

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра полимеров на базе ООО «АКРИПОЛЬ»

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РАСТВОРОВ,
ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЕЙ И КРИОГЕЛЕЙ ХИТОЗАНА**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки IV курса 412 группы

направления 04.03.01 – «Химия»

Института химии

Журавель Анны Сергеевны

Научный руководитель
д.х.н., профессор

подпись, дата

А.Б. Шиповская

Зав.кафедрой
д.х.н., профессор

подпись, дата

А.Б. Шиповская

Саратов 2020

Введение

Актуальность работы. В настоящее время активно развиваются способы получения полимерных материалов, перспективных к применению в тканевой инженерии и регенеративной медицине. При их создании используют биологически активные полимеры, обладающие свойствами не токсичности, биосовместимости с тканями живого организма, биорезорбируемости. Одним из таких полимеров является аминополисахарид хитозан, состоящий из D-глюкозаминных и N-ацетил-D-глюкозаминных звеньев, соединенных β -(1-4)-гликозидной связью. На основе хитозана разработаны технологии получения самых различных лекарственных форм с пролонгированным действием в виде таблеток, пленок, микрокапсул и микросфер. Он может служить материалом для создания гидрогелевых материалов, стимулирующих собственный регенераторный потенциал живых тканей, что, например, необходимо для формирования функционально полноценного суставного хряща. Хитозан совместим с некоторыми неорганическими полимерами, формируя пористые композиты с удовлетворяющими физико-химическими, механическими и биологическими свойствами.

Однако для хитозана, как и для многих биополимеров, температура плавления лежит ниже температуры разложения, поэтому его переработка всегда включает стадию растворения в органических или неорганических кислотах. На сегодняшний день достаточно хорошо изучены физико-химические свойства растворов хитозана в уксусной и соляной кислотах [1]. Применение же фармакопейных органических кислот, например, гликолевой (ОФС 42-0070-07 [79-14-1]), аминакапроновой (ФС.2.1.0001.15) позволит не только расширить ассортимент изделий медико-биологического на основе хитозана, но и получить совершенно новые продукты с улучшенными свойствами.

Целью работы является получение и изучение физико-химических свойств растворов, глицерогидрогелей и криогелей хитозана в гликолевой и аминакапроновой кислоте.

Для достижения поставленной цели решали следующие **задачи**:

- определить гидродинамические и реологические параметры растворов хитозана в ГК без и с добавкой аминокaproновой кислоты (АМК);
- разработать способ получения глицерогидрогелей на основе растворов гликолята хитозана различной концентрации
- разработать способ получения криогелей на основе гликолята хитозана и поливинилового спирта
- оценить морфологию поверхности глицерогидрогелей и криогелей на основе хитозана;
- изучить физико-механические свойства полученных образцов;
- исследовать гемосовместимость наиболее перспективных образцов глицерогидрогелей хитозана.

Научная новизна. В работе впервые:

- изучены влияние добавки аминокaproновой кислоты на гидродинамические и реологические свойства растворов хитозана в гликолевой кислоте; установлено, что добавка аминокaproновой кислоты не влияет на концентрацию формирования флуктуационной сетки зацеплений;
- разработан оптимальный состав для получения глицерогидрогелей и криогелей на основе растворов гликолята хитозана и поливинилового спирта без и с добавкой аминокaproновой кислоты;
- установлено, что добавка аминокaproновой кислоты приводит к формированию более рыхлой структуры глицерогидрогелей. При этом наблюдается система взаимопроникающих пор;
- определено значение предельного напряжения для кремнийсодержащего глицерогидрогеля хитозана с и без добавкой поливинилового спирта составило 4.5 кПа и 4.9 кПа соответственно;
- в модельном эксперименте *in vitro* изучена гемосовместимость кремнийсодержащих глицерогидрогелей на основе хитозана.

Практическая значимость работы.

Полученные в ходе работы физико-химические экспериментальные данные (рН, электропроводность, вязкость) носят справочный характер и представляют интерес для решения практических задач, в частности, при выборе концентрации хитозана в растворе водном растворе гликолевой кислоты без и с добавкой аминокaproновой кислоты.

Полученные глицерогидрогелей и криогелей на основе растворов гликолята хитозана и поливинилового спирта без и с добавкой аминокaproновой кислоты представляют интерес в качестве полимерного композита медико-биологического назначения.

Объем и структура бакалаврской работы. Работа состоит из введения, 5 глав (1 глава – обзор литературы, 2 глава – объекты и методы исследования, 3 глава – физико-химические свойства разбавленных и умеренно-концентрированных растворов хитозана, 4 – получение и физико-химические свойства глицерогидрогелей на основе хитозана и поливинилового спирта, 5 – получение и физико-химические свойства криогелей на основе хитозана), заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 45 стр., включает 15 рисунков и 3 таблицы, список литературы из 34 источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Проведенный литературный обзор показал, что на основе хитозана получают широкий спектр материалов медицинского назначения. Широкое применение в биотехнологии и медицине получили гидрогели и криогели хитозана в качестве различных лекарственных форм.

В работе использовали хитозан со средневязкостной молекулярной массой 200 кДа, степенью деацетилирования 80 мольн.% производства ЗАО «Биопрогресс» (РФ); поливиниловый спирт (ПВС) со среднечисловой молекулярной массой 1000 кДа, степенью гидролиза 99% производства «Sigma-Aldrich» (США). Для растворения хитозана применяли 1.5 % водный раствор гликолевой кислоты (ГК) производства «Sigma-Aldrich» (США). В качестве модифицирующей добавки использовали водные растворы ϵ -аминокaproновой кислоты (АМК) концентрации 1–7.4% производства

«Вектон» (РФ) и глицеролат кремния (Гл Si) в 3-х мольном избытке глицерина ($\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 3\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$), произведенный Институтом органического синтеза им. И.Я.Постовского УрО РАН. Для варьирования ионной силы среды к растворам добавляли 0.29 моль/л и 0.34 моль/л NaCl х.ч. производства ЗАО «База №1 Химреактивов» (РФ). Получение кремнийсодержащих глицерогидрогелей основано на золь-гель синтезе [2]. Систему готовили путем смешения растворов хитозана и Гл Si без и с добавкой ПВС. Далее полученную систему оставляли при 25°C для перехода в гель-состояние. Криогидрогели на основе растворов гликолята хитозана и ПВС были получены криоструктурированием. Систему готовили путем смешения раствора гликолята хитозана и ПВС. Смесевый раствор заливали в силиконовую форму со сложным рельефом и выдерживали при -20°C в течение суток. Затем оставляли систему для медленного оттаивания при 4°C в течение 24 часов.

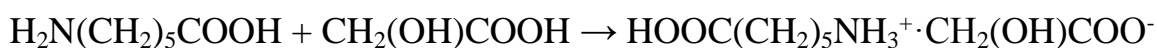
Методы исследования: гравиметрия (аналитические весы «Ohaus Discovery»), водородный показатель (автоматический титратор Mettler Toledo), капиллярная и ротационная вискозиметрия (вискозиметр Оствальда с диаметром капилляра 0.56 мм и ротационный вискозиметр Rheotest RN-4.1), физико-механический анализ (консистометр Хепплера), сканирующая электронная микроскопия (микроскоп MIRA\\LMU, напряжение 15 кV, проводящий ток 400 pA.), кондуктометрия (кондуктометр переменного тока «Анион 4120»).

Влияние добавки аминокaproновой кислоты на pH среды

Хитозан растворяется в ГК с образованием соли гликолята хитозана. Растворение хитозана в ГК протекает по донорно-акцепторному механизму с образованием поликатиона $\sim\text{-NH}_3^+$ вследствие миграции протонов диссоциированных молекул кислоты к аминогруппам макромолекул полимера. Полноту растворения хитозана определяют по pH среды. Известно, что хитозан растворим в средах с pH ниже 5.5-6.0. В водно-кислотном растворе гликолята хитозана значение pH повышается с увеличением концентрации полимера в системе. Данное повышение характеризуется тем, что при

растворении хитозана изменяется мольное соотношение индивидуальных компонентов.

Изучено влияние добавок АмК на рН растворов гликолята хитозана. Из полученных экспериментальных данных понятно, что добавка АмК в раствор гликолята хитозана способствует повышению значения рН. Для умеренно-концентрированных растворов хитозана с добавкой АмК $C=7.4\%$ значение рН превышает 4. Данное явление объясняется тем, что АмК проявляет в кислой среде ГК средней силы ($pK_a=3.83$) свои основные свойства, образуя при этом комплекс, который способствует повышению значения рН:



Хитозан при этом остается в растворимой протонированной форме.

Электропроводность растворов хитозана в гликолевой кислоте без и с добавкой аминокaproновой кислоты

Исследована удельная электропроводность водных растворов кислот ГК+АмК и хитозана в ГК+АмК. Значение электропроводности смеси кислот значительно выше по сравнению с индивидуальной электропроводностью компонентов. При этом электропроводность хитозансодержащей системы превышает электропроводность смеси кислот (ГК+АмК). Это еще раз доказывает, что несмотря на сильное повышение рН среды, хитозан в смеси кислот остается в растворимой форме $\sim\text{-NH}_3^+$.

Гидродинамические и реологические свойства растворов хитозана.

Согласно современным представлениям, вязкостные свойства раствора хитозана непосредственно влияют на морфологические и физико-механические свойства полученного материала. При исследовании гидродинамического поведения макромолекул хитозана в ГК установлено проявление полиэлектролитных свойств с частично компенсированным зарядом. Повышение ионной силы среды, по средством добавления низкомолекулярной соли NaCl в раствор гликолята хитозана приводит к подавлению полиэлектролитных свойств системы и компактизации (поджатию) макромолекулярных клубков вплоть до перехода к иономерному состоянию. Аналогичное поведение наблюдается и в случае добавки АмК в

раствор гликолята хитозана. Близкие значения предельного числа вязкости в кислотнo-солевой и бикомпонентной кислотной среде свидетельствуют о реализации практически одинаковых по размеру макромолекулярных клубков полисоли хитозана.

Изучение реологических свойства растворов хитозана в ГК без и с добавкой АмК показано, что вязкость разбавленных растворов практически не зависит от напряжения сдвига. На реограммах умеренно-концентрированных растворов проявляется область структурной вязкости. Добавка АмК незначительно понижает вязкость растворов хитозана, при этом характер реограмм остается неизменным. Из концентрационной зависимости наибольшей ньютоновской вязкости определена концентрация начала формирования флуктуационной сетки зацеплений, которое оказалась равной 2 г/дл.

Получение и свойства глицерогидрогелей хитозана

На основе полученных экспериментальных данных для получения глицерогидрогели выбраны умеренно-концентрированные растворы хитозана с добавкой Амк. Способ получения основан на золь-гель синтезе [3]. Систему готовили путем смешения растворов хитозана и Гл Si без и с добавкой ПВС в разных массовых соотношениях. Далее полученную систему оставляли при 25°С для перехода в гель-состояние.

Полученные глицерогидрогели довольно хорошо держат форму и вполне четко отображают структуру силиконовой формы. На ощупь они мягкие и гладкие. При незначительной нагрузке, не более 100 г, способны снова возвращаться в исходное положение.

Изучены физико-химические свойства систем кремнийсодержащих глицерогидрогелей хитозана с добавкой ПВС. Установлено, что с повышением в растворе гликолята хитозана концентрации добавки Амк значение рН глицерогелей повышается. Время гелеобразования уменьшается с повышением рН среды и содержанием Гл Si в системе. Поэтому для дальнейших исследований выбрана система с содержанием 7 % Амк и наименьшим временем гелеобразования.

Морфоструктура кремнийсодержащих глицерогидрогелей, содержащих ПВС, неоднородная со светлыми и темными участками. Установлено, что добавка аминокaproновой кислоты приводит к формированию более рыхлой структуры глицерогидрогелей. При этом наблюдается система взаимопроникающих пор.

Определение физико-механических свойств кремнийсодержащих глицерогидрогелей на основе хитозана без и с добавкой ПВС проводили в условиях одноосного сжатия на консистомере Хепплера. При небольших нагрузках наблюдается развитие деформации образцов с постоянной скоростью. При нагрузках свыше 150 г. скорость развития деформации существенно увеличивается. Значение предельного напряжения ($m_{пр}$) для кремнийсодержащего глицерогидрогеля хитозана с и без добавки ПВС составило 4.5 кПа и 4.9 кПа соответственно. Из полученных данных можно сделать вывод о том, что добавка ПВС незначительно снижает прочность образцов.

Гемосовместимость кремний содержащих глицерогидрогелей ХТЗ изучали на модели эритроцитов, полученных из крови здоровых доноров, по методике, описанной в [4]. Установлено, что исследуемые образцы обладают высокой гемосовместимостью, так как степень гемолиза эритроцитов в их присутствии практически не отличается от таковой в физиологическом растворе (ФР). Проведенные исследования подтверждают целесообразность дальнейшего изучения физико-химических и медико-биологических свойств кремний содержащих глицерогидрогелей на основе хитозана в качестве перспективной основы для создания гемосовместимых лекарственных форм.

Получение и физико-химические свойства криогелей на основе хитозана

Полученные криогели на основе растворов хитозана и ПВС сохраняют и полностью повторяют сложный рельеф силиконовой формы. Визуально имеют плотную белую структуру и после механического воздействия (~ 11 кг) возвращаются в исходную форму.

Исследование морфоструктуры криогидрогелей на основе хитозана и ПВС показало, что образцы имеют плотную рифлёную структуру. Ожидалось, что морфоструктура криогидрогелей на основе хитозана и ПВС, будет пористой

аналогично морфоструктуре криогидрогеля ПВС [5]. Однако, каких либо пор не обнаружено. Возможно, это связано с одним циклом заморозки, так как криогели ПВС, не содержащих хитозан, получены с многократными циклами заморозки. Поэтому для получения пористой структуры необходимо ввести дополнительные циклы заморозки.

Заключение

1. Изучено влияние добавки аминокaproновой кислоты на физико-химические свойства растворов хитозана в гликолевой кислоте. Установлено, что добавка аминокaproновой кислоты в водный раствор гликолята хитозана способствует увеличению рН и удельной электропроводности системы.
2. Исследованы гидродинамические и реологические свойства растворов гликолята хитозана без и с добавкой аминокaproновой кислоты. Установлено влияние ионной силы среды, задаваемой введением NaCl и аминокaproновой кислоты, на гидродинамический объем макроцепей и проявление ими полиэлектролитных свойств. Определен размер полииона с практически полностью скомпенсированным зарядом, который составил 3.8 дл/г. Проанализированы реограммы сдвиговой вязкости. Определена концентрация флуктуационной сетки зацеплений, которая составила 2 г/дл.
3. Получены кремнийсодержащие глицерогидрогели на основе растворов гликолята хитозана и тетраглицеролата кремния. Методом сканирующей электронной микроскопии) показано, что поверхность глицерогидрогелей характеризуется сложным поверхностным рельефом. Определено, что добавка поливинилового спирта незначительно снижает прочность глицерогидрогелевой сетки.
4. Получены криогидрогели на основе растворов хитозана и поливинилового спирта. Установлено, что морфоструктура криогелей плотная и рифленая.
5. В исследовании *in vitro* доказана гемосовместимость кремнийсодержащих глицерогидрогелей на основе гликолята хитозана.

Список литературы

1. Gegel N.O. Influence of chitosan ascorbate chirality on the gelation kinetics and properties of silicon-chitosan-containing glycerohydrogels / N.O. Gegel, Yu.Yu. Zhuravleva., A.B. Shipovskaya., O.N. Malinkina., I.V. Zudina // *Polymers*. –2018. – Т.10. – №.3. – С.259-275.
2. Лозинский В.И. Криотропное гелеобразование растворов поливинилового спирта / В.И. Лозинский // *Успехи химии*. –1998. – Т.67. – №.7. – С.641-655.
3. Новоселова М.Е. Гибридные кремнийсодержащие полимерные гидрогели для разработки лекарственных средств топического применения / М.Е. Новоселова, М.В. Иваненко, Е.В. Шадрина, Т.Г. Хонина // *Издательство Уральского университета*. –2018. – №.28. – С.379-379.
4. Бабичева Т.С. Оценка гемосовместимости микротрубок хитозана / Т.С. Бабичева, Н.О. Гегель., И.В. Зудина., А.Б. Шиповская // *Межвузовый сборник научных трудов XI Всероссийской конференции молодых ученых Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии*. – 2016. – С.49-51
5. Holloway J.L. The Role of crystallization and phase separation in the formation of physically crosslinked PVA hydrogels / J.L. Holloway, A.M. Lowman, G.R. Palmese // *Soft Matter*. –2013. – Vol.9. – No.3. – P.826-833.

Список публикаций по теме исследований

1. Журавель А.С. Реологические свойства растворов хитозана в гликолевой кислоте без и с добавкой аминокaproновой кислоты / А.С. Журавель, Т.С. Бабичева, А.Б. Шиповская // *Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: Межвуз. сб. науч. трудов XII Всероссийск. конф. молодых ученых*. Саратов: Изд-во «Саратовский источник». –2018. – С.115-117.
2. Журавель А.С. Вязкостные свойства растворов гликолята хитозана без и с добавкой аминокaproновой кислоты, NaCl / А.С. Журавель, Т.С. Бабичева, А.Б. Шиповская // *Тез.докл. VI Всероссийск. науч. конф. «Теоретические и экспериментальные исследования процессов синтеза, модификации и переработки полимеров»*. Уфа. РИЦ БашГУ. –2018. – С.73-75.

