

УДК 615.014.67 + 53.085.332

ДИАГНОСТИКА ПРЕКУРСОРОВ ЖЕЛАТИНОВЫХ КАПСУЛ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ АТОМНО-СИЛОВОЙ И СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Г.Б. Лисовская¹, Г.К. Жавнерко², С.А. Чижик¹

¹ Институт тепло- и массообмена им. А.В. Лыкова НАН Беларуси, Минск, Беларусь

² Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Получены прекурсоры микрокапсул с желатиновой оболочкой. Исследованы условия образования ядер карбоната кальция при варьировании последовательности смешивания растворов хлорида кальция и карбоната натрия, а также концентрации поливинилового спирта (ПВС) от 0 до 2,5 мг/мл. С помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) показано, что аморфные ядра карбоната кальция размером около 1 мкм получают при добавлении раствора ПВС концентрацией 1,5 мг/мл. Найдены условия покрытия ядер карбоната кальция слоем желатина.

Введение

В настоящее время актуальна проблема микрокапсулирования лекарственных препаратов, в частности пролонгированное высвобождение лекарств и биологически активных веществ из микрокапсул, маскировка вкуса горьких и тошнотворных лекарств, капсулирование пищевых добавок [1]. Проницаемость оболочек микрокапсул может изменяться под действием ряда факторов – температуры, кислотности среды, лазерного излучения, переменного магнитного поля и др. [2]. Благодаря этому микрокапсулы находят широкое применение в медицине, химии и биотехнологии [3].

Методика формирования полиэлектролитных оболочек на коллоидных частицах различной природы является одним из наиболее перспективных способов формирования микрокапсул.

Цель работы – контроль процессов получения желатиновых микрокапсул с неорганическим ядром методами атомно-силовой и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

Капсулы получены методом полиионной сборки [1]. Желатиновая оболочка биосовместима и растворяется в зависимости от рН среды, что также может найти широкое применение для капсулирования лекарств пролонгированного действия.

Методика эксперимента

Для получения аморфных ядер карбоната кальция использовали хлорид кальция и десятиводный карбонат натрия (концентрация растворов 0,33 М) и раствор ПВС с различной концентрацией – от 0 до 2,5 мг/мл. Затем ядра карбоната кальция покрывали одним слоем оболочки желатина за счет его адсорбции из раствора 1 мг/мл.

Заряд желатина определяли, варьируя последовательность нанесения монослоев полимеров из растворов полиэлектролитов: полисилорлсульфоната (ПСС) ($M_w = 70000$), полидиметилдиаллиламмоний хлорида (ПДДА) (Aldrich, 20 %, $M_w = 200000$) и желатина на планарную кремниевую подложку. Раствор ПДДА готовили в 0,5 М растворе хлорида натрия (х.ч.), ПСС растворяли в воде. Концентрация полиэлектролитов составляла 1 мг/мл.

Все вещества применяли без предварительной очистки. Для приготовления растворов использовали бидистиллированную воду.

При получении планарных полиэлектролитных покрытий образцы готовили послойным нанесением полиэлектролитов на кремниевую подложку, предварительно гидрофилизированную по методике [4]. Для определения заряда желатина были приготовлены подложки, заряженные положительно и отрицательно. Поскольку после гидрофизации подложка несет отрицательный заряд, положительный заряд на поверхности образуется после обработки поверхности раствором ПДДА. Отрицательно заряженную поверхность получали, выдерживая пластину кремния с ПДДА в растворе ПСС 15 мин. Так же готовили контрольный образец, нанося слой желатина на кремниевую подложку. После нанесения каждого слоя полиэлектролита осуществляли промывку бидистиллированной водой.

Желатиновые капсулы получали методом последовательной адсорбции слоя желатина на неорганическое ядро карбоната кальция [5]. Растворы хлорида кальция и карбоната натрия готовили концентрацией 0,33 М в бидистиллированной воде. Последовательность смешивания растворов варьировали. Для получения аморфных ядер концентрацию ПВС изменяли от 0 до 2,5 мг/мл. Полученные ядра промывали три раза бидистиллированной водой. После каждой промывки растворы центрифугировали 1 мин со скоростью 800 об/мин и сливали надосадочную жидкость. Затем смешивали раствор, содержащий ядра карбоната кальция, и раствор желатина равных объемов. После незначительного встряхивания растворы с капсулами центрифугировали 1 мин со скоростью 800 об/мин. Капсулированные ядра промывали по той же методике, что и исходные.

Контроль размеров ядра и желатиновых капсул, определение толщины полиэлектролитных пленок методом «царапанья дыр до подложки» осуществляли с помощью АСМ комплекса, состоящего из атомно-силового микроскопа NT-2006 (ОДО «Микротестмашины», Беларусь) и оптической системы (БелОМО, НПРУП «ЛЭМТ», Беларусь). Сканирование проводили в контактном режиме с использованием стандартных кремниевых зондов NSC («Mikromash») жесткостью от 0,02 до 0,3 Н/м. Дополнительный контроль полученных ядер при различном добавлении ПВС проводили на электронном микроскопе SupraTM 55 (Карл Цейс, Германия).

Результаты и обсуждение

Пленки на кремниевой подложке исследовали с помощью АСМ. Первоначально сканировали область 20x20 мкм с Set-point 10 %. Увеличивая нагрузку до 90 %, процарапывали пленку до кремниевой подложки 5x5 мкм и сканировали поверхность. Определяли толщину образцов по высоте искусственных дефектов. В результате АСМ-анализа установлено, что желатиновая пленка имеет толщину 17,7 нм, пленка с желатином, нанесенным на ПДДА, – 7,8 нм, а образец, в котором желатин нанесен на ПСС – 32,3 нм. Следовательно, желатин предпочтительно адсорбируется на отрицательно заряженную поверхность, т.е. желатин заряжен положительно в условиях нашего эксперимента. Поскольку полученные ядра имеют отрицательный заряд [2], желатин должен адсорбироваться непосредственно на поверхности карбонатных ядер без дополнительной перезарядки их поверхности пленкой полиэлектролита.

Контроль размеров, формы ядер карбоната кальция осуществляли с помощью СЭМ. Установлено, что аморфные ядра, образуются при добавлении ПВС концентрацией 1,5 мг/мл. На рис. 1 представлены СЭМ-изображения поверхности проводящей металлической подложки с адсорбированными ядрами карбоната кальция при добавле-

нии ПВС от 0 до 2,5 мг/мл.

Кристаллические ядра карбоната кальция игольчатой формы образуются при концентрации ПВС 0, 2,0 и 2,5 мг/мл (рис. 1 *а*, *в*, *г*), а аморфные ядра – при концентрации ПВС 1,5 мг/мл (рис. 1, *б*).

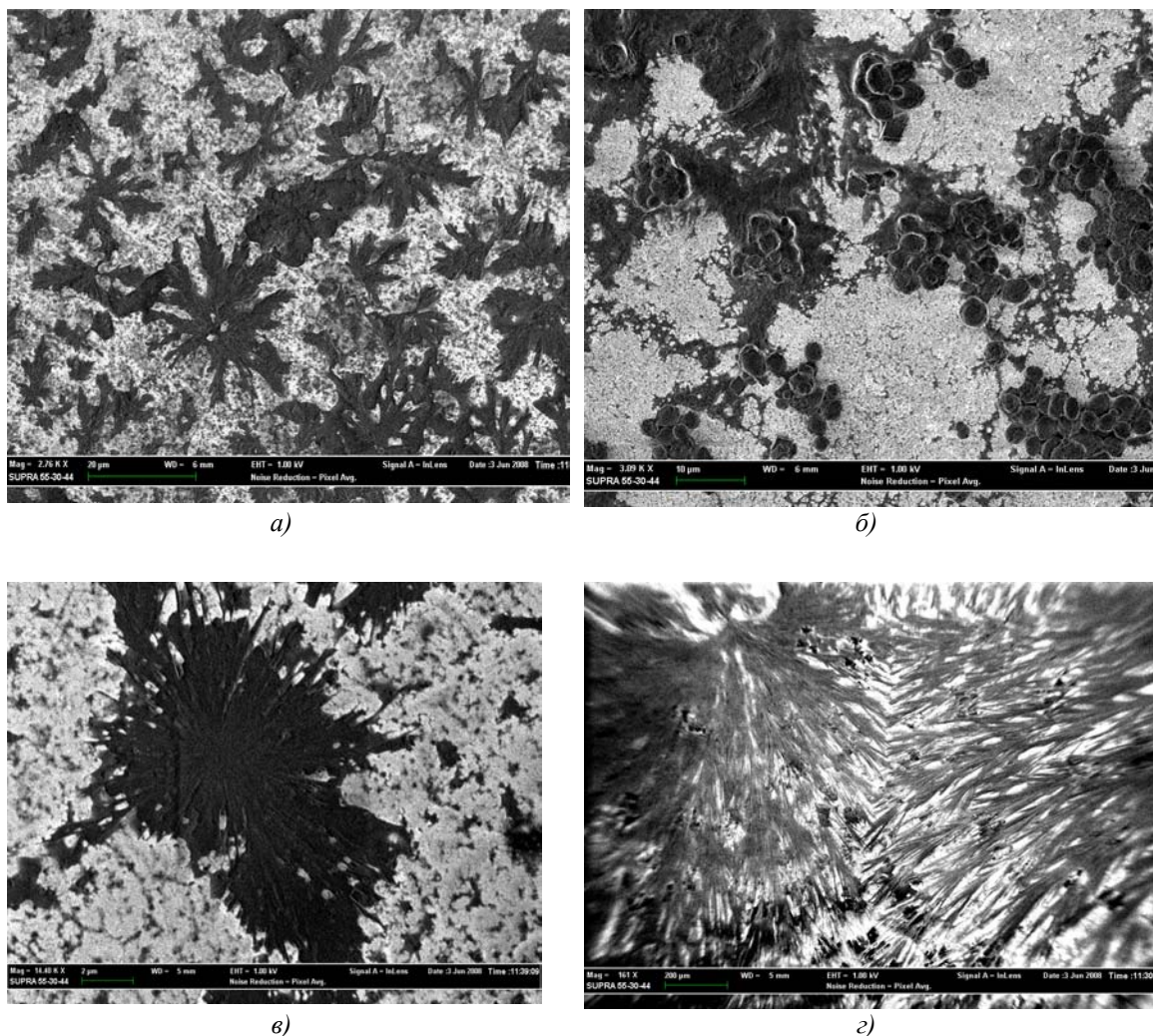


Рис. 1. СЭМ-снимки ядер карбоната кальция при различной концентрации ПВС: 0 мг/мл (*а*); 1,5 мг/мл (*б*); 2,0 мг/мл (*в*); 2,5 мг/мл (*г*)

Контроль образования ядер и их размеров выполняли на АСМ. Установлено, что ядра карбоната кальция получаются при смешивании растворов в любой последовательности. На рис. 2 показаны изображения ядер карбоната кальция на покровном стекле при добавлении к раствору карбоната натрия растворов ПВС и хлорида кальция – порядок смешивания растворов 1 (*а*), и при добавлении к раствору хлорида кальция растворов ПВС и карбоната натрия – порядок смешивания растворов 2 (*б*).

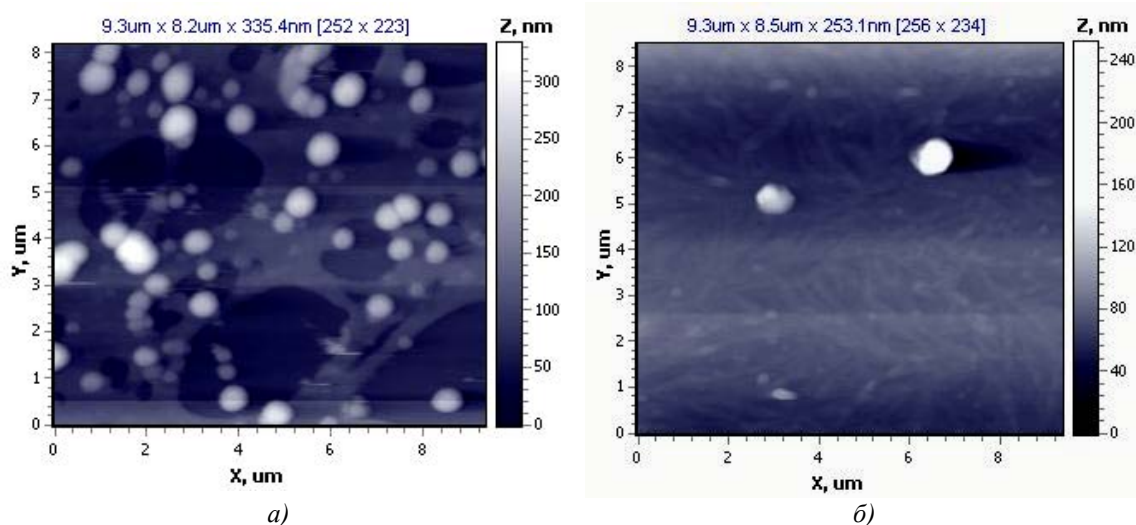


Рис. 2. АСМ-снимки ядер карбоната кальция на покровном стекле: *a* – порядок смешивания растворов 1; *б* – порядок смешивания растворов 2

В обоих случаях аморфные ядра размером от 400 до 800 нм получены при добавлении ПВС концентрацией 1,5 мг/мл. После добавления раствора желатина размер ядер увеличивается до 1,2 мкм (рис. 3).

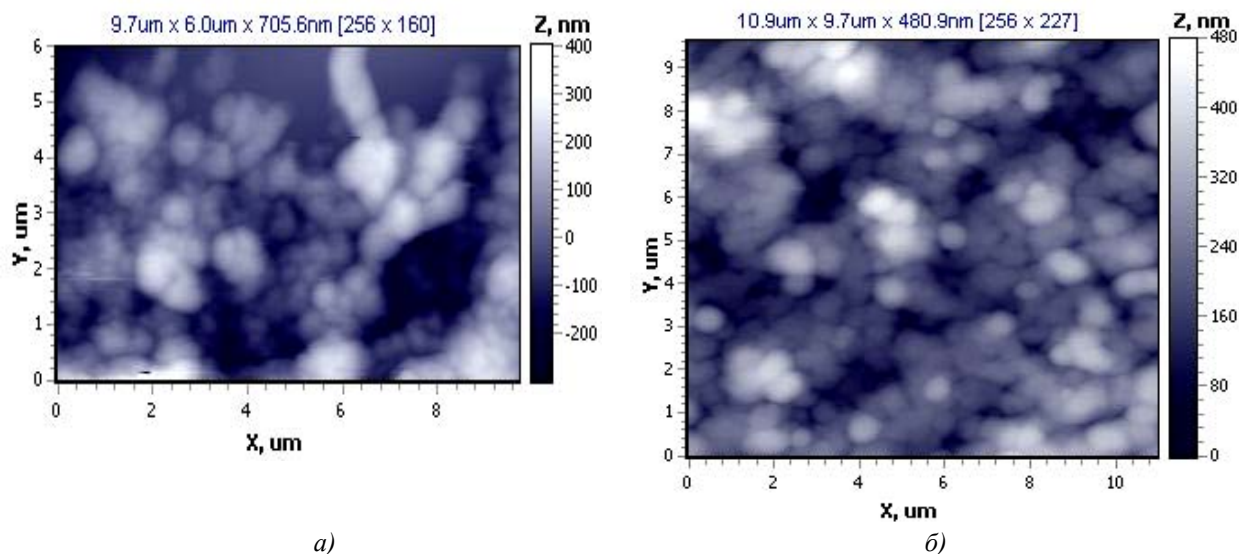


Рис. 3. АСМ-снимки желатиновых капсул на покровном стекле: *a* – порядок смешивания растворов 1; *б* – порядок смешивания растворов 2

Таким образом, АСМ дает возможность определить размер и форму ядер карбоната кальция. С помощью АСМ-исследований подобраны концентрации ПВС для получения аморфных ядер шарообразной формы.

Выводы

С помощью послойного нанесения полиэлектролитов на кремниевую подложку с последующей адсорбцией желатина установлено, что желатин имеет положительный

заряд в условиях наших экспериментов.

Аморфные ядра карбоната кальция формируются независимо от порядка смешивания неорганических растворов и при добавлении ПВС с концентрацией 1,5 мг/мл.

Работа частично финансировалась в рамках ГКПНИ “Нанотех”, задание 1.04.

Литература

1. Ларионова Н.В., Дюшен Д., Кувре Н., Олливон М., Грев Р. Разработка микро- и наносистем доставки лекарственных средств // Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). 2008. Т. 52. № 1. Стр. 48–56.
2. Moysa Sergio, Donath Edwin, Sukhorukov Gleb B., Auch Marck, Baumler Hans, Lichtenfeld Heinz, and Mohwald Helmut Lipid coating on Polyelectrolyte Surface Modified Colloidal Particles and Polyelectrolyte Capsules // *Macrocapsules*. 2000. No 33. Pp. 4538–4544.
3. Вилесова М. С., Айзенштадт Н. И., Босенко М. С., Вилесов А. Д., Журавский Е. П., Климов А. Г., Марей В. А., Мошковский В. Б., Мухин В. Е., Радилов А. С., Рубинчик Л. А., Сапрыкина Н. Н., Станкевич Р. П., Ткачев Б. И., Трулев Ю. И. Разработка микрокапсулированных и гелеобразных продуктов и материалов для различных отраслей промышленности // Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). 2001. Т. 45, № 5-6. С. 1–10.
4. Salamianski A., Zhavnerko G., Agabekov V., Chizhik S., Lisovskaya G. Modeling of the superhydrophobic surface formation // *Nano-design, technology, computer simulations*, 2008. Pp. 219–222.
5. Горин Д.А., Портнов С.А., Иноземцева О.А., Карагайчев А.Л., Невешкин А.А., Хлебцов Б.Н., Штыков С.Н. Полиэлектролитные микрокапсулы, содержащие молекулы сульфированного β -циклодекстрина в структуре наноразмерной оболочки // *Коллоид. журн.* 2008. Т. 70, № 2. С. 175–180.