

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 СИНТЕЗ И
СВОЙСТВА КРЕМНИЙХИТОЗАНСОДЕРЖАЩИХ
ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЕЙ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 2 курса 251 группы

направления 04.04.01 – «Химия»

Институт химии

Журавлевой Юлии Юрьевны

Научный руководитель:

зав. кафедрой, д.х.н., доцент

подпись, дата

Шиповская А.Б.

Зав. кафедрой:

д.х.н., доцент

подпись, дата

Шиповская А.Б.

Саратов 2018

Актуальность работы. Гидрогели на основе полисахаридов и их производных вызывают в настоящее время большой научный и практический интерес. Это связано, прежде всего, с особенностью гидрогелевой структуры, предопределяющей широкое применение гидрогелей в медицине, комплементарной фармацевтике, тканевой инженерии, для доставки лекарственных веществ или в качестве раневых повязок. Например, аминополисахарид хитозан обладает ранозаживляющими, иммунокорректирующими свойствами, а также является биосовместимым и биоразлагаемым. Кроме того, хитозан обладает оптической активностью и структурной хиральностью, что делает его перспективным для получения материалов с управляемыми комплементарно-стереоспецифическими свойствами.

Однако использование для растворения хитозана таких органических растворителей, как уксусная, муравьиная кислота и т.п., снижает практическое использование материалов на его основе. В качестве эффективного растворителя можно рассматривать полифункциональные фармацевтические кислоты, в частности аскорбиновую кислоту. Аскорбиновая кислота также обладает оптической активностью и существует в виде двух изомеров: биологически активного *L*-изомера и не активного *D*-изомера. Однако известно, что *D*-аскорбиновая кислота проявляет более высокую реакционную способность по отношению к хитозану, чем *L*-изомер. Эти различия в реакционной способности между изомерами аскорбиновой кислоты могут оказывать существенное влияние на свойства получаемых их основе полимерных гидрогелевых материалов. В связи с этим актуальным является исследование влияния изоформы аскорбиновой кислоты на кинетику гелеобразования и свойства хитозансодержащих гидрогелей.

Цель работы – изучение влияния изоформы аскорбиновой кислоты на синтез и свойства кремнийхитозансодержащих глицерогидрогелей.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

- получить кремнийхитозансодержащие глицерогидрогели на основе хитозана в *L*- и *D*-аскорбиновой кислоте в форме монолитов и пластин;
- оценить влияние компонентного состава и условий синтеза на кинетику гелеобразования;
- оценить структурно-морфологические параметры поверхности полученных глицерогидрогелей и их твердой фазы (ксерогелей);
- изучить влияние изоформы аскорбиновой кислоты на кинетику гелеобразования, реологические, физико-механические, а также ранозаживляющие свойства кремнийхитозансодержащих глицерогидрогелей.

Научная новизна. В работе впервые:

- получены кремнийхитозансодержащие глицерогидрогели на основе растворов хитозана в *L*- и *D*-аскорбиновой кислоте в виде тонкопленочных пластин;
- изучены реологические свойства и кинетика структурообразования смесевой композиции в процессе золь-гель синтеза;
- установлено влияние изоформы аскорбиновой кислоты на кинетику гелеобразования, динамическую вязкость, механическую прочность, а также ранозаживляющую активность гидрогелей.

Практическая значимость работы.

Определен оптимальный компонентный состав и условия получения гидрогелевых композиций для получения стабильных систем на основе водно-кислотных растворов хитозана и глицериновых растворов полиолатов кремния. Полученные результаты могут быть использованы в качестве справочных материалов при получении кремнийхитозансодержащих гидрогелей.

Разработанные гидрогелевые материалы могут быть использованы в регенеративной медицине в качестве наружного антисептического перевязочного средства.

Работа выполнена в рамках проекта «Разработка фармацевтических биотрансплантатов-пластырей на основе кремнийхитозансодержащих гидрогелевых систем» Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере «УМНИК»

На защиту выносятся:

- эксперименты по оценке влияние компонентного состава и условий синтеза на кинетику гелеобразования кремнийхитозансодержащих глицерогидрогелей;
- результаты исследования влияния изоформы аскорбиновой кислоты на золь-гель синтез, реологические, физико-механические и ранозаживляющие свойства глицерогидрогелей;
- изучение структурно-морфологических параметров поверхности гидро- и ксерогелей.

Объем и структура магистерской диссертации.

Диссертация состоит из введения, 3 глав (1 глава - обзор литературы по теме исследования, 2 глава - характеристика объектов и методов исследования, 3 глава - обсуждение полученных результатов), заключения, техники безопасности, приложения и списка литературы из 68 наименований.

Работа изложена на 57 стр., включает 18 рисунков и 4 таблицы, список литературы из 68 источников и приложения.

Основное содержание работы

Во **введении** обоснована актуальность выбранной темы диссертационной работы, сформулированы цель и задачи исследования.

В **первой главе** представлен обзор зарубежной и отечественной научной литературы, посвящённой полимерным гидрогелевым материалам и способам их получения, а также влиянию хиральности на свойства гидрогелей. Обоснована постановка задачи исследования.

Во **второй главе** представлены характеристики объектов и методов исследований. В качестве объектов исследования были выбраны кремнийхитозансодержащие глицерогидрогели в форме монолитов и тонкопленочных пластин, полученные методом биомиметического золь-гель синтеза. Для получения гидрогелевых материалов использовали: низко- и высокомолекулярный хитозан с ММ=38 и 200 кДа, СД=80±5 мольн.% (ЗАО «Биопрогресс»); *L*-аскорбиновую кислоту (*L*-АК, ОАО «Люми») и *D*-аскорбиновая кислота (*D*-АК, ЗАО «Химреактив»); тераглицеролат кремния

Si(OGly)₄ (УрО РАН ИОС); поливиниловый спирт (ПВС, Sigma ALDRICH); NaCl (ЗАО «НПО ЭКРОС»); Na₂B₄O₇·9GlyOH (ЗАО «Ярославская»).

Кремнийхитозансодержащие глицерогидрогели в форме монолитов получали смешением водно-кислотных растворов хитозана с Si(OGly)₄ в массовом соотношении от 1:1 до 13:1 без/с добавлением NaCl. Смесевые композиции гомогенизировали и выдерживали для протекания золь-гель процесса при 4, 20 и 37°C. Гидрогелевые пластины получали дополнительным введением в гелеобразующую композицию добавок ПВС без/с добавлением Na₂B₄O₇. Из полученных глицерогидрогелевых материалов выделяли твердую фазу (ксерогели) методом исчерпывающей холодной экстракции в сочетании с криобработкой.

Методы исследования: рефрактометрия (рефрактометр Mettler Toledo RM40), потенциометрия (рН-метр Mettler Toledo Five Easy FE20), сканирующая электронная микроскопия (СЭМ, микроскоп MIRA/LMU, Tescan), механические исследования (разрывная машина Instron 3342), ротационная вискозиметрия (вискозиметр Rheotest RH-4.1, измерительная ячейка H2), динамический зондовый метод (определение потенциала поверхности, Potential Sensor, Nima KSV), атомно-силовая микроскопия (АСМ, NTMDT-SI Ltd.), оценка ранозаживляющего действия на модели ожоговой раны III Б степени у крыс.

В **третьей главе** приводятся и обсуждаются результаты экспериментов по оценке влияния компонентного состава, условий синтеза, а также изомера аскорбиновой кислоты на кинетику гелеобразования и свойства глицерогидрогелевых материалов.

На первом этапе исследования визуально-политермическим методом оценено влияние компонентного состава (концентрации Si(OGly)₄, хитозана, низкомолекулярного гелеускорителя), а также молекулярной массы полимера и условий синтеза (температуры и рН) на кинетику гелеобразования хитозансодержащей системы. Установлено, что при уменьшении соотношения $C_{ХТЗ}/C_{Si}$, введении гелеускорителя, а также увеличении молекулярной массы

хитозана происходит ускорение золь-гель процесса. Кроме того, показано, что для всех исследуемых систем на основе *D*-аскорбата хитозана при любом соотношении $C_{ХТЗ}/C_{Si}$ гелеобразование протекает дольше, чем для образцов на основе *L*-аскорбата хитозана. Повышение температуры до 37°C, а также значений pH до 5.5–6.0 снижает время золь-гель синтеза в несколько раз.

Исследование процесса гелеобразования методом динамической реологии показало, что реограммы вязкости исходного раствора хитозана имеют типичный для полимерных систем характер с наибольшей ньютоновской и началом структурной вязкости. После введения в систему $Si(OGLy)_4$ вязкость системы начинает возрастать. Кривые течения приобретают вид, характерный для псевдопластичных структурированных систем. При этом, глицерогидрогели на основе *D*-аскорбата хитозана характеризуются более прочной структурой, чем на основе *L*-АК. Кроме, того прочность получаемых гидрогелей-монолитов зависит от содержания хитозана ($C_{ХТЗ}/C_{Si}$).

С целью улучшения формоустойчивости и физико-механических свойств глицерогидрогелей в смесевую композицию дополнительно вводили структурообразующий компонент (ПВС) и получали гидрогелевые пластины. Проведен сравнительный анализ кинетики гелеобразования гидрогелей-монолитов и пластин на основе *L*-(*D*-)аскорбата хитозана. Для монолитов с увеличением содержания хитозана в системе время гелеобразования монотонно растет, а для пластин, наоборот, – снижается. Поскольку –ОН-группы макромолекул хитозана и ПВС выполняют роль шаблона для нуклеации силанола, поэтому сочетание двух этих полимеров в гелеобразующей системе приводит к увеличению количества «центров нуклеации» и ускорению процесса гелеобразования. Для всех исследуемых систем добавка NaCl или $Na_2B_4O_7$ снижает время гелеобразования.

Изучение механических свойств полученных гидрогелевых пластин при одноосном растяжении выявило, что образцы на основе *D*-аскорбата хитозана при равных условиях характеризуются бóльшей механической прочностью и

эластичностью при одноосном растяжении и меньшим значением модуля Юнга по сравнению с таковыми на основе *L*-аскорбата хитозана.

Все полученные гидрогелевые материалы характеризуются положительным потенциалом поверхности. При этом величина потенциала закономерно растет с увеличением содержания хитозана в смеси. Однако потенциал поверхности гидрогелей-монолитов и пластин на основе *L*-аскорбата характеризуется большими значениями, чем для образцов на основе *D*-аскорбата.

Методами АСМ и СЭМ изучена морфоструктура кремнийхитозансодержащих глицерогидрогелей и их твердой фазы. Микрорельеф поверхности гидрогелей-монолитов характеризуется сложным зернистым рельефом. Для образцов на основе высокомолекулярного хитозана характерно наличие на поверхности впадин различной глубины и диаметра, а для низкомолекулярного – выступов различной высоты. Изучение твердой фазы гидрогелей показало, что образцы на основе *L*-аскорбиновой кислоты характеризуются практически гладким поверхностным рельефом, а на основе *D*-аскорбиновой кислоты – "рыхлой" поверхностью. Во всех случаях масштаб шероховатости возрастает с увеличением молекулярной массы хитозана и его содержания в гидрогелевой системе.

На заключительном этапе проводили оценку ранозаживляющего действия глицерогидрогелей на основе *L*-(*D*-)аскорбата гидрохлорида хитозана на модели ожоговых ран у крыс. В контрольной группе рану животных 1 раз в сутки обрабатывали препаратом «Левомеколь-вет», животным из экспериментальных групп на раневую поверхность однократно наносили гидрогель. Средний срок заживления ожогов при разовой обработке глицерогидрогелем на основе *D*-аскорбата гидрохлорида хитозана был на 7-10 дней короче, чем в контрольной группе и при обработке гидрогелем на основе *L*-аскорбата.

Выводы

1. В работе методом золь-гель синтеза с использованием тетраглицеролата кремния и *L*-(*D*-)аскорбата хитозана получены кремнийхитозансодержащих глицерогидрогели в форме монолитов и тонкопленочных пластин.

2. Оценено влияние компонентного состава и условий синтеза на кинетику гелеобразования многокомпонентной хитозансодержащей системы визуально-политермическим. Установлено, что уменьшение $C_{ХТЗ}/C_{Si}$, введение NaCl или $Na_2B_4O_7$, повышение температуры и pH, а также увеличение молекулярной массы полимера ускоряет процесс гелеобразование.

3. Анализ морфоструктуры гидрогелей и твердой фазы показал, что микрорельеф и потенциал поверхности зависит от молекулярной массы хитозана, $C_{ХТЗ}/C_{Si}$, а также от изомера аскорбиновой кислоты. Показано, что с уменьшением содержания хитозана в образце и его молекулярной массы масштаб шероховатости поверхности уменьшается. Образцы ксерогелей на основе *D*- аскорбиновой кислоты имеют более "рыхлую" поверхность, чем на основе *L*-аскорбиновой кислоты.

4. Показано влияние хиральности аскорбата хитозана на кинетику гелеобразования и свойства кремнийхитозансодержащих глицерогидрогелей. Обнаружено, что *D*-аскорбат хитозана замедляет гелеобразование, повышает механическую прочность и эластичность при одноосном растяжении и понижает модуль Юнга глицерогидрогелевых пластин. Кроме того, для гидрогелей-монолитов на основе *D*-аскорбата характерно образование более прочной структуры.

5. Проведено исследование ранозаживляющего действия глицерогидрогелей на основе *L*-(*D*-)аскорбата хитозана на модели ожоговых ран у крыс. Показано, что глицерогидрогели на основе *D*-аскорбата хитозана обладает лучшей ранозаживляющей способностью по сравнению с гидрогелем на основе *L*-аскорбата.

Список публикаций по теме исследования

1. Shipovskaya A.B., Malinkina O.N., Zhuravleva Yu.Yu., and Rogacheva S.M.. Synthesis of silicon-containing chitosan hydrogels in a glycolic acid medium // Adv. in Mat. Sci. Eng. – 2016. – Vol. 2016. – 8 page. ArticleID 3951703.
2. Журавлева Ю.Ю., Малинкина О.Н., Шиповская А.Б. Влияние молекулярной массы темплата на время гелеобразования кремнийхитозансодержащих гидрогелей // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: Межвуз. сборник науч. трудов XI Всерос. конф. Саратов: Саратовский источник. – 2016. – С. 82-84.
3. Журавлева Ю.Ю., Малинкина О.Н., Шиповская А.Б. Синтез кремнийсодержащих гидрогелей на основе гликолята хитозана // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2016: Материалы Всерос. шк.-семинара. Саратов: Саратовский источник. – 2016. – С. 188-189.
4. Zhuravleva Yu.Yu., Malinkina O.N., Bratashov D.N., Shipovskaya A.B. Formation features and AFM studies of the silicon-chitosan-containing glycerohydrogel surface // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – 2017. – Vol. 256. – No. 1. – P. 012011.
5. Журавлева Ю.Ю., Малинкина О.Н., Браташов Д.Н., Шиповская А.Б. Оценка микрорельефа поверхности кремнийхитозансодержащих глицерогидрогелей методом атомно-силовой микроскопии // Scanning Probe Microscopy: Abstract Book of International Conference. Ekaterinburg: Ural Federal University. – 2017. – С. 187.
6. Журавлева Ю.Ю., Малинкина О.Н., Браташов Д.Н., Шиповская А.Б. Исследование микрорельефа кремнийхитозансодержащих глицерогидрогелей и их твердой фазы // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: Межвуз. сборник науч. трудов XII Всерос. конф. Саратов: Саратовский источник. – 2017. – С. 133-135.
7. Журавлева Ю.Ю., Малинкина О.Н., Шиповская А.Б. Синтез кремнийсодержащих хитозановых гидрогелей в среде гликолевой кислоты // Тез. док. VII Всерос. Каргинская конф. «Полимеры – 2017». Москва. – 2017. – С. 287.

8. Малинкина О.Н., Журавлева Ю.Ю., Шиповская А.Б., Шадрина Е.В., Хонина Т.Г. Влияние природы противоиона на кинетику гелеобразования кремнийсодержащих систем на основе солей хитозана // Тез. док. VII Всерос. Каргинская конф. «Полимеры – 2017». Москва. – 2017. – С. 636.

9. Журавлева Ю.Ю., Малинкина О.Н., Шиповская А.Б. Получение глицерогидрогелей с использованием водно-кислотных растворов хитозана // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2017: Материалы Всерос. шк.-семинара. Саратов: Саратовский источник. – 2017. – С. 141-144.

10. Журавлева Ю.Ю., Малинкина О.Н., Шиповская А.Б. Синтез и свойства кремнийсодержащих хитозановых глицерогидрогелей // Теоретические и экспериментальные исследования процессов синтеза, модификации и переработки полимеров: Сборник тез. док. V Всерос. науч. конф. Уфа: РИЦ БашГУ. – 2017. – С.18-19.

11. Gegel N.O., Zhuravleva Yu.Yu., Shipovskaya A.B. et al. Kinetics and Properties of Silicon-Chitosan-Containing Glycerohydrogels // Polymers. – 2018. – Vol. 10. – No 3. – P. 259. Doi:10.3390/polym10030259.

12. Журавлева Ю.Ю., Малинкина О.Н., Гегель Н.О., Голядкина А.А., Шиповская А.Б. Физико-механические свойства кремнийхитозансодержащих глицерогидрогелевых пластин на основе L- и D-аскорбата хитозана // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. – Т. 18. – Вып. 1. – С.34 –48.

13. Zhuravleva Yu.Yu., Malinkina O.N., Shipovskaya A.B. Investigation of the surface morphology of biocompatible chitosan-based hydrogels and xerogels // Saratov Fall Meeting 2017: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XIX. International Society for Optics and Photonics, 2018. – Vol. 10716. – P. 107161Y.

14. Журавлева Ю.Ю., Малинкина О.Н., Шиповская А.Б., Хонина Т.Г. Гидрогелевый материал на основе соли хитозансодержащего вещества и способ его получения (варианты). Заявка на изобретение РФ № 2018104349 от 06.02.2018.