

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ»

**ВЛИЯНИЕ ИЗОФОРМЫ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФИЗИКО-
ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АСКОРБАТА ХИТОЗАНА**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки IV курса 412 группы

направления 04.03.01 – Химия

Института химии

Горячевой Виктории Алексеевны

Научный руководитель

Зав. кафедрой полимеров
на базе ООО «АКРИПОЛ»,

д.х.н., доцент

Шиповская А.Б.

Зав. кафедрой

д.х.н., доцент

Шиповская А.Б.

Саратов 2018

Введение

Актуальность работы. В настоящее время хитозан активно изучается и применяется в различных областях (от сельского хозяйства до медицины [1-4]). Такое внимание хитозан заслужил благодаря своим свойствам: биологической совместимости, высокой антибактериальной и противовирусной активностям, способность к ранозаживлению и регенерации тканей, а также нетоксичности [5-7]. Для создания препаратов медицинского и фармакологического назначения используют водорастворимые производные хитозана различной функциональности, например полисоли с неорганическими и органическими кислотами [8].

Для медицинского использования наиболее перспективно применение органических кислот фармакопейного назначения. В частности уместно использовать *L*-аскорбиновую кислоту (витамин С), которая обладает выраженными антиоксидантными свойствами, регулирует иммунологические реакции, повышает сопротивляемость организма инфекциям, а также необходима для нормального функционирования соединительной и костной ткани [9].

Ранее исследована ранозаживляющая активность гелей гидрохлорида хитозана с *L*- и *D*-изоформами аскорбиновой кислоты в сравнении со специальным ветеринарным препаратом для заживления ожогов [10]. В результате было выяснено, что гели на основе гидрохлорида хитозана и *D*-аскорбиновой кислоты проявляют более высокую ранозаживляющую и антимикробную активность.

Полученные результаты интересны тем, что наибольшую биологическую активность проявляет соль хитозана с биологически инертным изомером аскорбиновой кислоты. В этой связи принято решение провести исследования других физико-химических свойств растворов гидрохлорида хитозана в аскорбиновой кислоте разных изомерных форм.

Цель данной работы – оценка влияния изоформы аскорбиновой кислоты на физико-химические свойства аскорбата хитозана. Для ее достижения решали следующие **задачи**:

–оценка теплоты растворения гидрохлорида хитозана ($\text{ХТЗ}\cdot\text{НСI}$) в водном растворе диастереомеров аскорбиновой кислоты (АК) при варьировании концентрации компонентов, сохраняя мольное соотношение $\text{ХТЗ}\cdot\text{НСI} : \text{АК} = 1 : 1$,

–определение степени протонирования $\text{ХТЗ}\cdot\text{НСI}$ в водных растворах АК,

–исследование возможности образования пленок Ленгмюра-Блоджетт на субфазе, модифицированной гидрохлоридом хитозана, аскорбиновой кислотой разных изомерных форм (*L*- и *D*-) и их совместной солью,

– оценка влияния содержания гидрохлорида хитозана, аскорбиновой кислоты и их совместной соли в субфазе и температуры на формирование и основные параметры монослоев.

В качестве **объектов** исследования для определения теплоты растворения и степени протонирования использовали водные растворы $\text{ХТЗ}\cdot\text{НСI}$ (концентрация $C_{\text{ХТЗ}\cdot\text{НСI}} = 0.5, 1.0$ и 2.0 мас.%) в *L*-АК, *D*-АК, а также рацемической смеси изомеров *L*-АК + *D*-АК.

В качестве субфазы для формирования монослоев арахидиновой кислоты (АрК) использовали деионизованную воду, водные растворы *L*- и *D*-АК ($C_{L-(D)\text{АК}} = 10^{-1}, 10^{-2}, 2\cdot 10^{-3}, 10^{-3}, 5\cdot 10^{-4}$ М), водный раствор $\text{ХТЗ}\cdot\text{НСI}$ ($C_{\text{ХТЗ}\cdot\text{НСI}} = 10^{-3}$ М), водные растворы $\text{ХТЗ}\cdot\text{НСI} + L-(D)\text{АК}$ (при мольном соотношении $\nu_{\text{ХТЗ}\cdot\text{НСI}} : \nu_{L-(D)\text{АК}} = 1:0.5, 1:1, 1:2$). Изотермы сжатия монослоев записывали при температурах 25, 37 и 41°C.

Структура и объем работы. Бакалаврская работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, заключения, 3 приложений и списка используемых источников, включающего 47 наименований. Работа изложена на 55 листах машинописного текста, содержит 13 рисунков и 11 таблиц.

Основное содержание работы

1 Определение теплоты растворения гидрохлорида хитозана в водных растворах *L*- и *D*-аскорбиновой кислоты

Проведен эксперимент по определению теплоты растворения ХТЗ·НСl в водных растворах *L*- и *D*-АК. Отмечено, что растворы ХТЗ·НСl в АК одинаковых концентраций имеют близкие значения рН. Также во всех рассмотренных случаях наблюдается одинаковая тенденция: при добавлении ХТЗ·НСl к раствору кислоты происходит выделение теплоты. Тенденция уменьшения теплоты растворения ХТЗ·НСl в водном растворе АК наблюдается в ряду $L\text{-АК} \rightarrow L\text{-АК} + D\text{-АК} \rightarrow D\text{-АК}$. Высказано предположение, что такое поведение является следствием различной степени протонирования полимерной молекулы.

2 Определение степени протонирования гидрохлорида хитозана в водных растворах *L*- и *D*-аскорбиновой кислоты

Определение степени протонирования полимерной молекулы проводили путем потенциометрического титрования растворов. По результатам эксперимента были определены точки эквивалентности, отвечающие мольному содержанию в системе свободной и связанной АК.

Отмечено, что изменение концентрации АК влияет на степень протонирования (α) ХТЗ·НСl. Наибольшие значения α ХТЗ·НСl при концентрации 0.5 и 1.0 мас. % принимает в растворе *D*-АК, при 2.0 мас. % — в растворе смеси диастереомеров АК. При этом $\alpha - C$ проявляет тенденцию экстремальной зависимости.

Полученные небольшие значения степени протонирования (3-9.7 мольн. %) объясняет то, что гидрохлорид хитозана, взятый для эксперимента, имеет только 10 мольн.% звеньев со свободной аминогруппой. Несвязанная АК распределяется в объеме раствора. Вполне возможно, что из-за стерических затруднений АК не может протонировать все свободные аминогруппы ХТЗ·НСl.

3 Исследование влияния изомерной формы аскорбиновой кислоты, концентрационного состава компонентов в субфазе и температуры на формирование и свойства монослоев арахидиновой кислоты

Исследовали влияние состава компонентов субфазы, концентрации и температуры на формирование монослоев арахидиновой кислоты по методу ЛБ.

По полученным данным построены графики зависимости поверхностного давления (π , мН/м) от площади поверхности, приходящейся на одну молекулу (A , Å²).

А) Влияние изоформы и концентрации АК в субфазе

При введении в субфазу аскорбиновой кислоты происходит сдвиг изотерм сжатия в сторону больших значений A_0 , что объясняется повышением кислотности субфазы и увеличением силы взаимодействия между полярными частями молекул ПАВ. Также можно отметить, что при повышении в субфазе концентрации АК сдвиг изотермы сжатия в область больших значений площади монослоя, приходящейся на молекулу A_{pK} относительно изотермы монослоя, сформированного на чистой воде, свидетельствует об адсорбции молекул АК на монослой. Вероятно, адсорбция происходит за счет образования водородных связей между полярной –COOH группой молекул монослоя и –ОН группами АК.

При повышении температуры субфазы наблюдаются следующие закономерности: давление коллапса снижается, монослой становится менее жестким и значения удельных площадей в жидко-конденсированном состоянии увеличиваются.

При изменении изоформы (*L*- и *D*-) АК, входящей в состав субфазы, наблюдаются явные различия. Для растворов *L*-АК изменение концентрации и температуры практически не оказывает влияния на вид изотерм сжатия. Однако для растворов *D*-АК любое изменение параметров системы приводит к сдвигу в область больших значений площади, приходящейся на молекулу монослоя, на большую величину.

Б) Влияние гидрохлорида хитозана, оценка стабильности монослоев

Поскольку хитозан и его производные характеризуются нестабильностью, сначала оценивали стабильность монослоев на водных

растворах ХТЗ·НСІ во времени. Для этого готовили раствор ХТЗ·НСІ ($C_{\text{ХТЗ·НСІ}} = 10^{-3} \text{ М}$) и использовали в качестве субфазы для формирования монослоев через 0, 20, 40, 60, 80, 100 мин после растворения навески в воде.

Кинетика ограничивалась временем проведения эксперимента.

Установлено, что в пределах времени эксперимента стабильность монослоев не зависит от времени выдержки водных растворов ХТЗ·НСІ.

Анализ изотерм сжатия монослоев арахидиновой кислоты на субфазе, содержащей ХТЗ·НСІ показывает, что при повышении температуры субфазы давление коллапса остается практически неизменным, а значения удельных площадей в жидко-конденсированном и твердо-кристаллическом состояниях значительно увеличиваются. Сделан вывод: ХТЗ·НСІ как и АК адсорбируется на поверхности монослоя. Однако изменения в характеристике монослоев АК на субфазе, содержащей ХТЗ·НСІ, выражена в большей степени, по сравнению с субфазой на основе АК.

В) Влияние гидрохлорида аскорбата хитозана

Поскольку чистые компоненты (АК и ХТЗ·НСІ) встраиваются в монослой, далее оценивали влияние содержания их совместной соли – гидрохлорида аскорбата хитозана – в субфазе и температуры на формирование и основные параметры монослоев арахидиновой кислоты.

Совместная соль АК и ХТЗ·НСІ оказывает влияние на монослой арахидиновой кислоты. Гидрохлорид аскорбат хитозана способен встраиваться в монослой в большей степени, чем АК, но в меньшей, чем ХТЗ·НСІ.

При мольном соотношении компонентов системы $\nu_{\text{ХТЗ·НСІ}} : \nu_{\text{АК}} = 1 : 0.5$ можно видеть, что различия между изотермами сжатия ХТЗ·НСІ и ХТЗ·НСІ + L-(D-)АК минимальны. Исключение составляет лишь система на основе ХТЗ·НСІ + D-АК при температуре 41°C.

Изменение мольного отношения до 1 : 1 не изменяет установленных ранее принципиальных законов. Промежуточное положение гидрохлорида аскорбата хитозана становится еще более заметным, поскольку происходит уменьшение значений удельной площади, приходящейся на молекулу монослоя. Еще большее повышение мольного соотношения

($v_{\text{ХТЗ} \cdot \text{НСI}} : v_{\text{АК}} = 1 : 2$) не влияет на формирование монослоев арахидиновой кислоты.

Влияние температуры субфазы, содержащей гидрохлорид аскорбата хитозана, во всех случаях имеет тенденцию, схожую с водными растворами индивидуальных АК и $\text{ХТЗ} \cdot \text{НСI}$: при повышении температуры наблюдается увеличение удельной площади на молекулу и жесткости монослоя в «жидко-конденсированном» и «твёрдо-кристаллическом» состояниях (как с гидрохлоридом хитозана), а давление коллапса постепенно уменьшается (как с аскорбиновой кислотой).

Прослеживается влияние изоформы АК, входящей в состав гидрохлорида аскорбата хитозана. Существует незначительная разница между $\text{ХТЗ} \cdot \text{НСI} + L\text{-АК}$ и $\text{ХТЗ} \cdot \text{НСI} + D\text{-АК}$, однако также, как и с индивидуальными водными растворами АК в качестве субфазы, системы $\text{ХТЗ} \cdot \text{НСI}$ с $D\text{-АК}$ оказывают большее влияние на основные параметры монослоев.

Заключение

В ходе работы было исследовано влияние изоформы аскорбиновой кислоты на физико-химические свойства аскорбата хитозана.

1. Методом калориметрии определены теплоты растворения гидрохлорида хитозана в водном растворе *L*- и *D*-аскорбиновой кислоты при варьировании концентраций компонентов. Теплота растворения гидрохлорида хитозана в водном растворе аскорбиновой кислоты уменьшается в ряду $L\text{-АК} \rightarrow L\text{-АК} + D\text{-АК} \rightarrow D\text{-АК}$.

2. Методом потенциометрии оценено влияние концентрации аскорбиновой кислоты на степень протонирования (α) аминогрупп хитозана в ее водных растворах. Наибольшие значения α достигаются в растворе *D*-аскорбиновой кислоты.

3. Методом Ленгмюра–Блоджетт впервые получены монослои арахидиновой кислоты на поверхности водной субфазы, модифицированной *L*- и *D*-аскорбиновой кислотой, гидрохлоридом и гидрохлоридом аскорбата хитозана. Проведены измерения и анализ изотерм сжатия в диапазоне температур 25–41°C. Оценено влияние концентрации, изоформы компонентов и температуры на формирование и основные характеристики монослоев:

– введение аскорбиновой кислоты в состав субфазы оказывает влияние на формирование монослоев арахидиновой кислоты. При повышении концентрации происходит сдвиг изотерм сжатия в область больших значений удельной площади монослоя. При повышении температуры наблюдаются снижение давления коллапса, жесткости и увеличение удельной площади на молекулу монослоя в «жидко-конденсированном состоянии»;

– для водных растворов *D*-аскорбиновой кислоты, используемых в качестве субфазы, наблюдается более значимое влияние на основные параметры монослоев при любом изменении параметров системы по сравнению с *L*-аскорбиновой кислотой;

– введение в состав субфазы гидрохлорида хитозана также влияет на формирование монослоев. При повышении температуры происходит понижение жесткости и увеличение удельной площади на молекулу монослоя в «жидко-конденсированном» и «твердо-кристаллическом» состояниях, давление коллапса при этом остается неизменным;

–при введении в субфазу гидрохлорида аскорбата хитозана любой исследуемой концентрации изотермы сжатия принимают промежуточное положение относительно индивидуальных растворов гидрохлорида хитозана и аскорбиновой кислоты. При этом наблюдается интересная особенность: повышение температуры приводит к понижению жесткости и увеличению удельной площади на молекулу монослоя в «жидко-конденсированном» и «твердо-кристаллическом» состояниях (как с гидрохлоридом хитозана), а давление коллапса постепенно уменьшается (как с аскорбиновой кислотой);

– прослеживается влияние изоформы АК, входящей в состав гидрохлорида аскорбата хитозана. Существует незначительная разница между *L*- и *D*-аскорбатом гидрохлорида хитозана, однако *D*-аскорбат гидрохлорид хитозана оказывает большее влияние на основные параметры монослоев.

На основе обнаруженных характерных изменений изотерм сжатия высказано предположение о связывании молекул субфазы с монослоем ПАВ.

Список используемых источников

1. Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / под ред. Скрябина К.Г., Вихоревой Г.А., Варламова В.П. // М.: Наука. 2002. 368 с.
2. Гальбрайт Л.С. Модифицированные волокнистые и пленочные материалы // Химические волокна. 2005. № 5. С. 21-27.
3. Rabea E., Badawy M., Stevens C., Smaghe G. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action // *Biomacromol.* 2003. Vol. 4. No 1. P. 14-57.
4. Piiese M., Hoemann C.D., Shive M.S., Chenite A. Ultrastructure of hybrid chitosan-glycerol phosphate blood clots by environmental scanning electron microscopy // *Microsc. Res. Technique.* 2008. Vol. 71. No 3. P. 236-247.
5. Лопатин С.В. Хитозан в хроматографии // Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. М.: Наука. 2002. С. 247-253.
6. Elsabee M.Z., Abdou E.S., Nagy K.S.A., Eweis M. Surface modification of polypropylene films by chitosan and chitosan/pectin multilayer // *Carbohydrate Polymers.* 2008. Vol. 71. P. 187–195.
7. Marudova M., Lang S., Brownsey G.J., Ring S.G. Pectin–Chitosan multilayer formation // *Carbohydrate Research.* 2005. Vol. 340. P. 2144–2149.
8. Li Q., Song B., Fan H. Electrolytic conductivity behaviors and solutions conformations of chitosan in different acids solutions // *Carbohydr. Polym.* 2006. No 63. P. 272-282.
9. Шиповская А.Б., Зудина И.В., Фомина В.И., Малинкина О.Н. Новые антимикробные препараты на основе комплексной соли хитозана с хиральным органическим лигандом // *Бутлеровские сообщения.* 2015. Т. 41. № 3. С. 82.
10. Аль Зубейди Адавия Ф.А., Малинкина О.Н., Зудина И.В. et al Оценка ранозаживляющей активности *L*- и *D*-изоформ аскорбиновой кислоты и их солей с хитозаном на модели ожоговой раны у крыс // *Современные проблемы науки и образования. Раздел: Медицинские науки.* 2016. № 6.С. 236-246.