

УДК 541(64+127):542.954

## МИКРОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ СЕГМЕНТИРОВАННОГО ПОЛИУРЕТАНА: СИНТЕЗ, СВОЙСТВА, КАПСУЛИРОВАНИЕ И КИНЕТИКА ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ИЗОНИАЗИДА

© 2006 г. М. Д. Ким\*, Р. М. Искаков\*, Е. О. Батырбеков\*, Б. А. Жубанов\*, А. Perichaud\*\*

\*Институт химических наук им. А.Б. Бектурова  
050010 Алматы, ул. Валиханова, 106

\*\*Paul Cezanne University of Provence Aix-Marseille  
3 Place Victor Hugo, 13331 Marseille Cedex 03, France

Поступила в редакцию 20.02.2006 г.

Принята в печать 15.06.2006 г.

Межфазной поликонденсацией 2,4-толуилендиизоцианата и различных ПЭГ в водно-толуольной эмульсии синтезированы новые полиуретановые микрокапсулы, инкорпорированные противотуберкулезным препаратом изониазидом. С ростом длины цепи ПЭГ конверсия диизоцианата падает во времени, увеличивается содержание мочевинных групп в полиуретане и меняется морфология стенки капсулы, которая становится менее плотной. Высокая концентрация ПЭГ снижает эффективность капсулирования изониазида из-за вытеснения лекарства в органическую фазу. Увеличение содержания ПЭГ выше 50 об. % вызывает уплотнение стенки полимерной капсулы вследствие более высокой диффузионной доступности мономера, что почти вдвое снижает скорость высвобождения изониазида.

### ВВЕДЕНИЕ

Значительный теоретический и практический интерес представляют полимерные микрочастицы, полученные методом межфазной поликонденсации. Благодаря высокой технологичности поликонденсационные микрочастицы находят широкое применение в различных областях науки и техники, медицине, фармацевтике, косметологии, фотографии и других областях [1].

Процесс получения микрочастиц, как правило, осуществляется в две стадии. В начале при механическом перемешивании в течение нескольких минут происходит формирование эмульсии и при этом в эмульсионной среде образуются капли, содержащие один из мономеров. Затем второй мономер добавляется во внешнюю фазу эмульсии, и реакция поликонденсации протекает на поверхности раздела жидкость–жидкость.

Для получения микрочастиц особый интерес представляют сегментированные ПУ уже нашедшие широкое применение в различных областях медицины [2–5]. Известно, что ПУ обладают хорошими механическими свойствами и превосход-

ной биосовместимостью [6, 7]; кроме того, сегментированный ПУ в организме способен подвергаться постепенной биодеградации [8, 9].

Микрочастицы ПУ получаются различными методами. Один из них основан на использовании метода межфазной поликонденсации диизоцианата с диолом. Из литературы известно, что синтез полиуретановых микрочастиц может осуществляться как в прямой (масло в воде) [10, 11], так и в обратной (вода в масле) эмульсии [12, 13].

С целью уменьшения токсичности, улучшения режима приема лекарственных веществ актуальным является создание систем с контролируемым выделением лекарственных веществ в форме аэрозоля микрочастиц. В случае легочного туберкулеза доставка лекарственных веществ напрямую в зону инфекции в виде ингаляционного аэрозоля может позволить обойти первичный метаболизм и локально поддержать терапевтически эффективную концентрацию непосредственно в области инфицирования, а также уменьшить побочные эффекты [14–17].

Согласно Декларации Всемирной организации здравоохранения, туберкулез и сегодня является глобальной общественной проблемой [18]. Эф-

E-mail: labsp@ics.scinet.kz (Ким Мария Даниловна).

фективная химиотерапия туберкулеза включает каждыйдневный прием одного и более лекарств в течение 6 месяцев и дольше. Лечение болезни ограничено из-за токсичности лекарственного вещества, деградации лекарства до достижения необходимых участков в организме, а также низкой проницаемости через клеточную мембрану [19].

В качестве носителей противотуберкулезных препаратов, как правило, используются липосомы [20, 21], полимеры (сополимеры молочной и гликолиевой кислот) [22–24] и ниозомы [25].

В настоящей работе с целью получения микрочастиц ПУ, содержащих противотуберкулезный препарат гидрофильной природы – изониазид, осуществлен процесс поликонденсации в обратной эмульсии.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе в качестве диизоциананта использовали 2,4-толуилендиизоцианат (ТДИ) ("Sigma"), в качестве диолов применяли ПЭГ с  $M = 400, 600, 1000, 1450$  ("Aldrich"). Растворителем служил толуол, стабилизатором эмульсии – Tween 20 (полиоксиэтиленсорбит монолауриновой кислоты) ("Sigma"). ТДИ очищали путем вакуумной перегонки непосредственно перед использованием. Диолы и Tween 20 применяли без предварительной очистки.

Для синтеза микрочастиц ПУ предварительно готовили три отдельных раствора. Раствор 1: 10 мг в 100 мл толуола, раствор 2: x моль диола в у мл воды, раствор 3: 2.5x моля ТДИ, растворенные в 10 мл раствора 1. Соотношение водной фазы к масляной составляло 1:10 об. %. Раствор 2 помещали в двугорлую колбу, содержащую 90 мл раствора 1, снабженную мешалкой, и проводили его перемешивание со скоростью 1000 об/мин. Через 15 мин после формирования микроэмulsionи по каплям добавляли раствор 3. Синтез осуществляли при 60°C, через определенное время полимеризацию останавливали. Микрочастицы тщательно промывали дистиллированной водой и сушили при комнатной температуре до постоянной массы.

При получении микрочастиц, содержащих изониазид, последний добавляли в раствор 2, из расчета 10 мол.% от количества ПЭГ.

ИК-спектры микрочастиц записывали на приборе "Nicolet 5700 FT-IR" в таблетках с KBr. Тер-

мические свойства микрочастиц исследовали методами ТГА на приборе "Mettler Toledo TGA/SDTA 851" и ДСК на установке "Mettler Toledo T99". Снимки электронной сканирующей микроскопии получали на электроннозондовом микроанализаторе "Superprobe 733", снабженном энергодисперсионным спектрометром "INCA ENERGY". Порошок наносили на проводящую липкую ленту и затем для улучшения контраста изображения покрывали его тонким слоем золота в установке "FINE COAT". Съемку осуществляли в режиме вторичных электронов.

Выход лекарственного вещества из синтезированных микрочастиц в физиологический раствор изучали методом УФ-спектрофотометрии. Навеску микрочастиц помещали в определенный объем физиологического раствора при постоянном перемешивании при 37°C в термостатируемой ячейке. Концентрацию изониазида определяли по изменению интенсивности поглощения при длине волны 261 нм. Через фиксированные интервалы времени отбирали 2 мл раствора шприцем, снабженным фильтровальной головкой.

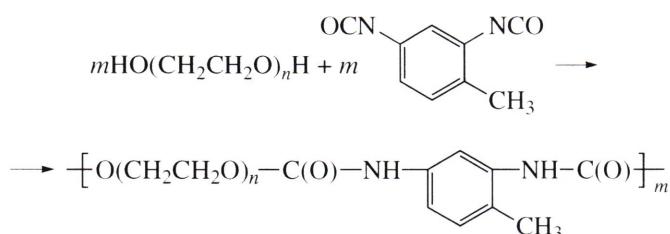
Эффективность капсулирования рассчитывали по отношению количества изониазида, вошедшего в микрочастицы в процессе их получения, к количеству изониазида, изначально взятого для синтеза. Количество изониазида в капсулах рассчитывали по массе (мг) изониазида, приходящейся на 1 г микрочастиц. При изучении процентного выхода изониазида из микрочастиц за 100% принимали концентрацию изониазида в исследуемом растворе через 3 недели, когда изменения концентрации в течение времени не наблюдалось.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

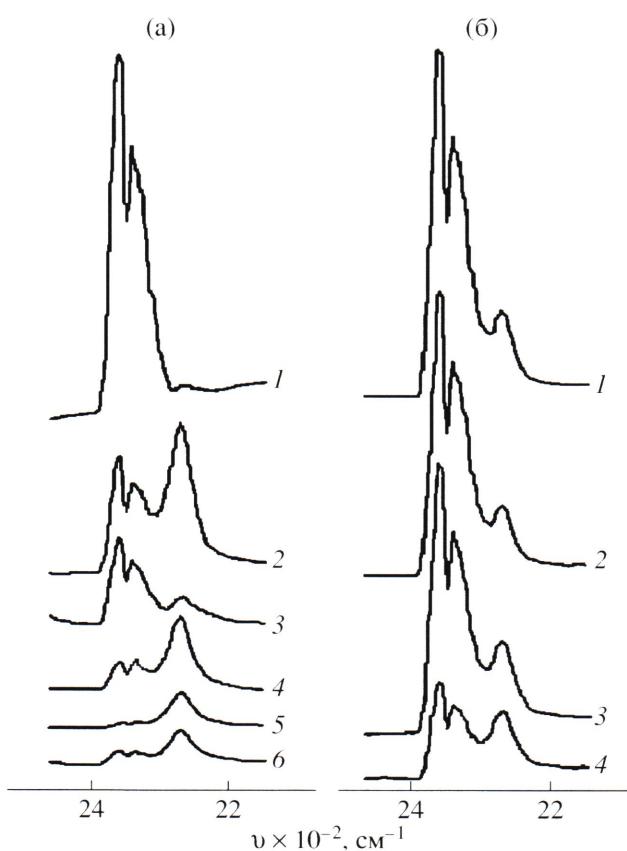
Ранее нами были синтезированы микрочастицы на основе сегментированного ПУ поликонденсацией на границе раздела фаз вода–толуол [12]. С этой целью ПЭГ был растворен в воде с последующим добавлением водного раствора в толуол в присутствии ПАВ с получением тонкой водной эмульсии ПЭГ в толуоле. На стадии интенсивного перемешивания при 60°C в дисперсию был добавлен раствор ТДИ в толуоле при мольном соотношении 2.5:1. Реакция протекает на границе раздела фаз эмульсии (вода в толуоле) в

течение 120 мин. В такой системе капля водной эмульсии содержит один активный мономер

(ПЭГ), который реагирует с ТДИ с образованием слоя полимера на межфазной поверхности.



С ростом длины цепи ПУ скорость реакции падает из-за низкой диффузии мономеров друг к другу. Кроме того, известно, что при получении ПУ из диизоцианатов и полидиолов протекает реакция изоцианатных групп с молекулами воды с образованием мочевинных группировок, являющихся центрами разветвления или прерывающих рост цепи.



**Рис. 1.** ИК-спектры микрочастиц ПУ, полученных на основе ПЭГ 600 (а) и ПЭГ 1450 (б), синтезированных при разной продолжительности реакции  $t$ . а:  $t = 30$  (1), 50 (2), 70 (3), 140 (4), 170 (5) и 210 мин (6); б:  $t = 70$  (1), 120 (2), 170 (3) и 210 мин (4).



Из-за возможности протекания этих процессов становится необходимым исследование кинетики поликонденсации и анализ состава образующихся групп в конечном ПУ.

Кинетика поликонденсации была изучена методом ИК-спектроскопии. На рис. 1 представлены фрагменты ИК-спектров микрочастиц ПУ, синтезированных при различной продолжительности процесса. Конверсию мономера контролировали по наличию полосы поглощения при  $2270-2320 \text{ cm}^{-1}$ , соответствующей изоцианатной группе  $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ . Как видно, эта полоса присутствует и имеет высокую интенсивность в образцах, выделенных на начальных стадиях реакции. Кроме того, в ИК-спектрах микрочастиц, синтезированных на основе ПЭГ с большей ММ (1450) данный пик наблюдается даже при продолжительности реакции 210 мин, в то время как в образцах на основе ПЭГ 600 изоцианатные группы отсутствуют уже при продолжительности реакции 170 мин. С повышением молекулярной массы ПЭГ увеличивается вязкость эмульсии, что приводит к уменьшению подвижности макромолекул и снижению скорости поликонденсации. Это становится особенно заметным на конечных стадиях синтеза, когда формирующаяся полимерная пленка препятствует диффузии мономеров в большей степени, что подтверждается присутствием изоцианатной полосы на конечных стадиях процесса для ПЭГ 1450.

ДСК-диаграммы микрочастиц ПУ, полученных на основе ПЭГ с различной ММ, представлены на рис. 2. Деструкция образцов происходит в интервале  $340-370^\circ\text{C}$ . При увеличении молекулярной массы ПЭГ от 600 до 2000 незначительно

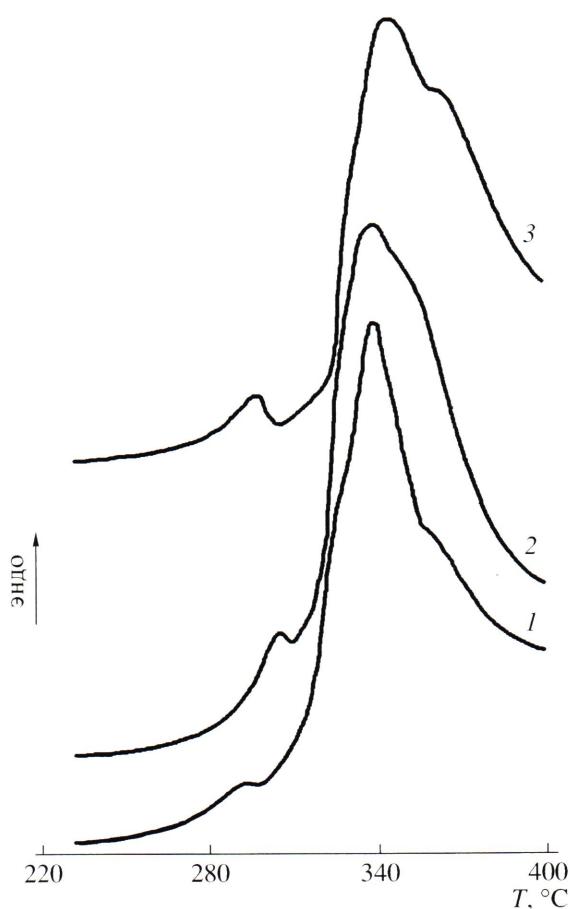


Рис. 2. Диаграммы ДСК микрочастиц, полученных на основе ПЭГ с  $M$  600 (1), 1450 (2) и 2000 (3).

повышается термостабильность, а процесс деструкции приобретает двуступенчатый характер.

Как установлено с помощью ИК-спектроскопии (рис. 1), конверсия изоцианата снижается с ростом молекулярной массы ПЭГ ввиду пониже-

ния его диффузии к месту реакции. Тем самым более предпочтительной становится реакция ТДИ с водой, что способствует появлению более термоустойчивых мочевинных сшивок в ПУ. Эта фракция деструктирует при более высокой температуре 370°C (рис. 2), а ее доля в полимере возрастает с повышением молекулярной массы ПЭГ.

Было изучено влияние концентрации диола в эмульсии на выход и состав продуктов реакции. Поскольку на заключительных стадиях синтеза скорость диффузии ПЭГ на границе раздела фаз (т.е. в зоне реакции) является лимитирующей стадией процесса, понижение концентрации должно уменьшить его высокую вязкость и доступность ПЭГ на границе фаз. В результате проведения межфазной поликонденсации было установлено образование двух фракций продукта реакции: основного – в виде микрочастиц сегментированного ПУ и побочного – в форме высажившегося линейного сегментированного ПУ. На рис. 3 показана структура обеих фракций ПУ. Как следует из рис. 3а, микрочастицы ПУ имеют правильную сферическую форму с диаметром 5–10 мкм с плотной и гладкой полимерной оболочкой. Напротив, побочная фракция (рис. 3б) имеет волокнистую структуру в виде длинных фибрелл толщиной менее 500 нм, вызванную высаждением линейных цепей синтезируемого полимера.

На рис. 4 представлены данные о выходе продуктов синтеза в процессе межфазной поликонденсации ПЭГ с ТДИ в зависимости от состава водной фазы (процентного соотношения ПЭГ–вода) при постоянном соотношении состава эмульсии, т.е. композиции водная фаза–толуол (1:10). Как вид-

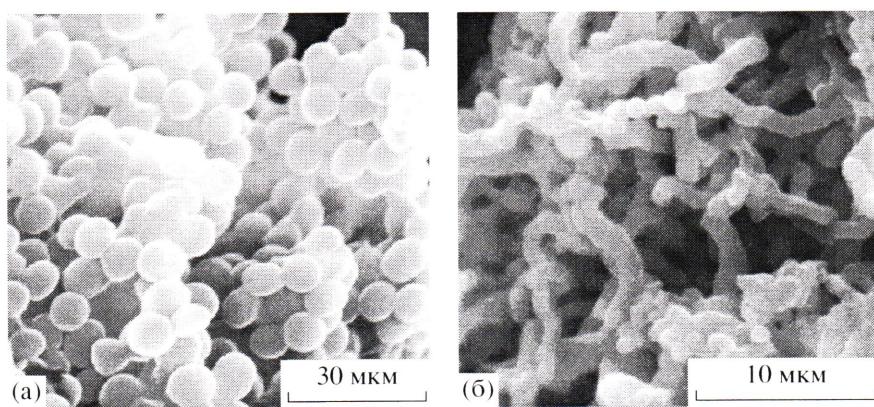
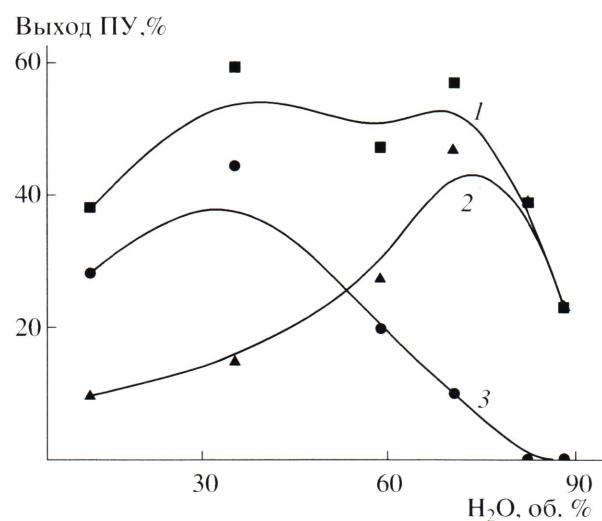


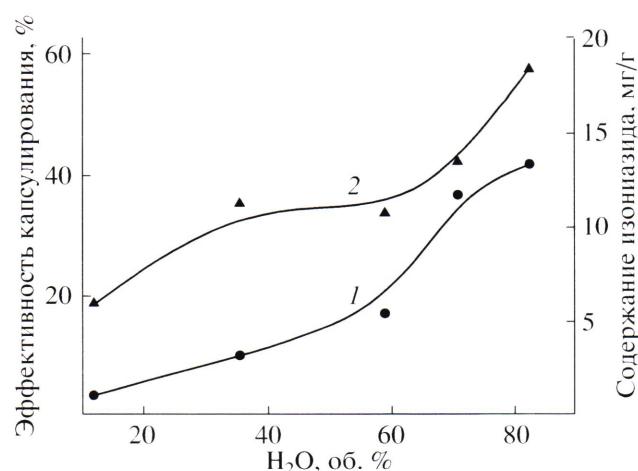
Рис. 3. Микрофотографии продуктов межфазного синтеза сегментированного ПУ в водно-толуольной эмульсии, полученных при 60°C на основе ПЭГ 400. а – основной продукт в виде микрочастиц, б – побочный продукт в виде линейного ПУ.



**Рис. 4.** Влияние состава водной фазы (ПЭГ–H<sub>2</sub>O) на выход и состав ПУ в процессе межфазной поликонденсации: 1 — общий выход продуктов реакции, 2 — основной выход в виде микрочастиц ПУ, 3 — выход побочного продукта.

но, с повышением содержания ПЭГ в водной фазе растет количество высадившегося побочного продукта до максимального значения около 40% при 60–65 об. % ПЭГ в воде. Появление побочного продукта и увеличение его выхода, вероятно, связано с тем, что при повышении концентрации ПЭГ он частично переходит из водной фазы во внешний раствор толуола, где и протекает процесс поликонденсации за счет реакции с ТДИ, а продукт высаживается в виде волокон. Уменьшение концентрации ПЭГ в водной фазе приводит к повышению выхода продукта в виде микрочастиц. Максимальный выход достигается при содержании ПЭГ в водной фазе 22–27 об. %, при этом такое содержание диола сводит к нулю побочный процесс, поскольку весь олигомер реагирует преимущественно на границе раздела фаз. Снижение выхода микрочастиц после максимума, по-видимому, связано с повышением вклада реакции гидролиза изоцианатных групп в процесс синтеза.

Как следует из рис. 5, состав водной фазы эмульсии в процессе поликонденсации также влияет на эффективность капсулирования. Рост концентрации ПЭГ приводит к уменьшению эффективности капсулирования и соответственно содержанию лекарственного вещества в микрочастицах. Это, возможно, обусловлено тем, что при повышении содержания ПЭГ в эмульсии наблюдается частичный переход и растворение изониазида в фазе толуола.



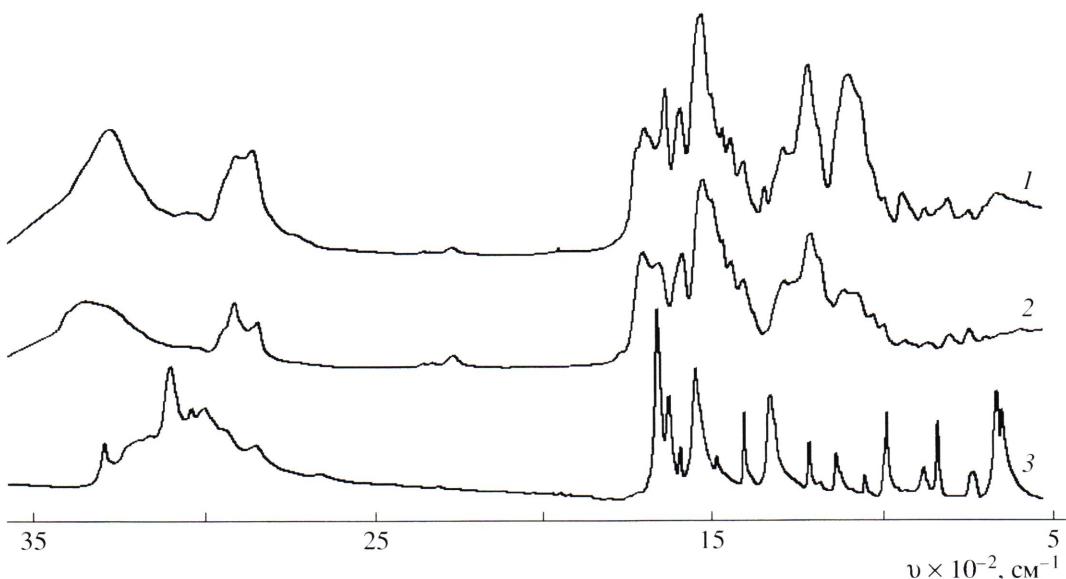
**Рис. 5.** Влияние состава водной фазы (ПЭГ–H<sub>2</sub>O) на эффективность капсулирования (1) и содержание изониазида (2) в микрочастицах ПУ.

Полученные микрочастицы и побочный продукт были проанализированы методами ИК-спектроскопии и элементного анализа, которые показали, что они имеют одинаковый химический состав, но разное содержание уретановых и мочевинных групп.

В работе получены микрочастицы, содержащие противотуберкулезный препарат — изониазид, являющийся гидрофильным соединением, который легко растворяется в воде и плохо в толуоле. В связи с этим возможно его капсулирование в водных каплях эмульсии в процессе формирования полимерной оболочки на границе раздела фаз.

В ИК-спектрах микрочастиц ПУ, содержащих изониазид (рис. 6) присутствуют полосы 3450–3300 см<sup>-1</sup>, которые соответствуют валентным колебаниям амидных групп N—H; полосы 1740–1700 и 1690–1650 см<sup>-1</sup> отвечают валентным колебаниям свободных и связанных водородными связями карбонильных групп [26]. В ИК-спектрах микрочастиц ПУ наблюдается усиление интенсивности полосы поглощения при 1690–1650 см<sup>-1</sup>, что, очевидно, обусловлено наличием группы —C=O в структуре изониазида.

В спектрах также присутствуют полосы 1100 см<sup>-1</sup>, соответствующие колебаниям C—O—C простой эфирной группы, 2850–2950 см<sup>-1</sup> относятся к связям C—C. В ИК-спектрах микрочастиц, содержащих изониазид, появляются новые полосы при



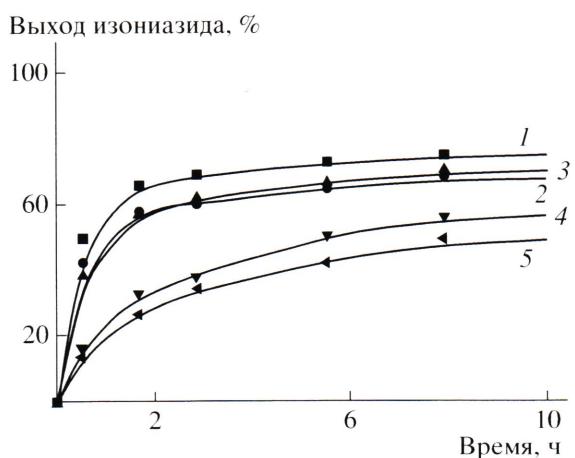
**Рис. 6.** ИК-спектры микрочастиц ПУ, содержащих изониазид (1), исходных микрочастиц (2) и изониазида (3).

1350, 1000 и 690 см<sup>-1</sup>, присутствующие также в ИК-спектре чистого изониазида. Это указывает на преимущественный механизм физического капсулирования изониазида внутри формирующейся полимерной стенки микрочастицы.

Кривые зависимости выхода изониазида от времени из микрочастиц ПУ, полученных при разном составе водной фазы, представлены на рис. 7. Как видно, большая часть лекарственного вещества выделяется за первые 3 ч, однако затем наблюдается медленное выделение оставшегося изониазида в течение двух недель. При этом для образцов с меньшим содержанием лекарственно-го вещества выделение изониазида происходит медленнее. Из рис. 7 также следует, что с ростом концентрации ПЭГ в процессе синтеза скорость диффузии изониазида из микрочастиц падает. Как было указано ранее (рис. 4), это связано не только с падением эффективности капсулирования, но и с формированием более плотной полимерной стенки. При высоких концентрациях ПЭГ в водной фазе реакция изоцианата с ПЭГ протекает на межфазной границе в значительной степени; кроме того, избыточный ПЭГ реагирует, переходя в толуол, на внешней поверхности стенок. Превалирование концентрации ПЭГ в водной фазе (свыше 50 об. %) существенно снижает диффузию изониазида из микрочастиц ПУ. Так, для микрочастиц, полученных при содержании ПЭГ 17.6, 29.4 и 41.2 об. % в течение 3 ч выделяется 58–66% изониазида. Напротив, микрочасти-

цы из более концентрированных эмульсий ПЭГ (64.7 и 88.2 об. %) высвобождают не более 35% лекарства за такое же время из-за более плотной стенки капсулы.

Полимерные микрочастицы могут использоваться в качестве носителей терапевтических препаратов при лечении туберкулеза легких. Размер полученных микрочастиц, лежащий в диапазоне 1–10 мкм, позволяет изучить их использование для респираторной доставки туберкулостатиков в места поражения туберкулезом легочных альвеолей.



**Рис. 7.** Выход изониазида во времени из микрочастиц ПУ, полученных при разном составе водной фазы эмульсии. Соотношение ПЭГ : вода = 17.6 : 82.4 (1), 29.4 : 70.6 (2), 41.2 : 58.8 (3), 64.7 : 35.3 (4) и 88.2 : 11.8 об. % (5).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fong T.W. // Controlled Release Systems: Fabrication and Technology / Ed. by Hsieh D. Boca Raton: CRC Press, 1990.
2. Lelah M.D., Cooper S.L. Polyurethanes in Medicine. Boca Raton: CRC Press, 1986.
3. Kohjiya K., Ikeda Y. // Nihon Gomu Kyokaishi. 1989. V. 62, № 3. P. 357.
4. Липатова Т.Э., Пхакадэ Г.А. Полимеры в эндо-протезировании. Киев: Наукова думка, 1983.
5. Пхакадэ Г.А. Биодеструктируемые полимеры. Киев: Наукова думка, 1990.
6. Жубанов Б.А., Батырбеков Е.О., Искаков Р.М. Полимерные материалы с лечебным действием. Алматы: Комплекс, 2000.
7. Lelah M.D., Grasel T.G., Pierce J.A., Cooper S.L. // J. Biomed. Mater. Res. 1986. V. 20. № 4. P. 433.
8. Chandra R., Rustgi R. // Prog. Polym. Sci. 1998. V. 23. № 7. P. 1273.
9. Santerre J.P., Woodhouse K., Laroche G., Labow R.S. // Biomaterials. 2005. V. 26. № 35. P. 7457.
10. Hong K., Park S. // Polym. Testing. 2000. V. 19. № 8. P. 975.
11. Bouchemal K., Briançon S., Perrier E., Fessi H., Bonnet I., Zydowicz N. // Int. J. Pharm. 2004. V. 269. № 1. P. 89.
12. Iskakov R., Batyrbekov E., Zhubanov B., Mooney D.J. // Eurasian Chem. Tech. J. 2004. V. 6. № 1. P. 51.
13. Frere Y., Danicher L., Gramain P. // Eur. Polym. J. 1998. V. 34. № 2. P. 193.
14. Barrow E.L., Winchester G.A., Staas J.K., Quenelle D.C., Barrow W.W. // Antimicrob. Agents Chemother. 1998. V. 42. № 10. P. 2682.
15. Sharma R., Saxena D., Dwivedi A.K., Misra A. // Pharm. Res. 2001. V. 18. № 10. P. 1405.
16. Kailasam S., Daneluzzi D., Gangadharan P.R. // Tuber. Lung Dis. 1994. V. 75. № 5. P. 361.
17. Anisimova Y.V., Gelperina S.I., Peloquin C.A., Heifts L.B. // J. Nanopart. Res. 2000. V. 2. № 2. P. 165.
18. World Health Organization Report, Global Tuberculosis Control. Surveillance: Planning Financing, 2004.
19. Dutt M., Khuller G.K. // Int. J. Antimicrob. Agents. 2001. V. 18. № 3. P. 245.
20. Banerjee G., Medda S., Basu M.K. // Antimicrob. Agents Chemother. 1998. V. 42. № 2. P. 348.
21. Ahsan F., Rivas I.P., Khan M.A., Torres Suarez A.I. // J. Contemp. Relig. 2002. V. 79. № 1. P. 29.
22. Tomoda K., Kojima S., Kajimoto M., Watanabe D., Nakajima T., Makino K. // Colloids and Surfaces B. 2005. V. 45. № 1. P. 1.
23. O'Hara P., Hickey A.J. // Pharm. Res. 2000. V. 17. № 8. P. 955.
24. Pandey R., Sharma A., Zahoor A., Sharma S., Khuller G.K., Prasad B. // J. Antimicrob. Chemother. 2003. V. 52. № 6. P. 981.
25. Baillie A.J., Florence A.T., Hume L.R., Muirhead G.T., Rogerson A. // J. Pharm. Pharmacol. 1985. V. 37. № 12. P. 863.
26. Iskakov R., Batyrbekov E.O., Leonova M.B., Zhubanov B.A. // J. Appl. Polym. Sci. 2000. V. 75. № 1. P. 35.

## Segmented Polyurethane-Based Microparticles: Synthesis, Properties, and Isoniazid Encapsulation and Kinetics of Release

**M. D. Kim<sup>a</sup>, R. M. Iskakov<sup>a</sup>, E. O. Batyrbekov<sup>a</sup>, B. A. Zhubanov<sup>a</sup>, and A. Perichaud<sup>b</sup>**

<sup>a</sup> Bekturov Institute of Chemical Sciences,  
ul. Valikhanova 106, Almaty, 050010 Kazakhstan

<sup>b</sup> Paul Sezanne University of Provence Aix-Marseille  
3 Place Victor Hugo, 13331 Marseille Cedex 03, France  
e-mail: labsp@ics.scinet.kz

**Abstract**—New polyurethane microcapsules incorporated with an antituberculous drug, isoniazid, have been synthesized through the interfacial polycondensation of tolylene 2,4-diisocyanate with different poly(ethylene glycols) in a water–toluene emulsion. As the poly(ethylene glycol) chain is elongated, the conversion of diisocyanate decreases in the course of time; the content of urea groups in polyurethanes increases; and the morphology of capsule walls changes, with the walls becoming looser. At high poly(ethylene glycol) concentrations, the efficiency of isoniazid encapsulation decreases owing to displacement of the drug into the organic phase. An increase in the poly(ethylene glycol) concentration above 50 vol % leads to densification of polymer capsule walls because of enhancement of the diffusive accessibility of the monomer. As a result, the release of isoniazid decelerates almost twofold.