разница содержания красителя небольшая (2-3%);

3) обнаружено достоверное различие в двух способах инкорпорирования. Из данных, представленных в таблице 1, видно, что доля связывания красителя при первом способе инкорпорирования выше порядка 10%, чем при втором. Статистический критерий показал, что достоверность различий согласно критерию Крамера – Уэлча, составила 99,9%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Были подобраны условия образования растворимых комплексов около 0,3 мкм, САГ – хитозан (рН буфера (4,5 ,5,4), ионная сила 0,15 и массовое соотношение аниона к катиону 1:2), стабильных не менее 80 дней. Произведено инкорпорирование двумя способами (в процессе синтеза частиц и при внешнем инкорпорировании) анионного красителя в биополимерные комплексы на основе двух разноименно заряженных полисахаридов – хитозана и САГ. Оптико-спектральная аттестация адсорбционных свойств нового материала показала, что связывание красителя с хитозаном в процессе синтеза более эффективно.

Спектрофотометрическим методом было показано, что при первом способе инкорпорирования красителя (в процессе синтеза частиц) до 84%, при втором способе (при внешнем инкорпорировании) до 73% красителя адсорбируется на поверхности частиц, и полностью сохраняется в связанном состоянии не менее 12 дней не зависимо от рН использованного буфера (4,5, 5,4). Полученная система является перспективной для инкапсуляции лекарственных, в том числе противораковых препаратов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ханнанов, А.А. Инкапсулирование противоопухолевого препарата доксорубицина гиперразветвленными полиэфирополикарбонowymi кислотами / А.А. Ханнанов, М.П. Кутырева, Н.А. Улахович и др. // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – № 22. – С. 229-233.
2. Векшин, Н.Л. Флуориметрические исследования пленкообразующих субстанции хитозана / Н.Л. Векшин, И.А. Глотова, В.С. Балабаев, В.Н. Измайлов // Фундаментальные исследования. Технические науки. – 2015. – №6. – С. 447-451.
3. Кролевец, А.А. Применение нано- и микрокапсулирования в фармацевтике и пищевой промышленности. Часть 2. Характеристика инкапсулирования / А.А. Кролевец, Ю. А. Тырсин, Е.Е. Быковская // Вестник Российской академии естественных наук. Медицина. – 2013. – №1. – С. 77-84.
4. Sonia, T.A. Chitosan and its derivatives for drug delivery perspective / T.A. Sonia, Sharma C.P. // Advances in Polymer Science. – 2011. – V.243. – P. 23–53.
5. Rani, M. Chitosan based hydrogel polymeric beads - As drug delivery system / M. Rani, Agarwal A., Negi Y. S. Review // BioResources. – 2010. – V. 5. – № 4. – P. 2765-2807.
6. Седякина, Н.Е. Получение и исследование свойств хитозановых микросфер как систем контролируемой доставки инсулина: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.11 / Наталья Евгеньевна Седякина. – Москва, 2015. – 182 с.
7. Bansal, V. Applications of chitosan and chitosan derivatives in drug delivery / V. Bansal, P.K. Sharma, N. Sharma, O.P. Pal, R. Malviya // Advances in Biological Research. – 2011. – V. 5. – №1. – P. 28-37.
8. Rinaudo, M. Chitin and chitosan: properties and applications / M. Rinaudo // Progress in Polymer Science. – 2006. – V. 31. – P. 603-632.
9. Senel, S. Potential applications of chitosan in veterinary medicine / S. Senel, S.J. McClure // Advanced Drug Delivery. – 2004. – V. 56. – P. 1467-1480.

10. Aranaz, I. Functional characterization of chitin and chitosan / I. Aranaz, M. Mengibar, R. Harris, I. Paños, B. Miralles, N. Acosta, G. Galed, Á. Heras // *Current Chemical Biology*. – 2009. – V. 3. – P. 203-230.
11. Kumar, MNVR. A review of chitin and chitosan applications / MNVR. Kumar // *Reactive and Functional Polymers*. – 2000. – V. 46. – P. 1-27.
12. Медведева, Е.Н. Арабиногалактан лиственницы – свойства и перспективы использования (обзор) / Е.Н. Медведева, В.А. Бабкин, Л.А. Остроухова // *Химия растительного сырья*. – 2003. – №1. – С. 27–37.
13. Медведева, С.А., Стратегия модификации и биопотенциал природного полисахарида арабиногалактана / С.А. Медведева, Г.П. Александрова // *Панорама современной химии России. Синтез и модификация полимеров*. М., – 2003. – С. 328–356.
14. Провоторов, В.М. Роль и место эритроцитов в системе направленного транспорта различных фармакологических средств / В.М. Провоторов, Г.А. Иванова // *Клиническая медицина*. – 2009. – № 9. – С. 4–8.
15. Цой, О.Г. Клетки крови как транспортные системы целенаправленной доставки лекарственных препаратов / О.Г. Цой, Е.А. Тайгулов, Ю.Ш. Иманбаева // *Астана медициналык журналы*. – 2011. – Т. 66. – № 4. – С. 7–12.
16. Бегдуллаев, А.К. Проблема направленного транспорта лекарственных веществ в клинической практике / А.К. Бегдуллаев, А.Т. Маншарипова, А.К. Джусипов и др. // *Терапевтический вестник*. – 2008. – Т. 17. – № 1. – С. 32–36.
17. Соснов, А.В. Разработка систем доставки лекарственных средств с применением микро- и наночастиц / А.В. Соснов, Р.В. Иванов, К.В. Балакин и др // *Качественная клиническая практика*. – 2008. – № 2. – С. 4–12.
18. Генинг, Т.П. Эритроцитарные носители в направленном транспорте лекарств в гепатологии. / Т.П. Генинг, Л.А. Белозерова // *Ульяновск: УлГУ*. – 2006. – 79 с.

19. Чазов, Е.И. Направленный транспорт лекарств: проблемы и перспективы / Е.И. Чазов, В.Н. Смирнов, В.П. Торчилин // Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева. – 1987. – Т. 32. – № 5. – С. 485–487.
20. Шляхто, Е.В. Инновационные нанотехнологии в медицине и биологии / Е.В. Шляхто // Инновации. – 2008. – Т. 116. – № 6. – С. 54–59.
21. Колесникова, Т.А. Характеризация чувствительных к ультразвуковому воздействию нанокompозитных микрокапсул методом атомно-силовой микроскопии / Т.А. Колесникова, Б.Н. Хлебцов, Д.Г. Щукин, Д.А. Горин // Российские нанотехнологии. – 2008. – Т. 3. – № 9. – С. 74–83.
22. Shenoy, D.B. Layer-by-layer engineering of bio-compatible, decomposable core-shell structures / D.B. Shenoy, A.A. Antipov, G.B. Sukhorukov, H. Mohwald // *Biomacromolecules*. – 2003. – V. 4. – P. 265–272.
23. Schuler, C. Preparation of enzyme multilayers on colloids for biocatalysis / C. Schuler, F. Caruso // *Macromol. Rapid Commun.* – 2000. – V. 21. – №11. – P. 750–753.
24. Antipov, A.A. Polyelectrolyte multilayer capsule permeability control / A.A. Antipov, G.B. Sukhorukov, S. Leporatti // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. – 2002. – Vol. 198-200. – P. 535–541.
25. Пат. 2521649 Российская Федерация МПК C08B37/00(2006.01). Способ получения сульфатированных производных арабиногалактана / Н.Ю. Васильева и др.; заявитель и патентообладатель ИХХТ СО РАН. – № 2013109669/13; 04.03.2013; опубл. 10.07.2014, Бюл. № 19. – 6 с.
26. Slyusareva, E. Spectral study of fluorone dyes adsorption on chitosan-based polyelectrolyte complexes / E. Slyusareva, M. Gerasimova, A. Plotnikov, A. Sizykh // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2014. – Vol. 417. – P. 80-87.
27. Орлов, А.И. Проверка статистической гипотезы однородности математических ожиданий двух независимых выборок: критерий Крамера-Уэлча вместо критерия Стьюдента / А.И. Орлов // *Научный журнал КубГАУ*. – 2015. – №110(06). – С. 3.

28. Boddohi, S. Polysaccharide-based polyelectrolyte complex nanoparticles from chitosan, heparin, and hyaluronan / S. Boddohi, N. Moore, P.A. Johnson, M.J. Kipper // *Biomacromolecules*. – 2009. – Jun 8;10(6):1402-9. doi: 10.1021/bm801513e.
29. Wissing, S.A. Solid lipid nanoparticles (SLN) – a novel carrier for UV blockers / S.A. Wissing, R.H. Müller // *Pharmazie*. – 2001. – Oct;56(10):783-6.
30. Schmuhl, R. Adsorption of Cu(II) and Cr(VI) ions by chitosan: Kinetics and equilibrium studies / R. Schmuhl, H.M. Krieg, K. Keizer, S.A. Water . // *School for Chemistry and Biochemistry, Potchefstroom University for Christian Higher Education, Potchefstroom 2531, South Africa*. –2001.

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт инженерной физики и радиоэлектроники
Базовая кафедра фотоники и лазерных технологий

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий баз. каф. ФиЛТ

А.Н. Втюрин

« » 2018 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Частицы из разнозаряженных природных полисахаридов как система для
инкорпорирования лекарств

16.04.01 «Техническая физика»

16.04.01.02 «Оптическая физика и квантовая электроника»

Научный руководитель

Слюсарева

профессор,
д-р физ. – мат. наук

Е. А. Слюсарева

Выпускник

Горбатенко

И.Ю. Горбатенко

Рецензент

Салмин

профессор,
д-р физ. – мат. наук

В.В. Салмин

Красноярск 2018