

Katarzyna JABŁCZYŃSKA¹, Magdalena JANCZEWSKA², Aleksandra KULIKOWSKA², Tomasz R. SOSNOWSKI¹

e-mail: k.jablczynska@ichip.pw.edu.pl

¹ Katedra Inżynierii Procesów Zintegrowanych, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa² Zakład Biotechnologii i Inżynierii Bioprocessowej, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Otrzymywanie nanostrukturalnych cząstek z polialdehydodekstranu i dialdehydokarboksymetylocelulozy metodą suszenia rozpyłowego

Wstęp

Nanocząstki ze względu na ich wyjątkowy sposób oddziaływania z układami biologicznymi stanowią dogodny nośnik dla wielu leków. Szczególnie dużym zainteresowaniem cieszą się nanocząstki polisacharydowe, które są biodegradowalne i nietoksyczne dla ludzkiego organizmu. Dodatkowo wykazują one biogodność oraz odpowiednie właściwości powierzchniowe, aby właściwie spełniać rolę nośnika w celu podawania leków [Soppimath i in., 2001]. Polisacharydy wykorzystane do syntezy nanocząstek mogą być łatwo poddane modyfikacji łańcucha, a do ich powierzchni mogą być przyłączone molekuły wzmacniające efekt terapeutyczny oraz celujący. Pozwala to jednocześnie na dostosowanie potencjału zeta, a więc ładunku obecnego na powierzchni cząstki, który pozwala uniknąć wychwytu przez układ makrocząstki i przedwczesnego usunięcia z organizmu.

W przypadku farmaceutyków wziewnych zastosowanie nanocząstek pozwala dodatkowo zminimalizować efekt działania mechanizmów oczyszczania płuc, tym samym zwiększając biodostępność substancji aktywnej. Nanocząstki nie mogą być jednak efektywnie podawane do dróg oddechowych w postaci aerozolu, gdyż sprawność ich depozycji jest niewielka [Yang i in., 2008]. Jako że w drzewie oskrzelowym zdecydowanie lepiej deponują się cząstki większe, rozwiązaniem wynikającym z połączenia zalet obu formułacji może być stworzenie cząstek o rozmiarach mikrometrycznych będących aglomeratami zbudowanymi z nanocząstek. Cząstki takie można otrzymać na drodze suszenia rozpyłowego [Sung i in., 2007].

Celem przeprowadzonych doświadczeń było zbadanie możliwości wykorzystania metody suszenia rozpyłowego do otrzymywania mikrometrycznych cząstek suchego proszku będących aglomeratami nanocząstek polisacharydowych zdolnych do odtwarzania się w niezmienniej postaci po ponownym uwodnieniu.

Metodyka badawcza

Suszeniu rozpyłowemu poddano roztwory zawierające modyfikowane chemicznie polialdehydodekstran (PAD) oraz dialdehydokarboksymetylocelulozę (DCMC), które w środowisku wodnym ulegają zwijaniu i samoorganizacji tworząc nanocząstki o średnicy około 100 nanometrów.

Zbadano wpływ warunków prowadzenia procesu suszenia rozpyłowego na morfologię otrzymywanego proszku. Wytworzony proszek mieszano powtórnie z wodą w celu sprawdzenia wpływu suszenia rozpyłowego na zachowanie przez nanocząstki ich pierwotnych rozmiarów.

Otrzymywanie nanocząstek

Do syntezy nanocząstek wykorzystano dekstran o masie cząsteczkowej 70 kDa otrzymany z Instytutu Fizjologii i Żywności Zwierząt PAN w Jabłoncej (Polska), sól sodową karboksymetylocelulozy (*AqualonTM*, *HERCULES*), dodecyloaminę (*Sigma Aldrich*), benzyloaminę (*Sigma Aldrich*) oraz alaninę (*POCH*). Do utlenienia dekstranu oraz karboksymetylocelulozy użyto nadjodanu sodu (*Sigma Aldrich*).

Polisacharydy utleniono nadjodanem sodu w celu wprowadzenia grup aldehydowych do ich łańcucha [Changdao i in., 2012]. Po reakcji stopień utlenienia polialdehydodekstranu (PAD) wyniósł 5%, a dialdehydokarboksymetylocelulozy (DCMC) – 15%. Następnie przeprowa-

dzono syntezę nanocząstek poprzez przyłączenie do powstałych grup aldehydowych aminy hydrofobowej służącej jako czynnik zwijający. Dla PAD jako czynnika zwijającego użyto dodecyloaminy w postaci chlorowodoru, natomiast w przypadku DCMC zastosowano benzyloaminę. Pozostałe grupy aldehydowe podstawiono alaniną.

Suszenie rozpyłowe

Proszek wytwarzano za pomocą suszarki rozpyłowej *Mini Spray Dryer B-290* firmy *Buchi* (Szwajcaria). W tab. 1 zestawiono parametry zastosowane przy suszeniu rozpyłowym zawiesin nanocząstek PAD oraz DCMC.

Tab. 1. Zestawienie parametrów procesu suszenia rozpyłowego

	Q [m ³ /min]	F [dm ³ /min]	P [ml/min]	T_{in} [°C]	T_{out} [°C]
A	35	14	3	200	~ 100
B	35	14	3	150	~ 85
C	35	14	3	100	~ 55
D	20	14	3	200	~ 68
E	20	14	3	150	~ 57
F	20	14	3	100	~ 45

Q – przepływ objętościowy powietrza przez aspirator, F – przepływ objętościowy sprężonego powietrza, P – przepływ objętościowy roztworu prekursora przez dyszę rozpylającą, T_{in} – temperatura wlotowa powietrza suszącego, T_{out} – temperatura wylotowa powietrza suszącego

Określenie morfologii cząstek proszku

Zdjęcia otrzymanych proszków wykonano za pomocą mikroskopu SEM model TM-1000 firmy *Hitachi* (Japonia), po uprzednim napyleniu próbki warstwą złota za pomocą napyłarki *K550x Sputter Coater; Quorum Technologies* (Wielka Brytania).

Pomiar wielkości nanocząstek

Pomiary rozkładów wielkości nanocząstek w fazie wodnej wykonano za pomocą aparatu *NanoSight LM10-HS* firmy *Malvern Instruments* (Wielka Brytania) powtarzając je trzykrotnie dla każdej analizowanej próbki.

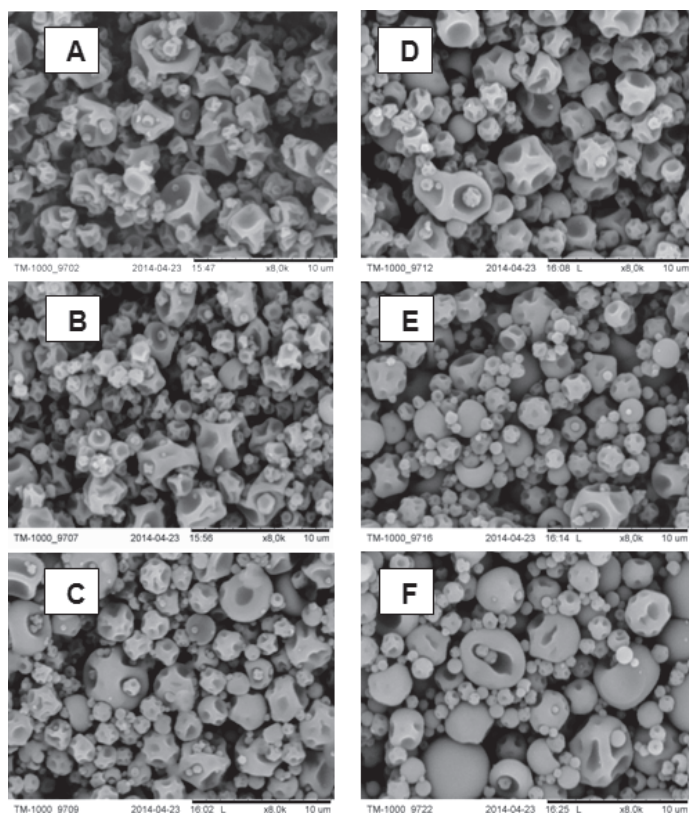
Wyniki i dyskusja

Zdjęcia cząstek proszku otrzymanego metodą suszenia rozpyłowego z roztworu nanocząstek PAD zamieszczono na rys. 1. Rozmiar cząstek wynosi od ok. 1 do 7 μm . Na zdjęciach można zaobserwować zróżnicowaną morfologię otrzymanych cząstek zależną od warunków prowadzenia procesu suszenia, od cząstek bardzo pomarszczonych (A, B i D) do cząstek prawie kulistych (F).

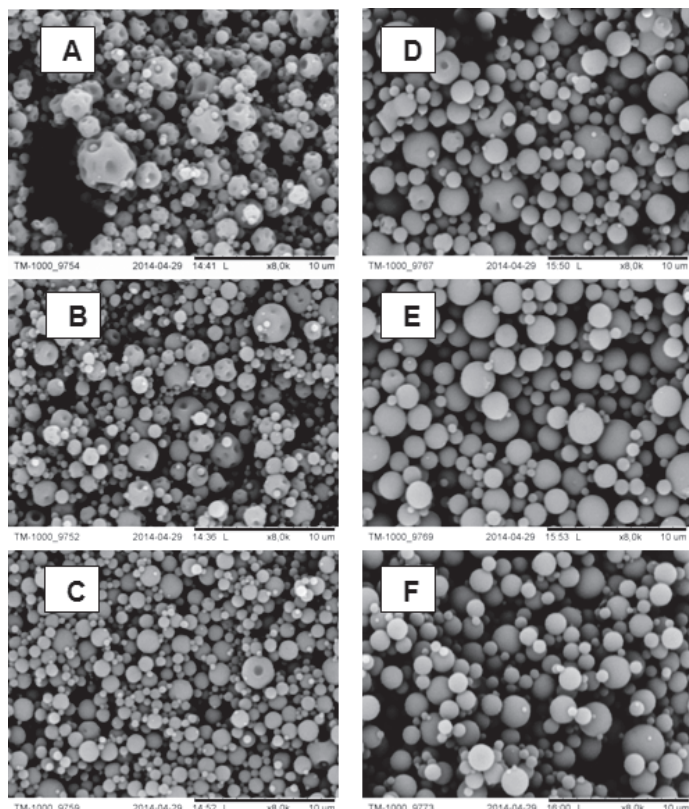
Podobne obserwacje dotyczą cząstek proszku otrzymanych w wyniku suszenia z zawiesiny nanocząstek DCMC, których zdjęcia przedstawiono na rys. 2. Charakteryzują się one nieznacznie mniejszą średnicą z zakresu od ok. 0,5 do 5 μm , co wynika z mniejszego stężenia prekursora. Cząstki te są mniej pomarszczone niż cząstki PAD, a stopień pofałdowania ich powierzchni także różni się od siebie w zależności od zastosowanych parametrów suszenia. Cząstki proszków E oraz F otrzymane przy najłagodniejszych warunkach suszenia mają kształt kulisty.

W obu przypadkach pofałdowanie powierzchni jest większe, gdy większa jest szybkość suszenia. Wzrost szybkości suszenia wynika zarówno z zastosowania wyższej temperatury wlotowej powietrza suszącego jak i zwiększenia jego przepływu, a więc z dostarczenia większej

energii zużywanej na odparowanie rozpuszczalnika. Skutkuje to wzrostem temperatury wylotowej powietrza.



Rys. 1. Zdjęcia SEM cząstek proszku wytworzonego metodą suszenia rozpyłowego roztworu nanocząstek PAD



Rys. 2. Zdjęcia SEM cząstek proszku wytworzonego metodą suszenia rozpyłowego roztworu nanocząstek DCMC

W tab. 2 zamieszczono parametry rozkładów wielkości nanocząstek polisacharydowych zmierzone w zawieszynie prekursora (próbka 0) oraz w zawieszinach nanocząstek uzyskanych w wyniku ponownego uwod-

nienia proszków wytworzonych w różnych warunkach (próbki od A do F).

W wyniku syntezy otrzymano nanocząstki PAD o średniej średnicy równej 168 nm i największej liczności dla średnicy 107 nm. Dla nanocząstek DCMC średnia średnica wynosiła 118 nm, natomiast moda rozkładu występowała dla wartości średnicy równej 96 nm. Większym odchyleniem standardowym rozmiarów nanocząstek charakteryzowały się układy z PAD.

Tab. 2. Parametry rozkładów wielkości nanocząstek przed i po suszeniu rozpyłowym

	Średnia [nm]	Moda [nm]	SD [nm]
PAD			
0	168±16,5	107±1,9	81±13,5
A	149±13,2	110±7,0	60±8,1
B	188±8,0	119±15,0	93±4,9
C	148±3,3	103±5,2	73±6,0
D	154±1,0	120±9,5	83±2,5
E	175±9,0	124±2,4	103±18,5
F	155±3,0	113±15,9	81±16,8
DCMC			
0	118±0,7	96±5,0	55±2,1
A	117±0,5	94±2,9	48±1,5
B	116±7,3	101±5,0	47±2,1
C	116±3,2	94±6,8	48±2,9
D	111±2,6	99±3,0	43±3,3
E	117±2,3	97±3,2	47±3,9
F	117±3,0	91±5,8	44±1,4

Pomiary rozkładów wielkości nanocząstek odtwarzających się po ponownym uwodnieniu proszków PAD wykazały dla większości próbek bardzo nieznaczny wzrost wartości średnicy, przy której obserwowany jest pik (maksymalnie o 16%). Zmiany wartości średniej średnicy rozkładów nanocząstek po powtórnym uwodnieniu nie pozwalają na sformułowanie wniosków odnośnie wpływu warunków suszenia na zmianę tego parametru, jednakże uzyskane wyniki świadczą o dobrej odtwarzalności nanocząstek.

Zmiany parametrów rozkładu dla nanocząstek DCMC są bardzo niewielkie i mieszczące się w granicy błędów statystycznego, co pozwala wnioskować o braku wpływu procesu suszenia na strukturę odtwarzających się nanocząstek tego typu.

Wnioski

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono możliwość otrzymania z modyfikowanych polisacharydów nanostrukturalnych cząstek proszku o średnicach z zakresu 0,5÷7 μm o morfologii zależnej od parametrów suszenia. Powtórne uwodnienie wytworzonych proszków pozwoliło na odtworzenie zawiesiny nanocząstek bez znaczącej zmiany w rozkładzie ich rozmiarów.

Zarówno wielkość cząstek proszku, jak i zdolność do odtwarzania się nanocząstek w fazie wodnej sugeruje, że w takiej postaci są one odpowiednie do zastosowania jako nośniki leków w aerozoloterapii.

Z badań wynika także, że suszenie rozpyłowe może stanowić alternatywną dla procesu liofilizacji metodę wydłużenia trwałości preparatów zawierających nanocząstki polisacharydowe, podawanych drogą parenteralną.

LITERATURA

- Changdao M., Jimin G., Xinying L., Wei L., Defu L., 2012. Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. *Food Hydrocolloids*, **27**, 22-29. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.09.005
- Soppimath K.S., Aminabhavi T.M., Kulkarni A.R., Rudzinski W.E., 2001. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices *J. Control Release*, **70**, 1-20. DOI: 10.1016/S0168-3659(00)00339-4
- Sung J.C., Pulliam B.L., Edwards D.A., 2007. Nanoparticles for drug delivery to the lungs, *Trends Biotechnol.*, **25**, 563-570. DOI: 10.1016/j.tibtech.2007.09.005
- Yang W., Peters J.I., Williams R.O., 2008. Inhaled nanoparticles – A current review. *Int. J. Pharm.*, **356**, 239-247. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.02.011