

УДК 637.03

Е.Ю. ВАН, к.т.н., доцент (БФУ)
Е.В. НОРКИНА, студентка «Химия» (БФУ)
г. Калининград

**ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ХИТОЗАНА И ВЫДЕЛЕНИЕ ЕГО ИЗ
ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ**

В настоящее время в фармакологии активно развивается метод направленного транспорта лекарственных средств, позволяющий увеличить концентрацию ЛВ в нужном месте и ограничить его накопление в здоровых органах и тканях. Направленный транспорт позволяет повысить продолжительность и эффективность действия лекарства, а также уменьшить возможные побочные эффекты. Интерес к так называемой «адресной доставке» лекарств обусловлен большой потенциальной выгодой как с медицинской, так и с экономической точки зрения.

Для того, чтобы помочь лекарству попасть в нужное место и оказать необходимое действие, нужна определённая «упаковка». Впервые этот принцип (т.н. идею «волшебной пули») предложил немецкий учёный Пауль Эрлих в 1906 г. В 1908 году он получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине в области иммунологии (совместно с И. И. Мечниковым).

Первоначально для обеспечения направленной доставки использовали метод регионарного введения препаратов, — то есть лекарство вводилось напрямую в пораженную область тела. Однако этот способ не являлся направленным транспортом, так как только в редких случаях очаг поражения легко был доступен (например, это касается тромбоза с известной локализацией, некоторых форм рака, артрита). Дальнейшие исследования были сосредоточены на разработке «упаковки-доставки» для лекарств. Но, несмотря на широкий выбор носителей, на практике возникли определенные трудности. Оказалось, что препараты, показывающие высокие результаты в лабораторных условиях, теряют свои функции *in vivo*. Кроме этого, возникла и проблема преодоления биологических барьеров организма.

В настоящее время количество носителей и препаратов огромно. В частности, используются полимеры, липиды, металлы и другие наночастицы — носители, размер которых не должен быть более 1 мкм. Их выбор обусловлен конкретной целью или какими-либо особенностями препарата. Системы доставки создаются путем помещения лекарства, например, в нанокапсулу; после этого лекарство находится либо в полости, окруженной проницаемой мембраной, либо в наносфере, в которой ЛВ диспергировано по всему объему. Существенным преимуществом таких систем доставки является защита активных лекарственных средств от распада и ме-

таболизма. В настоящее время среди одобренных для этих целей материалов преобладают липиды и полимерные частицы. Большой выбор носителей позволяет создавать системы доставки с варьированием скорости и места высвобождения лекарства. [1]

По мнению специалистов, при парентеральном или пероральном способах введения лекарственных средств в организм человека, являющихся наиболее общепринятыми, вызывает тревогу адресность доставки ЛС в кровеносную систему. Это связано со сложностью преодоления гематоэнцефалического барьера, являющегося природной регуляторной структурой, функционирование которой уменьшает риск попадания в организм чужеродных токсичных веществ, — в том числе и ЛС. В результате действия данного барьера ЦНС воспринимает лекарственные средства как ядовитые. При этом, к примеру, интраназальное введение лекарственных компонентов повышает возможность преодоления гематоэнцефалического барьера. Это происходит ввиду того, что ЛС попадает в мукозу, непосредственно граничащую с тройничным и обонятельным нервами. Этот факт, в свою очередь, доказывает единственно возможную неинвазивную адресную доставку лекарства непосредственно в мозг. Интраназальная терапия является одним из многообещающих направлений для лечения заболеваний головного мозга, включая нейродегенеративные заболевания, инсульт, опухоли головного мозга и т.д.

Итак, в попытке разработать системы доставки лекарств, которые обходят гематоэнцефалический барьер, преимущественными являются именно назальные препараты. В качестве их «упаковки-носителя» авторы рассматривают природный хитозан, так как этот материал наиболее адаптивен к организму человека. Взаимодействие хитозана с белками, липидами, антигенами и другими молекулами приводит к образованию комплексов, имеющих собственное применение. Также в ходе этих процессов могут происходить изменения характеристик веществ, участвующих в связи (например, конформационные смещения, повышение стабильности или растворимости комплекса и т.д.).

Хитозан и его производные обладают собственным антибактериальным, противогрибковым, иммуностимулирующим, антиоксидантным действием и могут использоваться как индивидуально, так и в сочетании с другими молекулами (с целью достижения синергетического эффекта). Хитозан имеет ряд применений в биомедицинских и смежных областях. В частности, он может использоваться в качестве матрицы для развития клеток и заживления ран, в тканевой инженерии (инженерии костной ткани, инженерии тканей кожи, инженерии хрящевых тканей), в доставке генов, разработке биосенсоров, в качестве адьюванта для препаратов слизистой оболочки, косметики и пищевой упаковки. [2]

Рассмотрим методы получения хитозана из природных источников. Хитозан (см. рис. 2) — второй по распространенности природный полиса-

харид и единственный поликатионный полисахарид, извлекаемый из биологического сырья — хитина (см. рис. 1).

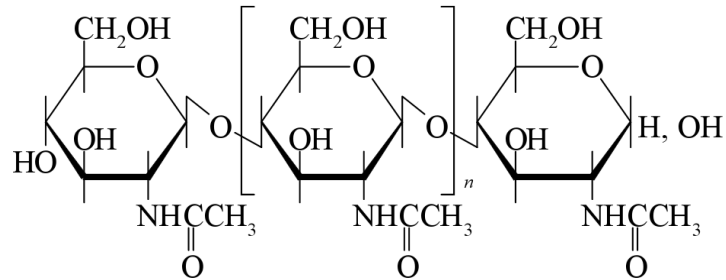


Рисунок 1. Структура хитина

(поли-N-ацетил-D-глюкозо-2-амин, мономерные единицы N-ацетилглюкозамина, связанные β -(1,4)-гликозидными связями)

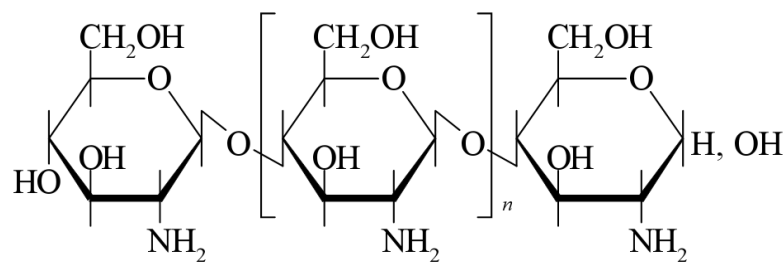


Рисунок 2. Структура хитозана

(остатки 2-амино-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозы, соединенные β -(1 \rightarrow 4)-гликозидными связями)

Получают хитозан из хитина путем N-деацетилирования. Химизм представлен на схеме (см. рис. 3)

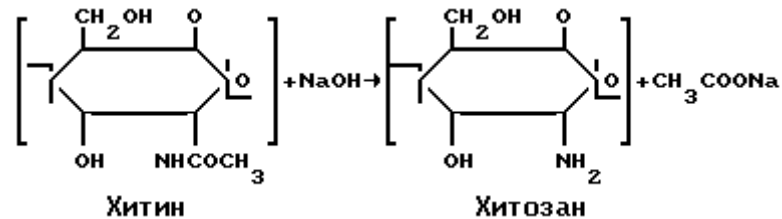


Рисунок 3. Химизм получения хитозана из хитина

Источниками хитина являются представители ракообразных (крабы и креветки), головоногие моллюски, каракатицы, членистоногие (пауки, жуки и муравьи), грибы, споры, простейшие, дрожжи и водоросли.

Хитозан представляет собой полимерный полисахарид (см. рис. 1) с линейной структурой, неразветвленный и гибкий, с высоким содержанием азота. [3], [4]

Природный хитин входит в состав оболочек животного и растительного происхождения в виде белкового, меланинового и глюканового комплексов. Особенно богаты содержанием белкового хитина различные ракообразные. Меланиновый и глюкановый комплексы сконцентрированы в кутикулах насекомых и перегородках различных грибов соответственно.

Для Российской Федерации выделение белкового хитина из панцирей ракообразных с последующим извлечением хитозана является перспективным направлением, так как Россия богата промыслами ракообразных на Дальнем Востоке и Камчатке. На рисунке 4 представлена принципиальная схема получения хитозана и хитина.

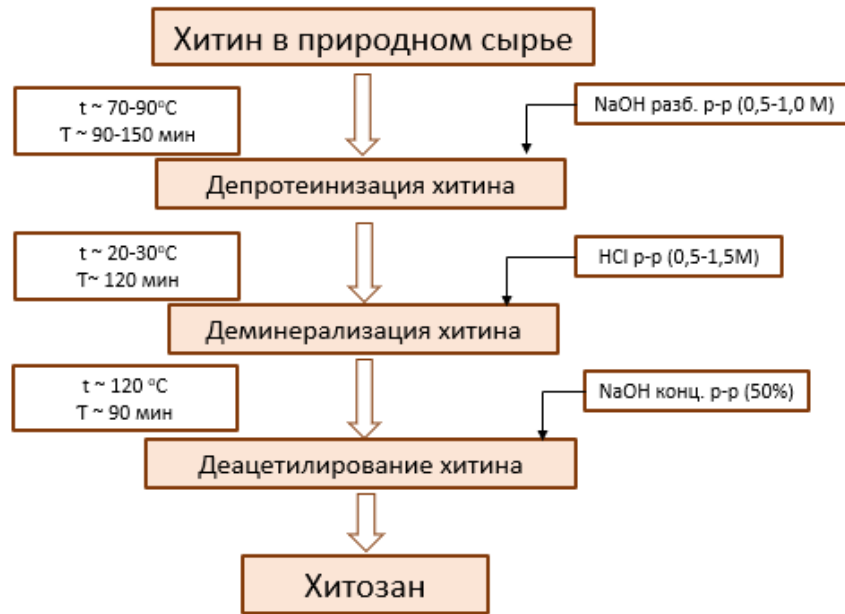


Рисунок 4. Схема получения хитозана

Поясняя рис. 4, рассмотрим подробнее получение хитозана из всех видов сырья.

— Стадия 1. Депротейнизация. На данной стадии предварительно измельченные хитиновые панцири ракообразных обрабатываются разбавленным раствором щёлочи. Данная операция проводится для выщелачивания белка из хитинового комплекса с остаточным содержанием в последнем <1% (несмотря на то, что изначальное содержание белка в хитиновых панцирях может достигать более 25,0 – 30,0%).

Параметры данного процесса таковы:

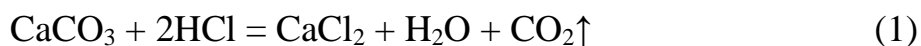
- концентрация гидроксида натрия — 0,5–1,0 моль/л;
- время выщелачивания — 90–150 минут;
- температура процесса — 70,0–90,0 °С.

В случае недостаточной очистки хитина от белка операцию депротейнизации повторяют до нескольких раз.

— Стадия 2. Деминерализация. На данной стадии проводится удаление минеральных солей, входящих в состав панцирей ракообразных и поддерживающих экзоскелет животных. В состав минералов преимущественно входят карбонаты и фосфаты кальция. Лучшим растворителем для деминерализации считается соляная кислота. Процесс проводят при следующих параметрах:

- концентрация хлороводородной кислоты — 0,5–1,5 моль/л;
- время выщелачивания — до 120 минут;
- температура процесса — не выше 40,0 °С (оптимально проведение до 30°С).

Проведение процесса при низких температурах обусловлено требованием сохранения гликозидных связей в получаемом хитозане. Химизм реакции деминерализации заключается в следующем:



После окончания реакции полученный осадок промывают, фильтруют, сушат при $t = 30,0$ °С и направляют на следующую стадию.

Если начальное содержание минеральных солей в исходном продукте находилось в пределах 15,0–50,0%, то на выходе после стадии деминерализации остаток минералов варьируется от 0,2 до 3,0%.

— Стадия 3. Деацетилирование. Для проведения этого процесса хитин заливают ~50% раствором NaOH и нагревают до температуры 120 ± 5 °С в течение 90 минут. Полученный осадок промывают до нейтрального pH фильтрата. Сушка хитозана проводится аналогично сушке хитина. [5]

Помимо этого, известны способы получения хитозана при комплексной переработке ракообразных, при котором панцирьсодержащие отходы криля измельчают и подвергают электрохимической обработке постоянным электрическим током в водном растворе NaOH с концентрацией 0,25–1,5% в течение 20–40 мин при перемешивании. Реакционную смесь разделяют на жидкую (гидролизат) и твердую (хитин) фазы. Хитин промывают водой, проводят деацетилирование в 50%-ном растворе щелочи при температуре 95,0–110,0°С, после чего отделяют хитозан от жидкой фазы и промывают водой.

Известен также способ получения хитозана, включающий приготовление суспензии хитина в водном 10–20%-ном растворе едкого натра, замораживание при $-15 \dots -38$ °С с последующим выдерживанием замороженной суспензии в течение 12–48 ч и её оттаиванием. Деацетилирование проводят выдерживанием полученного раствора при 17–37°С в течение 20–150 ч. [3]

В рамках аналитического обзора нами было освещено применение хитозана в направленной доставке лекарств, а также представлены наиболее перспективные и оригинальные методы получения хитозана из природного возобновляемого хитинсодержащего сырья. Наиболее оптимальным методом для дальнейшего применения в промышленности на наш взгляд является депротеинизация и деминерализация хитина ракообразных с последующим его деацетилированием раствором щелочи.

Список литературы:

- 1 Направленный транспорт лекарственных средств: от идеи до внедрения / И.И. Кулакова, Г.В. Лисичкин, Р.Ю. Яковлев, Н.Г. Селезнев; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань: ОТС и ОП, 2018. –104 с.
- 2 Наносистемы для доставки лекарств из носа в мозг / Яркинд М.И., Таранцева К.Р // Известия ПГПУ им. В.Г. Белинского. 2012. № 29. С. 293–300.
- 3 Способ получения хитозана из ракообразных: пат. 2116733 Рос. Федерация N 96120493/13; заявл. 07.10.96; опубл. 10.08.98.
- 4 Новая возможность создания интраназальных вакцин и систем доставки лекарств на основе хитозана [Электронный ресурс] /Роксана Попеску, Михаэла Виолета Гика, Кристина-Елена Дину-Пырву, Валентина Ануца, Дмитрий Лупулиаса и др.
- 5 Разработка технологии получения хитозана из панцирьсодержащего сырья / С.Ю. Солдатов // Вестник Нижневартковского государственного университета. – 2015. - №1.- с. 48-56.