

УДК 547.458.1

НАНОВОЛОКНА НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ С МАНГИФЕРИНОМ

© 2023 г. В. И. Климшина¹, *, П. П. Снетков¹, С. Н. Морозкина¹, М. В. Успенская¹

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
“Национальный исследовательский университет ИТМО”, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: vadusha375@gmail.com

Поступила в редакцию 05.12.2022 г.

После доработки 23.12.2022 г.

Принята к публикации 27.02.2023 г.

Исследованы физические характеристики водно-органических прядильных растворов на основе гиалуроновой кислоты с добавлением мангиферина. Из данных растворов методом электроспиннинга были получены и морфологически охарактеризованы волокна, которые могут быть рекомендованы в качестве регенеративных покрытий, а также систем доставки мангиферина с трансдермальным переносом.

DOI: 10.31857/S0367676523701387, EDN: VKXBBD

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в сфере биоинженерии и биомедицины существует острая потребность в полимерных нановолокнистых материалах на основе биосовместимых полимеров, в частности полисахаридов, таких как гиалуроновая кислота, хитозан, альгинат. Более того, востребованы полимерные волокнистые системы, содержащие лекарственные препараты и природные биологически активные соединения [1].

Среди существующих способов получения нановолокон большое внимание уделяется электроспиннингу, являющемуся частным случаем процесса электрогидродинамического распыления жидкости [2, 3]. С помощью электроспиннинга можно получить из расплава или раствора полимера волокна диаметром от 2 нанометров до нескольких микрометров [4]. Для нановолокон, полученных методом электроспиннинга, характерны следующие особенности: большая площадь поверхности, регулируемая пористость, возможность модификации поверхности, вариабельность эксплуатационных характеристик. Благодаря перечисленным свойствам такие нановолокна могут использоваться в различных биомедицинских и биоинженерных приложениях, таких как тканевая и регенеративная инженерия, а также таргетная доставка лекарственных препаратов [5].

Особый интерес среди биополимеров для применения в регенеративной медицине представляет гиалуроновая кислота (ГК). ГК – это природный гетерополисахарид, состоящий из

повторяющихся остатков D-глюкуроновой кислоты N-ацетил-D-глюкозамина, которые связаны между собой чередующимися гликозидными связями [6]. Благодаря уникальным физико-химическим, реологическим и биологическим свойствам, таким как биосовместимость, биодеградируемость, гигроскопичность, мукоадгезивность, нетоксичность и т.п., данный биополимер успешно используется во многих областях медицины: офтальмология, онкология, артрология, регенеративная медицина и косметология [7, 8]. Несмотря на то, что ГК широко используется в биомедицине, получение нановолокон из раствора полимера затруднено по причине высоких значений поверхностного натяжения и динамической вязкости, а также низкой испаряемостью водных растворов [9].

Мангиферин – биологически активное соединение, представляющее собой ксантон С-гликозид и присутствующее в различных растениях, включая *Mangifera indica* [10]. Мангиферин обладает широким спектром биологической активности: антиоксидантной, противовирусной, антибактериальной, антидиабетической, противоонкологической, иммуномодулирующей, гепатопротекторной, обезболивающей и антивозрастной [11, 12]. Несмотря на огромные фармакологические возможности, данное биоактивное вещество обладает гидрофобной природой и низкой трансмембранной проницаемостью, что снижает его биодоступность, и, соответственно, ограничивает применение в медицине [13].

Для улучшения эффективности мангиферина используются различные методы, в том числе, инкапсуляция биоактивного соединения в полимерные системы доставки [14]. Анализ научно-технической литературы выявил существенный недостаток исследований, связанных с интеграцией мангиферина в полимерные матрицы на основе ГК, что подчеркивает актуальность исследования. Целью данной работы является исследование возможности получения методом электроспиннинга волокон на основе гидрофильной ГК и гидрофобного мангиферина. Помимо этого, в работе представлены результаты анализа физических характеристик прядильных полимерных растворов ГК (электропроводности и динамической вязкости), а также морфологических характеристик полученных волокон.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

В данной работе использовались следующие реактивы: ГК с молекулярной массой 1.29 МДа, Bloomage Freda Biopharm Co., Ltd (Китай); мангиферин, 98%, ABCR (Германия); диметилсульфоксид (ДМСО, ХЧ, 99.5%, ТУ 2635-114-44493179-08), АО “ЭКОС-1” (Россия); дистиллированная вода ГОСТ Р 58144-2018.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения исследований были приготовлены 1.9 мас. % водно-органические растворы ГК с объемным соотношением растворителей вода : ДМСО 1 : 1. Также были приготовлены аналогичные растворы с различным массовым соотношением ГК : мангиферин, а именно 8 : 1, 9.5 : 1, 13 : 1 и 19 : 1 соответственно.

Исследование реологических характеристик полученных растворов проводилось на ротационном реометре Anton Paar Physica MCR-502 (Австрия) при скорости сдвига от 0.1 до 100 с⁻¹ при температуре 25°C. Получены графики зависимости динамической вязкости от скорости сдвига.

Измерение электрической проводимости проводилось на приборе Mettler Toledo SevenCompac pH/Cond S213 (Швейцария) при комнатной температуре 24 ± 2°C.

Получение нановолокон из приготовленных водно-органических растворов проводилось при температуре 26 ± 2°C и относительной влажности воздуха 26 ± 2% с помощью системы электроспиннинга NANON-01A (МЕСС, Япония) при следующих параметрах: электрическое напряжение 28.0 кВ, скорость подачи раствора 4 мл/ч, тупоконечные иглы из нержавеющей стали G27, расстояние между иглой и коллектором 150 мм. Для исследования морфологии и определения

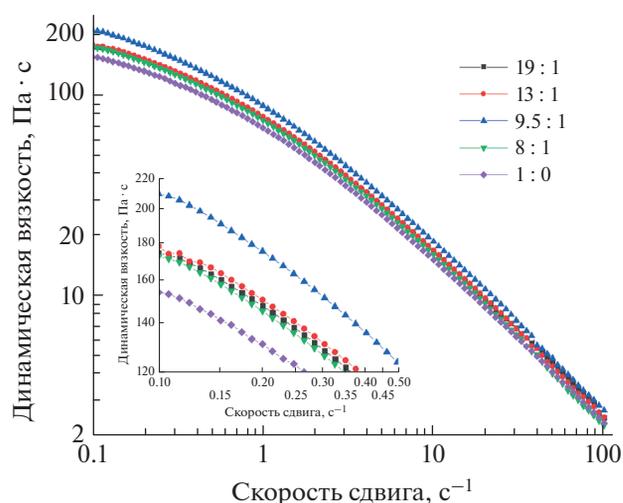


Рис. 1. Графики зависимости динамической вязкости от скорости сдвига растворов с различным массовым соотношением ГК : мангиферин.

диаметра полученных волокон использовался измерительный оптический микроскоп Olympus STM6 (OLYMPUS Corporation, Япония) с применением метода дифференциально-интерференционного контрастирования.

ИССЛЕДОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ВОДНО-ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРОВ

Динамическая вязкость является определяющим технологическим параметром в процессе переработки и транспортировки полимерных растворов, в частности, при подаче прядильных растворов к тонким питающим фильерам в процессе электроспиннинга.

Результаты исследования реологических характеристик полимерных растворов представлены на рис. 1. Зависимость динамической вязкости растворов от скорости сдвига носит нелинейный характер, что свойственно для неньютоновских жидкостей. При этом добавление мангиферина приводит к увеличению динамической вязкости растворов: чем больше содержание биологически активного вещества, тем выше исследуемый параметр. Наблюдаемый эффект может быть связан с образованием комплекса ГК с мангиферином в водно-органическом растворителе. Пониженная динамическая вязкость у раствора 8 : 1 может быть связана с превышением инкапсуляционной емкости полимера при данном массовом соотношении с мангиферином. При этом наблюдаем скачок вязкости при соотношении ГК : мангиферин 9.5 : 1. Мы наблюдаем подобные эффекты при инкапсулировании и других биологически активных соединений в полимерную матрицу на

Таблица 1. Значения электропроводности исследуемых растворов

Массовое соотношение ГК : мангиферин	Удельная электропроводность, См/м
1 : 0	0.082750 ± 00005
19 : 1	0.081640 ± 00072
13 : 1	0.083450 ± 00003
9.5 : 1	0.099960 ± 00017
8 : 1	0.099510 ± 00022

основе гиалуроновой кислоты, и, согласно данным по стабильности и биологической активности — это происходит в том случае, когда формируется наиболее стабильный комплекс биологически активного вещества с полимерной матрицей.

С одной стороны, высокое значение вязкости способствует высокой производительности процесса электроспиннинга (весовым “выходом” нановолокон), а также может повышать стабильность данного процесса путем гашения капиллярных волн, которые разрушают струю. С другой стороны, существует возможность закупоривания системы оборудования при повышенной вязкости, что может привести к прекращению волокнообразования.

Электрическая проводимость, наряду с вязкостью, является важным свойством прядильного раствора, влияющим на процесс электроспиннинга. Высокое значение электропроводности соответствует стабильному процессу получения нановолокон, т. к. способствует лучшему переносу зарядов от электрода к раствору.

Результаты исследования электропроводности представлены в табл. 1. При добавлении мангиферина наблюдается увеличение исследуемого параметра. У раствора с массовым соотношением ГК к биоактивному веществу 19 : 1 значение электропроводности практически остается таким же — отличается на 0.00111 См/м (увеличение в 1.01 раза) по сравнению с чистым раствором полимера. При соотношении 9.5 : 1 исследуемый параметр повышается на 0.01721 См/м (в 1.21 раза).

Таким образом, мангиферин выступает в роли стабилизатора процесса электроспиннинга, в связи с увеличением электропроводности водно-органических растворов при добавлении мангиферина.

ИССЛЕДОВАНИЕ НАНОВОЛОКОН

Процесс электроспиннинга нановолокон характеризуется высокой степенью устойчивости и стабильности у всех исследуемых водно-органических растворов, кроме раствора с массовым соотношением ГК к мангиферину 19 : 1. В данном случае наблюдалось образование дефектных волокон и капель раствора, а сам процесс периодически прерывался и сопровождался “всплесками”.

Плотность покрытия волокон уменьшается при добавлении мангиферина (рис. 2). При этом чем больше содержание биоактивного вещества, тем меньше плотность покрытия. Также у всех образцов наблюдаются незначительные дефекты, такие как разветвления, пузырьки и узелки.

На рис. 2 представлены гистограммы распределения диаметров исследуемых нановолокон. Для получения распределения по диаметру были измерены диаметры 200 волокон из каждого образца с помощью программы ImageJ. При добавлении мангиферина наблюдается незначительное уменьшение среднего и максимального значений диаметра, а также небольшое увеличение минимального значения диаметра нановолокон. При сравнительном анализе гистограмм распределения диаметров нановолокон можно заметить, что добавление мангиферина приводит к уменьшению ширины распределения. Наименьшей шириной распределения диаметров обладают нановолокна, полученные из водно-органических растворов с массовым соотношением ГК : мангиферин 9.5 : 1 и 8 : 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показывают, что добавление мангиферина в водно-органические растворы ГК с концентрации 1.9 мас. % с равновольным соотношением вода : ДМСО приводит к повышению динамической вязкости и электрической проводимости. Также были успешно получены малодефектные нановолокна из исследованных растворов при массовом соотношении ГК к мангиферину 8 : 1, 9.5 : 1 и 13 : 1. Таким образом, мангиферин, повышая динамическую вязкость и электрическую проводимость водно-органических растворов, выступает в качестве стабилизирующего агента процесса электроспиннинга при получении малодефектных нановолокон на основе ГК.

После проведения дополнительных испытаний данные нановолокна могут быть рекомендованы для применения в качестве ожоговых/раневых регенеративных покрытий и систем доставки мангиферина с трансдермальным переносом.

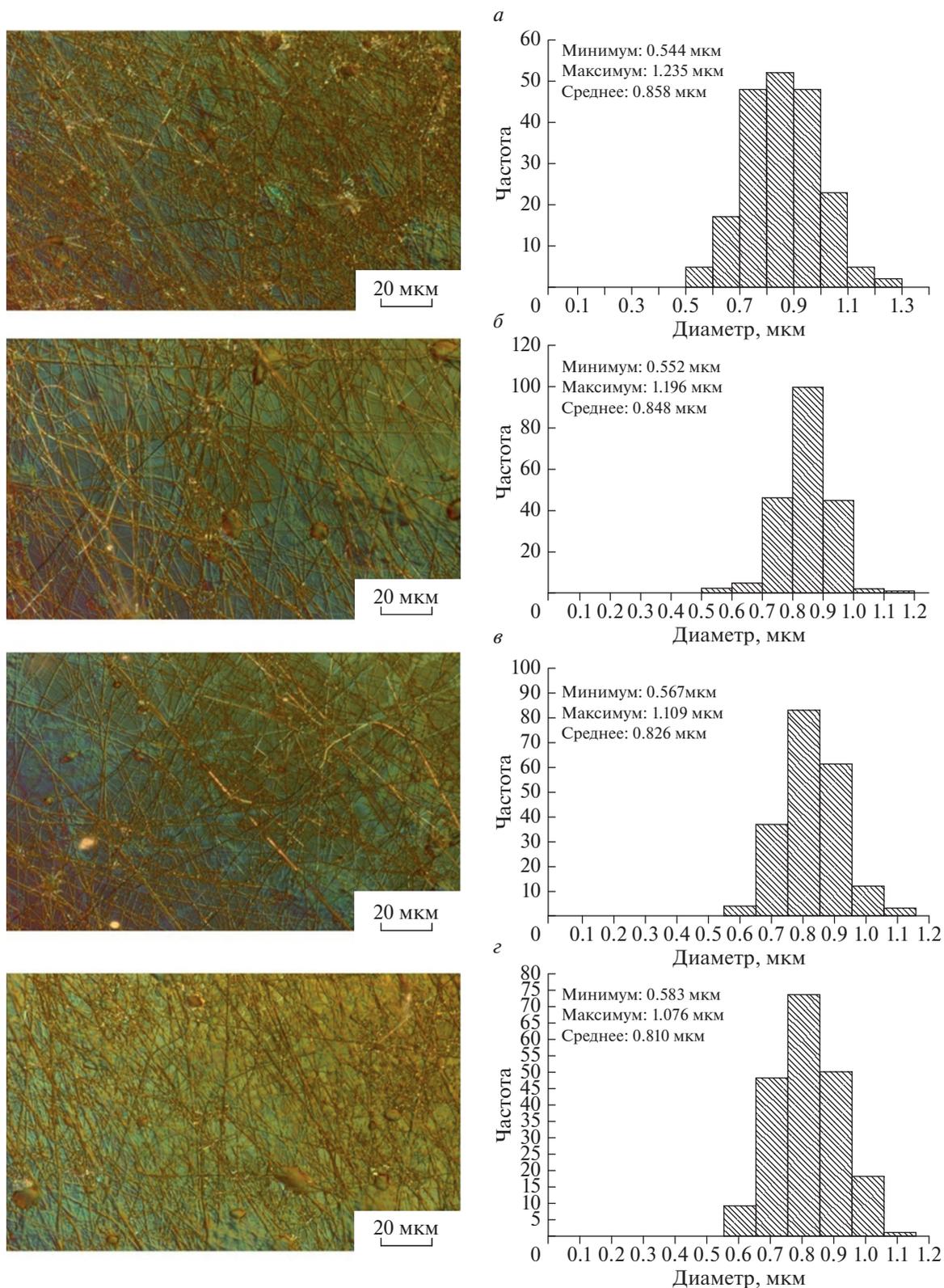


Рис. 2. Микрофотографии и гистограммы распределения диаметров нановолокон, полученных из водно-органических растворов с массовым соотношением ГК : мангиферин 1 : 0 (а), 13 : 1 (б), 9.5 : 1 (в) и 8 : 1 (г).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1349).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Priya S., Batra U., Samsritha R.N. et al. // Int. J. Biol. Macromol. 2022. V. 218. P. 209.
2. Gao C., Zhang L., Wang J. et al. // J. Mater. Chem. B. 2021. V. 9. P. 3106.
3. Dziemidowicz K., Sang Q., Wu J. et al. // J. Mater. Chem. B. 2021. V. 9. P. 939.
4. Bhardwaj N., Kundu S.C. // Biotechnol. Adv. 2010. V. 28. No. 3. P. 325.
5. Memic A., Abudula T., Mohammed H.S. // ACS Appl. Bio Mater. 2019. V. 2. No. 3. P. 952.
6. Радаева И.Ф., Костина Г.А., Змиевский А.В. // Приклад. биохим. микробиол. 1997. Т. 33. № 2. С. 133.
7. Fallacara A., Baldini E., Manfredini S., Vertuani S. // Polymers. 2018. V. 7. No. 7. P. 70.
8. Yasin A., Ren Y., Li J. et al. // Front. Bioeng. Biotechnol. 2022. V. 10. Art. No. 910290.
9. Snetkov P., Morozkina S., Uspenskaya M., Olekhovich R. // Polymers. 2019. V. 11. No. 12. P. 2036.
10. Vyas A., Syeda K., Ahmad A. et al. // Mini Rev. Med. Chem. 2012. V. 12. No. 5. P. 412.
11. Dar A., Faizi S., Naqvi S. et al. // Biol. Pharm. Bull. 2005. V. 28. No. 4. P. 596.
12. Mei S., Ma H., Chen X. // Food Chem. Toxicol. 2021. V. 149. Art. No. 111997.
13. Du S., Liu H., Lei T. et al. // Mol. Med. Rep. 2018. V. 18. No. 6. P. 4775.
14. Morozkina S.N., Nhung Vu T.H., Generalova Y.E. et al. // Biomolecules. 2021. V. 11. No. 1. P. 79.

Mangiferin-loaded nanofibers based on hyaluronic acid

V. I. Klimshina^{a,*}, P. P. Snetkov^a, S. N. Morozkina^a, M. V. Uspenskaya^a

^aITMO University, Saint-Petersburg, 197101 Russia

*e-mail: vadusha375@gmail.com

The physical characteristics of water-organic spinning solutions based on hyaluronic acid with the addition of mangiferin were investigated. From these solutions by electrospinning, fibers were obtained and morphologically characterized, which can be recommended as regenerative coatings, as well as mangiferin delivery systems with transdermal transfer.