

Н. В. Гузенко, О. Л. Габчак, Є. М. Пахлов

Створення порожнистих багатошарових поліелектролітних мікрокапсул на основі полігексаметиленгуанідину гідрохлориду та натрієвої солі карбоксиметилцелюлози

(Представлено членом-кореспондентом НАН України М. Т. Картелем)

Шляхом почергової адсорбції двадцяти шарів протилежно заряджених поліелектролітів (натрієвої солі карбоксиметилцелюлози та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду) на поверхні синтезованої сферичної карбонатної матриці мікронного розміру була сформована полімерна оболонка загальною товщиною близько 5 мкм, маса якої становила 13,6% маси ядра. Подальше розчинення неорганічної матриці за допомогою розчину натрієвої солі етилендіамінтетраоцтової кислоти дало змогу отримати порожнисті багатошарові полімерні капсули, що стійкі в нейтральному середовищі.

Поліелектролітні капсули як нові мікроскопічні носії, що мають високий потенціал для біомедичної галузі, були вперше запропоновані в 1998 р. [1]. Вони є багатошаровими полімерними структурами, які формуються шляхом послідовної адсорбції протилежно заряджених поліелектролітів на поверхні мікронних та субмікронних матриць (темплат) сферичної морфології. Товщину стінки можна варіювати в нанорозмірному діапазоні асоціацією визначеної кількості поліелектролітних шарів. Процес пошарового самоскладання проходить завдяки електростатичній взаємодії між сусідніми полімерними шарами, супроводжується зростанням ентропії, що зумовлює термодинамічну стійкість такої оболонки. Подальше розчинення темплату дає змогу отримати порожнисті капсули. Проникність поліелектролітних капсул залежить від рН, іонної сили середовища, розчинника, складу полімерів, товщини стінок та інших факторів, які визначаються включенням в полімерну стінку додаткових функціональних компонентів. Регулювання цієї проникності дозволяє використовувати такі носії для контрольованої доставки лікарських препаратів та біологічно активних речовин, створювати на їх основі сенсорні елементи тощо. Тому на сьогодні в усьому світі ведуться активні дослідження фізико-хімічних параметрів формування поліелектролітних капсул, їх властивостей, а також застосування цих капсул для розв'язання багатьох актуальних задач фармакології, медицини, косметології та діагностики [2, 3].

Авторами цього повідомлення досліджено процес утворення полімерних багатошарових мікрокапсул методом послідовної адсорбції протилежно заряджених поліелектролітів — натрієвої солі низькозаміщеної карбоксиметилцелюлози (Na — КМЦ) та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду (ПГМГ — ГХ) на сферичних матрицях карбонату кальцію мікронного розміру з подальшим розчиненням темплату.

Експериментальна частина. Мікрочастинки карбонату кальцію отримували при кристалізації за реакцією осадження з пересичених водних розчинів Na_2CO_3 та CaCl_2 . Для цього еквівалентний об'єм 0,33 моль/л розчину Na_2CO_3 додавали при кімнатній температурі до 0,33 моль/л розчину CaCl_2 зі швидкістю введення близько 3 мл/с при постійному перемішуванні за допомогою лопатéвої мішалки при 1000 об/хв. Через 2 хв перемішування

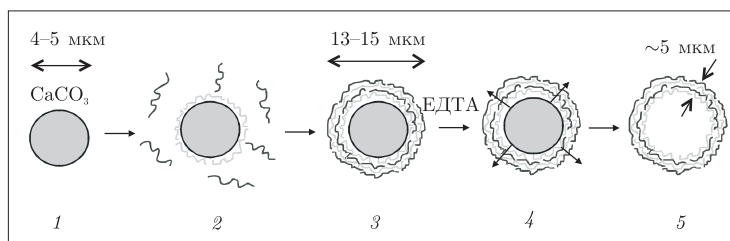


Рис. 1. Схема створення багатошарової полімерної матриці шляхом почергової адсорбції протилежно заряджених поліелектролітів та подальшого видалення темплату: 1 — синтез карбонатної матриці сферичної морфології; 2 — формування поліелектролітної оболонки методом пошарового самоскладання; 3 — отримання капсул типу ядро — оболонка; 4 — розчинення неорганічного ядра; 5 — отримання порожнистої полімерної капсули

припиняли, осад відстоювали протягом 15–20 хв і відділяли декантацією. Отримані частинки CaCO_3 тричі промивали дистильованою водою для видалення іонів Na^+ й Cl^- та висушували при кімнатній температурі.

Для створення полімерної оболонки було використано два поліелектроліти з різною густиною заряду — Na-KMЦ ($\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_2(\text{OH})_{3-n}(\text{OCH}_2\text{COONa})_n$) зі ступенем заміщення (n) близько 10%, яка у нейтральному середовищі є практично повністю іонізованою [4], та сильний поліелектроліт ПГМГ — ГХ ($-\text{NH}-\text{C}(\text{NH} \cdot \text{HCl})-(\text{CH}_2)_6-$) $_m$ (масове число ~ 5000). За основу для формування поліелектролітної оболонки на CaCO_3 -ядрах застосовували методику, описану Г.Б. Сухоруковим з співавторами в публікації [3]. До 1 г ядер CaCO_3 додавали 100 мл розчину ПГМГ — ГХ концентрацією 1 мг/мл та іонною силою 0,15 моль/л NaCl (рН 5,5). Для нанесення першого полімерного шару використовували позитивно заряджений поліелектроліт ПГМГ — ГХ, оскільки, за даними [5], ξ -потенціал частинок CaCO_3 є негативним і становить $-12,2$ мВ. Суспензію перемішували протягом 15 хв, потім після відстоювання частинки відділяли від супернатанту і тричі промивали водою (осад також відділяли шляхом декантації). Після цього процедуру повторювали, додаючи розчин Na-KMЦ концентрацією 1 мг/мл та іонною силою 0,15 моль/л NaCl (рН 6,8). Почергове нашарування протилежно заряджених макромолекул поліелектролітів на колоїдні частинки повторювали 20 разів (число нанесених полімерних шарів), що дозволило отримати оболонку з десятьма подвійними шарами полімерів.

Результати та їх обговорення. Процес формування поліелектролітних капсул складається з багатьох етапів, першим з яких є відповідний вибір типу темплату (рис. 1). При створенні інтактних капсул, що мають лише використаний для покриття матеріал, процес розчинення ядра повинен приводити до його повного видалення без впливу на структуру поліелектролітних шарів. З огляду на це найбільш перспективними є неорганічні матриці [5, 6], при видаленні яких зникає небезпека виникнення осмотичного тиску та утворення токсичних продуктів розкладу; такі матеріали розчиняються практично повністю, а також усуваються кінетичні перешкоди перебігу реакції. Застосування неорганічних матриць з пористою структурою дає змогу проводити процедуру інкапсулювання біологічно активних молекул перед етапом нанесення поліелектролітної оболонки. Для створення поліелектролітних капсул було обрано карбонатні матриці, виходячи з простоти їх видалення. Підбором умов синтезу (концентрації та швидкості додавання реагентів, часу та швидкості їх перемішування) нами розроблено відтворювальну методику отримання пористих мікрочастинок карбонату кальцію сферичної морфології ($d = 4-5$ мкм) з питомою поверхнею близько $30 \text{ м}^2/\text{г}$ (рис. 2, а).

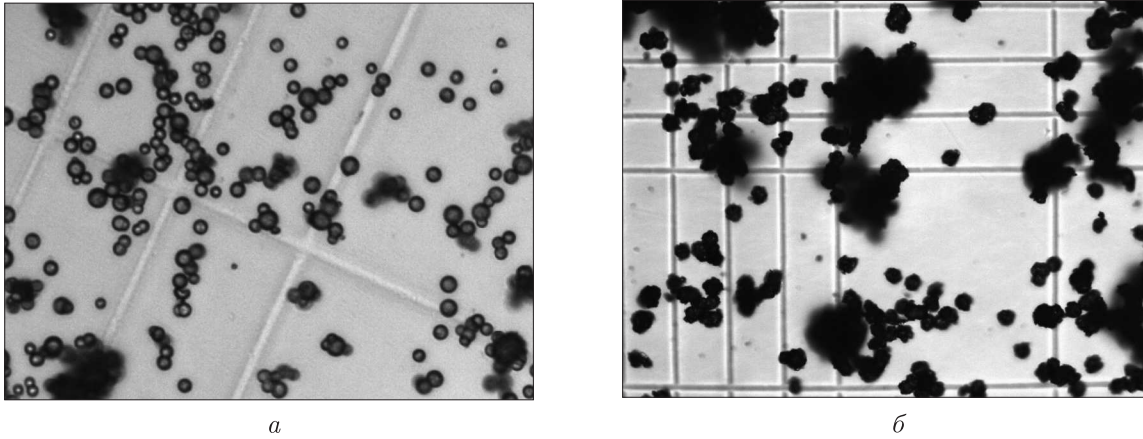


Рис. 2. Мікрофотографії частинок вихідного CaCO_3 (а) та CaCO_3 після нанесення десяти подвійних поліелектролітних шарів $\text{Na} - \text{KMCP}$ й $\text{PGMG} - \text{GX}$ (б). (Бік малого квадрата камери Горяєва — 50 мкм)

Модельний експеримент по утворенню багатшарових плівок на основі обраної пари поліелектролітів — $\text{Na} - \text{KMCP}$ й $\text{PGMG} - \text{GX}$ — був проведений на плоских кварцових підкладках з водних розчинів. Послідовне формування стабільної, необоротно сорбованої плівки при адсорбції кожного наступного шару поліелектроліту підтверджували зниженням частоти коливання кварцового резонатора, яке фіксували методом п'езокварцового мікрозважування [4]. Вже при нанесенні чотирьох подвійних шарів поліелектролітів частота коливання резонатора знизилась на 1000 Гц, що відповідало приросту маси полімерної плівки, який дорівнював $0,05 \text{ г/м}^2$ або близько $0,006 \text{ г/м}^2$ для одного полімерного шару. Звідси, прийнявши густину поліелектролітної плівки, рівною $1,2 \cdot 10^6 \text{ г/м}^3$ [7], було розраховано її товщину, яка становила близько 40 нм для чотирьох подвійних шарів. Таким чином, на один полімерний шар припадає близько 0,5 нм, що узгоджується з літературними даними [7–9]. Отримані результати дають підстави вважати, що формування покриття на основі $\text{Na} - \text{KMCP}$ й $\text{PGMG} - \text{GX}$ може відбуватись аналогічним чином на матрицях іншої морфології, а саме карбонатних ядрах.

Після нанесення за описаною вище методикою, десяти подвійних поліелектролітних шарів $\text{Na} - \text{KMCP}$ й $\text{PGMG} - \text{GX}$ на сферичні матриці CaCO_3 отримані структури були неагрегованими частинками з діаметром 13–15 мкм (див. рис. 2, б). Враховуючи початковий розмір карбонатних ядер використаного зразка ($d = 4\text{--}5 \text{ мкм}$), товщина сформованої поліелектролітної оболонки дорівнює близько 5 мкм (див. рис. 2).

Таке значення товщини полімерної оболонки на основі $\text{Na} - \text{KMCP}$ й $\text{PGMG} - \text{GX}$ є досить високим порівняно з результатами, наведеними в літературі [6, 9, 10]. Відомо, що на структуру поліелектролітних плівок, утворених в основному за рахунок сил електростатичної взаємодії, визначальним чином впливають іонне оточення (рН, іонна сила розчину) та густина зарядів самих полімерів. У типовому експерименті процес пошарового складання поліелектролітних плівок проходив у розчинах моновалентних електролітів (як правило, 0,1–0,5 моль/л NaCl) з метою забезпечення рівномірності покриття [5, 6, 9, 11, 12]. У розчинах з такою високою іонною силою відбувається екранування електростатичних сил, наслідками чого є: 1) більш звивиста конформація поліелектроліту в розчині внаслідок екранування відштовхування всередині ланцюга; 2) зменшення кількості сегментів, безпосередньо зв'язаних з поверхнею, і зростання довжини і частки петель і хвостів адсорбо-

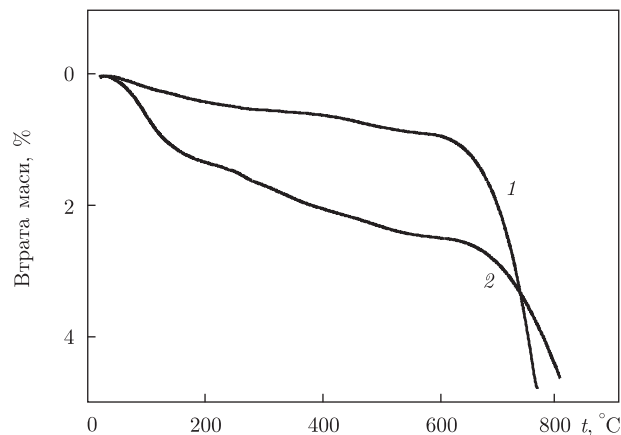


Рис. 3. Криві термогравіметричного аналізу CaCO_3 (1) та CaCO_3 після адсорбції десяти подвійних шарів Na — КМЦ й ПГМГ — ГХ в інертному розчиннику Al_2O_3 (1 : 9) (2)

ваних поліелектролітів. Товщина адсорбованого шару при цьому збільшується. Зменшення густини заряду поліелектроліту теж призводить до прогресивного зростання товщини адсорбованих шарів [10, 13]. Це є результатом прагнення полімеру адсорбуватися в кількості, необхідній для нейтралізації поверхневого заряду субстрату. За відсутності сильних неелектростатичних взаємодій з субстратом незаряджені ділянки ланцюга поліелектроліту між двома зарядженими сегментами спрямовуються в розчин у вигляді петель і хвостів.

Термогравіметричні дослідження зразків CaCO_3 , вкритих оболонкою з десятима подвійними шарами поліелектролітів, показали, що втрата маси в діапазоні температур від 200 до 630 °С, в якому відбувається деструкція органічного компонента, становить 12% маси зразка, або 136 мг на 1 г CaCO_3 (рис. 3). З урахуванням розмірів частинок матриці приріст маси на один полімерний шар дорівнював близько 0,014 г/м². Порівняно з даними, отриманими методом п'езокварцового мікрозважування, значення приросту маси є дещо вищим. Це можна пояснити тим, що формування поліелектролітних оболонки на карбонатних матрицях проводили з розчинів з високою іоною силою.

Крім того, було розраховано густину поліелектролітної плівки Na — КМЦ й ПГМГ — ГХ у водному середовищі (ρ) за формулою: $\rho = m/V = m/(l \cdot S)$, де m — приріст маси сформованої плівки, мг/г CaCO_3 ; l — товщина полімерної оболонки, яку визначено з аналізу мікрофотографій, м; S — зовнішня питома поверхня частинок CaCO_3 , яку обчислено з їх геометричних розмірів, м²/г ($S \approx 0,5$ м²/г). Густина сформованої оболонки дорівнює близько $4 \cdot 10^4$ г/м³, що свідчить про формування у водному середовищі рихлої сильно гідратованої плівки поліелектролітів і узгоджується з гіпотезою про формування великої кількості петель та хвостів Na — КМЦ в умовах синтезу.

Порожнисті поліелектролітні оболонки (проникні капсули) отримували шляхом розчинення ядер CaCO_3 за допомогою розчину натрієвої солі етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТО). При цьому відбулося видалення кальцію з капсули за рахунок утворення стійкого комплексу цього металу з ЕДТО і виділення вуглекислоти, що спостерігалось методом оптичної мікроскопії (рис. 4, а). Використання даного агента дозволяє проводити процес отримання мікрокапсул при фізіологічно оптимальних значеннях рН (рН 7), що особливо важливо у випадку попередньої іммобілізації біологічно активних речовин у карбонатній матриці. Частинки, що вкриті поліелектролітною оболонкою, тричі занурювали у 0,1 моль/л

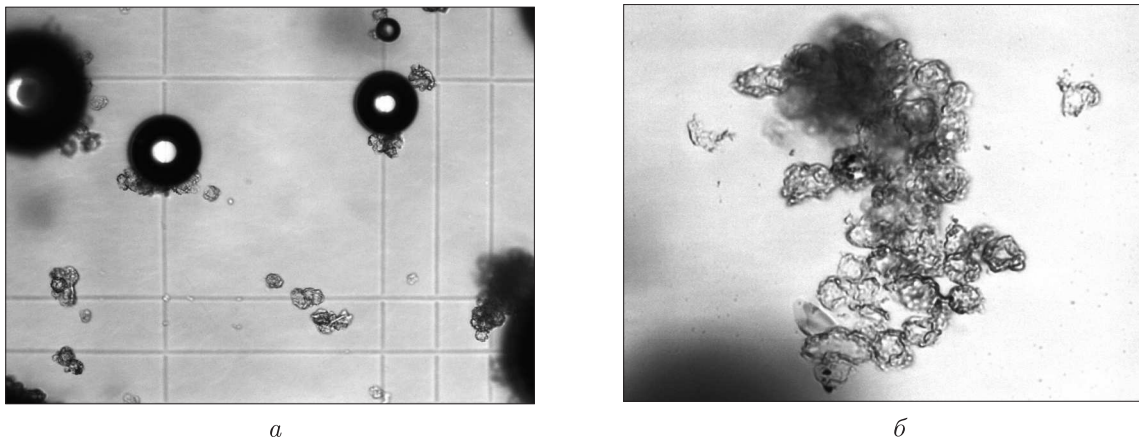


Рис. 4. Мікрофотографія процесу розчинення (а) та отриманих порожнистих багатошарових капсул на основі ПГМГ – GX й Na – КМЦ (б)

розчин ЕДТА на 15 хв при перемішуванні. Після повного розчинення карбонатної матриці мікросфери промивали у воді 3 рази (час інкубації 3–5 хв) та зберігали у вигляді суспензії при кімнатній температурі.

Проведеним аналізом мікрофотографій було визначено розмір отриманих капсул, який дорівнює 13–15 мкм (рис. 4, б). Збереження розмірів капсул у процесі розчинення ядер свідчить про відсутність значного осмотичного тиску, який є потенційною небезпекою для стабільності сформованої поліелектролітної стінки.

Таким чином, шляхом почергової адсорбції протилежно заряджених поліелектролітів (Na – КМЦ й ПГМГ – GX) на поверхні синтезованої сферичної карбонатної матриці мікронного розміру було сформовано полімерну оболонку загальною товщиною близько 5 мкм, маса якої становила 13,6% маси ядра. Подальше розчинення неорганічної матриці за допомогою розчину натрієвої солі ЕДТА дозволило отримати порожнисті багатошарові полімерні капсули, що стійкі в нейтральному середовищі.

1. Caruso F., Caruso R. A., Mohwald H. Nanoengineering of Inorganic and Hybrid Hollow Spheres by Colloidal Templating // *Science*. – 1998. – **282**. – P. 1111–1114.
2. De Geest B. G., Sanders N. N., Sukhorukov G. B. et al. Release mechanisms for polyelectrolyte capsules // *Chem. Soc. Rev.* – 2007. – **36**. – P. 636–649.
3. Sukhorukov G. B., Donath E., Lichtenfeld H. et al. Layer-by-Layer self-assembly of polyelectrolytes on colloidal particles // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. and Eng. Aspects*. – 1998. – **137**, No 1–3. – P. 253–266.
4. Гузенко Н. В., Габчак О. Л., Пахлов Є. М. Дослідження процесу адсорбції поліелектролітів методом п'езокварцового мікрозважування // *Полімер. журн.* – 2008. – **30**, № 4. – С. 331–337.
5. Volodkin D. V., Petrov A. I., Prevot M., Sukhorukov G. B. Matrix polyelectrolyte microcapsules: new system for macromolecule encapsulation // *Langmuir*. – 2004. – **20**. – P. 3398–3406.
6. Déjugnat C., Sukhorukov G. B. pH-responsive properties of hollow polyelectrolyte microcapsules templated on various cores // *Ibid.* – 2004. – **20**. – P. 7265–7269.
7. Tjipto E., Quinn J. F., Caruso F. Assembly of Multilayer Films from Polyelectrolytes Containing Weak and Strong Acid Moieties // *Ibid.* – 2005. – **21**. – P. 8785–8792.
8. Serizawa T., Kawanishi N., Akashi M. Polyelectrolyte multilayers of poly(vinylamine hydrochloride-co-N-vinylformamide) with variable primary amine content and a weak polyacid poly(acrylic acid) // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2006. – **102**, No 4. – P. 3927–3933.
9. Kohler K., Shchukin D. G., Mohwald H., Sukhorukov G. B. Thermal Behavior of Polyelectrolyte Multilayer Microcapsules. 1. The Effect of Odd and Even Layer Number // *J. Phys. Chem. B*. – 2005. – **109**. – P. 18250–18259.

10. Radeva T., Kamburova K., Petkanchin I. Formation of polyelectrolyte multilayers from polysaccharides at low ionic strength // J. Colloid and Interface Sci. – 2006. – **298**, No 1. – P. 59–65.
11. Ge L., Möhwald H., Li J. Polymer-stabilized phospholipid vesicles formed on polyelectrolyte multilayer capsules // Biochem. and Biophys. Res. Comm. – 2003. – **303**, No 2. – P. 653–659.
12. Lebedeva O. V., Kim B.-S., Vasilev K. and Vinogradova O. I. Salt softening of polyelectrolyte multilayer microcapsules // J. Colloid and Interface Sci. – 2005. – **284**, No 2. – P. 455–462.
13. Claesson P. M., Poptoshev E., Blomberg E., Dedinaite A. Polyelectrolyte-mediated surface interactions // Adv. Colloid and Interface Sci. – 2005. – **114./115**. – P. 173–187.

Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 03.03.2009

N. V. Guzenko, O. L. Gabchak, E. M. Pakhlov

Creation of hollow multilayer polyelectrolyte microcapsules based on sodium carboxymethylcellulose and polyhexamethylenguanidine hydrochloride

A polymer shell of a total thickness of $5\mu\text{m}$ is formed on the surface of a synthesized micrometer-size spherical carbonate matrix by layer-by-layer adsorption of oppositely charged polyelectrolytes (sodium carboxymethylcellulose and polyhexamethylenguanidine hydrochloride). The mass of a shell of 20 polymer layers amounted to 13.6% of the core mass. Hollow multilayer capsules stable in neutral medium were obtained after the further dissolution of the inorganic matrix with an ethylenediaminetetraacetate solution.