

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»

**ПОЛУЧЕНИЕ СЛОИСТО-ОРИЕНТИРОВАННЫХ ГЕЛЬ-ПЛЁНОК
ХИТОЗАНА**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 4 курса 412 группы
направления 04.03.01 – «Химия»
Института химии

Курочкиной Валентины Андреевны

Научный руководитель

доцент, к.х.н.

С.Л. Шмаков

подпись, дата

Зав. кафедрой

д.х.н., профессор

А.Б. Шиповская

подпись, дата

Саратов 2022

Введение

Актуальность работы. В последнее время возрастает интерес к самоорганизованным многослойным структурам на основе хитозана [1–3]. Подобные материалы моделируют слоистую структуру биологической ткани, в результате чего могут использоваться в регенеративной медицине в качестве биodeградируемого конструкта при лечении повреждений кожного покрова. Слоистая структура также обеспечивает замедленное высвобождение адсорбата, что делает такие материалы перспективными для создания систем с адресной доставкой биологически активных веществ и лекарств. Ранее в нашей научной группе были получены межфазной реакцией нейтрализации соль→основание хитозана «гель-плёнки» с самоорганизованной многослойной структурой [3]. Показано, что механизм формирования самоорганизованной слоистой структуры подчиняется эмпирическим закономерностям явления Лизеганга. Обращает внимание то, что подобные структуры формируются по закономерностям, имеющие схожие черты с механизмами образования доброкачественных и злокачественных новообразований и остеонов соединительной ткани [4, 5]. Это может открыть новые подходы в теоретическом понимании этих физиологических процессов

Однако ранее [3] использовали гидроксид натрия что, во-первых, может повлечь сложности при разработке и внедрении изделий медицинского назначения. Во-вторых, бóльшую информативность с теоретической точки зрения даст использование сложной органической молекулы в качестве нейтрализующего реагента. Например, триэтаноламин (ТЭА), официально разрешённый к использованию в фармацевтике (ОФС.1.3.0001.15 [102-71-6]). Стоит отметить, что для получения изделий медицинского назначения целесообразно применение фармакопейных карбоновых кислот.

Цель работы – Целью настоящей работы является исследование влияние природы кислоты-растворителя и нейтрализующего реагента на процесс формирования и физико-химические свойства «гель-плёнок»,

получаемых в результате протекания межфазной реакции полимераналогичного превращения водорастворимой соли в водонерастворимое основание хитозана.

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

- изучить физико-химические свойства растворов хитозана в ряду фармакопейных гидроксикислот алифатического ряда: гликолевая, молочная, яблочная, винная;
- провести сравнительный анализ реологических свойств растворов лактата и гликолята хитозана;
- оценить влияние природы кислоты на общие закономерности эволюции морфоструктуры «гель-плёнок» гликолята и лактата хитозана с использованием ТЭА в качестве нейтрализующего реагента;
- оценить средний коэффициент диффузии молекул ТЭА в процессе пространственно-временной реакции полимераналогичного превращения (соль→основание) хитозана.

Объём и структура бакалаврской работы. Работа состоит из введения, цели и задачи работы, 3 глав (1 глава – обзор литературы, 2 глава – экспериментальная часть, 3 глава – результаты и их обсуждение), заключения, техники безопасности, списка литературы.

Работа изложена на 43 стр., включает 10 рисунков и 2 таблицы, список литературы из 46 источников.

Основное содержание работы.

Проведенный литературный обзор показал, что одним из способов получения материалов с многослойной структурой на основе хитозана является метод «слой-за-слоем» (layer-by-layer) [6]. Однако недостатком данного метода является необходимость организации трудоемкого и многостадийного процесса. Создание упорядоченных многослойных структур на основе самоорганизации свободно от недостатка метода «слой-за-слоем» [1-3].

Известно, что хитозан хорошо растворим в одноосновных органических кислотах [7, 8]. В случае использования двухосновных карбоновых кислот характер растворения полимера сложнее, вследствие образования большего числа водородных связей. В литературе имеются скудные данные по растворению хитозана в винной и яблочной кислотах [9].

В работе [1] было доказано, что для получения хитозансодержащих многослойных структур необходимо использование концентрированных растворов хитозана, в области, превышающей концентрацию образования флуктуационной сетки зацепления макромолекул.

В работе использовали высокомолекулярный хитозан производства ЗАО «Биопрогресс» (РФ). Для растворения применяли 1.5% водный раствор гликолевой кислоты, 1.5% водный раствор молочной кислоты, 2.7-12.9% водный раствор яблочной кислоты и 3-10.8% водный раствор винной кислоты. Реакцию нейтрализации проводили 50% водным раствором триэтаноламина (ТЭА) производства ЗАО «База №1 Химреактивов» (РФ). «Гель-пленки» получали двумя способами по авторской методике [3]:

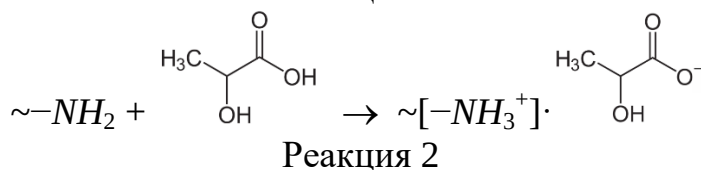
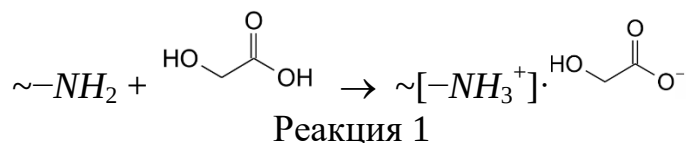
- По-первому способу в чашке Петри в центр поверхности вязкого раствора гликолята или лактата хитозана автоматической пипеткой наносили раствор ТЭА.

- По-второму чашку Петри разделяли полиэтиленовой перегородкой на два равных отсека, в один из которых помещали раствор гликолята или лактата хитозана, в другой – такой же объем раствора ТЭА.

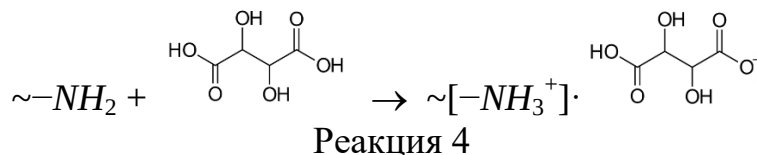
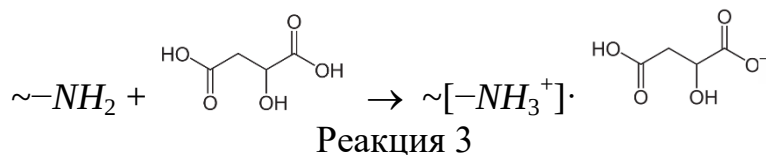
Методы исследования: определение водородного показателя на рН-150МИ, спектрополяриметрия (спектрополяриметр PolAAr 3001 фирмы Optical Activity Ltd (GB рефрактометрия (рефрактометр Mettler Tolloedo RM-40), вискозиметрия (ротационный вискозиметр Rheotest RN-4.1 (Германия) с рабочим узлом «цилиндр-цилиндр» (внутренний цилиндр H1)), сканирующая электронная микроскопия (микроскоп MIRA\\LMU, напряжение 15 кV, проводящий ток 400 pA.).

Физико-химические свойства растворов хитозана в гидроксикислотах алифатического ряда

Известно, что растворение хитозана в гидроксикислотах: гликолевой (реакция 1), молочной (реакция 2), яблочной (реакция 3) и винной (реакция 4), протекает по донорно-акцепторному механизму вследствие миграции протонов диссоциированных молекул кислоты к аминогруппам макромолекул полимера с образованием поликатиона [$\sim\text{NH}_3^+$].



Стоит отметить, что выбранные двухосновные кислоты – кислоты средней силы, поэтому реакция протонирования хитозана идёт только по первой ступени.



Так как для получения многослойных материалов с упорядоченной структурой необходимы концентрированные растворы полимера, на первом этапе было проведено исследование растворимости хитозана в двухосновных гидроксикислотах. Образование концентрированных растворов аминополисахарида в яблочной кислоте наблюдалось при концентрации кислоты-растворителя 9.7 мас.%. В винной – 9 мас.%. Максимально достижимая концентрация хитозана составила 3.5 мас.% в двух системах.

При добавлении хитозана в систему рН растворов в ряду гидроксикислот повышается. При равной массовой концентрации рН в гликолевой кислоте ниже, чем в молочной, что, может быть, связано с разной степенью протонирования хитозана в водно-кислой среде [10]. рН гомогенных растворов хитозана в двухосновных кислотах значимо ниже, чем

нужно для 50%-ной протонизации его аминогрупп. Поэтому для растворения аминополисахарида необходимо использовать избыток кислоты.

Методом дисперсии оптического вращения исследована оптическая активность растворов хитозана в ряду гидроксикислот. Кривые ДОВ тартрата хитозана лежат в положительной области и характеризуются наибольшим значением удельного угла вращения, на значения которого существенно влияет концентрация кислоты. Для растворов хитозана в гликолевой, молочной, яблочной средах наблюдаются классические закономерности характерные для растворов хитозана и кривые ДОВ лежат в отрицательной области.

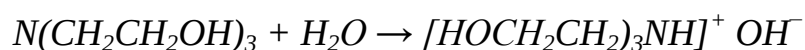
Для получения концентрированных растворов хитозана в двухосновных кислотах необходимо создать избыток кислоты, что существенно осложнит исследование реакции нейтрализации. Поэтому для получения «гель-пленок» и исследования однонаправленной диффузии ТЭА использовали только одноосновные кислоты.

Изучение реологических свойств лактата хитозана

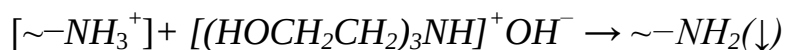
Методом ротационной вискозиметрии исследовали вязкостные свойства растворов хитозана в 1.5% молочной кислоты. Установлено, что в зависимости от концентрации растворы хитозана проявляют свойства ньютоновской или структурированной жидкости, либо показывают течение псевдопластических систем. Для нахождения критической концентрации образования флуктуационной сетки зацеплений были построены концентрационные зависимости наибольшей ньютоновской вязкости растворов хитозана. Критическая концентрация, начиная с которой формируется физическая сетка зацеплений, для лактата хитозана равна $C^* \sim 1.3$ мас. %, которая несколько ниже, чем для гликолята [7] (при равных массовых концентрациях кислот). Для получения многослойных периодически структурируемых материалов использовали лактат хитозана с минимальной концентрацией 1.5 мас. %.

Оценка морфоструктуры «гель-плёнок» хитозана в зависимости от природы кислоты-растворителя

На следующем этапе была изучена межфазная реакция полимераналогичного превращения соль→основание хитозана. Водный раствор триэтаноламина проявляет слабые основные свойства (реакция 5). В щелочной среде ТЭА происходит депротонирование поликатиона (реакция 6), солевые группы хитозана превращаются в аминные с образованием не растворимого в воде основания ($\sim\text{NH}_2\downarrow$).



Реакция 5



Реакция 6

Вследствие заторможенной диффузии молекул ТЭА формируется ««гель-плёнка»» с пространственно-разделёнными радиальными кольцами. Методом СЭМ изучили морфоструктуру предварительно высушенных «гель-плёнок» из растворов гликолята и лактата хитозана. При использовании гликолевой кислоты в радиально-периодических структурах наблюдаются три зоны. Первичный интерфейс «гель-плёнки» представлен надмолекулярными образованиями. Промежуточный интерфейс состоит из массива микроколец, ширина которых варьируется в диапазоне 0.5–25 мкм. Ближе к краю происходит уплотнение полимерного слоя и увеличение числа колец.

«Гель-плёнка», полученная из раствора лактата хитозана, имеет слоисто-однородную уплотнённую структуру, состоящую из множества волноподобных образований с шириной 1.7–2.4 мкм. Установлено, что природа кислоты и нейтрализующего реагента оказывает сильное влияние на структуру многослойных материалов.

Пространственно-временные характеристики массопереноса

Для изучения физико-химических свойств и пространственно-временных характеристик массопереноса ТЭА реакцию

полимераналогичного превращения соль→основание хитозана проводили по второму способу, при котором в «гель-плёнке» хитозана формируются тангенциальные периодические полосы.

Для межфазной реакции нейтрализации соль→основание хитозана при использовании ТЭА характерен псевдвторой порядок реакции. Природа кислоты практически не оказывает влияние на константу скорости реакции, которая при использовании гликолята и лактата хитозана соответственно равна $k = 0.8 \cdot 10^{-5}$ л/(моль·мин) и $k = 1 \cdot 10^{-5}$ л/(моль·мин).

Для подтверждения, что образование пространственно-разделённых тангенциальных полос в структуре «гель-плёнки» хитозана имеет общие черты с явлением Лизеганга, была проанализирована пространственно-временная эволюция твёрдой фазы в процессе реакции. Получена прямолинейная зависимость $X_n \sim \sqrt{t_n}$, а отношение положений соседних периодических полос приближается к постоянному значению $X_{n+1}/X_n \approx 1.5$ для двух кислот-растворителей соответственно. Следовательно, исследуемый процесс также подчиняется классическим закономерностям, характерным для явления Лизеганга.

Установлено, что скорость образования каждой последующей тангенциальной полосы снижается с увеличением её порядкового номера. Также происходит увеличение высоты полимерного слоя «гель-плёнки» в процессе химического взаимодействия.

Для оценки коэффициента диффузии (D) молекул ТЭА в образующейся «гель-плёнке» хитозана строили график в координатах $\ln C - \int_0^t \frac{dt}{l(t)}$. Ранее авторами [3] при оценке значений коэффициента диффузии гидроксид-ионов экспериментальные точки в соответствующих координатах ложились на одну прямую. В нашем случае с ТЭА точки ложатся на два отрезка с разным наклоном. Это можно объяснить тем, что в многослойных структурах происходит чередование участков с более и менее высокой плотностью материала. В результате коэффициент диффузии должен циклически меняться, но так как точки всё-таки ложатся на одну прямую, то усреднение

D по слою корректно. Таким образом, коэффициент диффузии можно оценивать по угловому коэффициенту прямой.

При анализе данных можно наблюдать следующие тенденции: происходит повышение коэффициента диффузии с увеличением концентрации хитозана в растворе и его уменьшение при переходе от первого участка ко второму. Данная закономерность прослеживается как для системы, где в качестве кислоты-растворителя полимера применяется гликолевая кислота, так и для системы с молочной кислотой.

Заключение

1. Исследована растворимость хитозана в фармакопейных гидроксикислотах. Исследовано влияние природы кислоты на рН растворов и оптическую активность хитозана в этих системах.

3. Снята реограмма вязкости растворов лактата хитозана и найдена область концентраций образования флуктуационной сетки зацепления, которая составила $C_{ХТЗ} \sim 1.3 \text{ мас.}\%$.

4. Изучена морфоструктура «гель–пленок», полученных из растворов гликолята и лактата хитозана. Установлено влияние природы кислоты и нейтрализующего реагента на поверхностную структуру пленок.

5. Показано, что для реакции полимераналогичного превращения соль→основание хитозана характерен псевдвторой порядок реакции. Природа кислоты практически не влияет на константу скорости реакции, которая при использовании гликолята и лактата хитозана соответственно равна $k=0.8 \cdot 10^{-5} \text{ л/моль} \cdot \text{мин}$ и $k=1 \cdot 10^{-5} \text{ л/моль} \cdot \text{мин}$.

6. Доказано, что исследуемый процесс подчиняется классическим закономерностям ионно-обменных реакций, а кинетика образования и соотношение положений периодических структур описываются характерными для явления Лизеганга закономерностями.

7. Оценен средний коэффициент диффузии ТЭА в объёме плоского слоя в периодических образованиях: при использовании гликолята хитозана $1.5 \cdot 10^{-8} - 1.7 \cdot 10^{-9} \text{ м}^2/\text{с}$ (начальный этап химической реакции), $3.3 \cdot 10^{-9} - 5.4 \cdot 10^{-10} \text{ м}^2/\text{с}$

(заклучительный этап реакции); при использовании лактата хитозана $1.5 \cdot 10^{-9}$ м²/с (начальный этап химической реакции), $5.7 \cdot 10^{-10}$ м²/с (заклучительный этап реакции).

Список литературы

1. Nie J. Orientation in multi-layer chitosan hydrogel: morphology. mechanism. and design principle / J. Nie, W. Lu., J. Ma., L. Yang., Z. Wang., A. Qin., Q. Hu // Scientific reports. – 2015. – Vol. 5. – P.7635.
2. Li B. Formation of concentric multilayers in a chitosan hydrogel inspired by Liesegang ring phenomena / B. Li, Y. Gao., Y. Feng., B. Ma., R. Zhu., Y. Zhou // Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition. –2011. – Vol. 22. – No 17. – P.2295-2304.
3. Babicheva T.S. Formation of Liesegang Structures under the Conditions of the Spatiotemporal Reaction of Polymer-Analogous Transformation (Salt→ Base) of Chitosan / T.S. Babicheva, A.A. Konduktorova, S.L. Shmakov, A.B. Shipovskaya // The Journal of Physical Chemistry B.– 2020. –Vol. 124. – No 41. – P. 9255–9266.
4. Giraud-Guille M.M. Organic and mineral networks in carapaces, bones and biomimetic materials / M.M. Giraud-Guille, E. Belamie, G. Mosser // Comptes Rendus Palevol. – 2004. – P. 503–513.
5. Jain D. Liesegang rings in an Endometrioid adenocarcinoma of ovary / D. Jain, G.Tikku, V. Kumar Jaggi // International Journal of Surgical Pathology. – 2017. – Vol 25. – No 4. – P. 323–325.
6. B. Hu, Y. Guo, H. Li, X. Liu, Y. Fu, F. Ding, Recent Advances in Chitosan-based Layer-by-layer Biomaterials and Their Biomedical Applications 271, 2021
7. Бабичева Т.С. Вязкостные свойства растворов хитозана в гликолевой кислоте / Т.С. Бабичева, А.Б. Шиповская // Изв. Саратовского университета. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. –2020. – Т.20. – вып.2. – С.170-176.
8. Галеева, А. И. Реологические свойства лиотропных жидкокристаллических систем хитозан - молочная кислота / А. И. Галеева, Н. М. Селиванова, Ю. Г. Галяметдинов // Жидкие кристаллы и их практическое использование. – 2021. – Т. 21. – № 1. – С. 23-33.
9. Петрова Е.А. Разработка добавки на основе хитозана для применения в технологии вареных колбас: Автореф. дис. канд. техн. наук. – Москва, 2013. – 25 с.
10. Кузина Л.Г. Влияние степени протонирования хитозана на некоторые его свойства / Л.Г. Кузина, А.С. Мурзагильдина, В.В. Чернова, Е.И. Кулиш // Вестник башкирского университета. –2012. –Т.17. – №2. – С.902-905.

Список публикаций по теме исследований

- Konduktorova A.A., Kurochkina V.A., Babicheva T.S., Shmakov S.L., Shipovskaya A.B. Studying of the supramolecularly ordered layered structure of chitosan gel films // J. Phys.: Conf. Ser. 2021 Vol. 2086 No. 1
- Бабичева Т.С., Курочкина В.С., Шиповская А.Б. Реологические свойства растворов хитозана в гликолевой и молочной кислоте // Сб. XXX симпозиума по реологии 2021 С.36
- Курочкина В. А. Хакимова А.А., Шмаков, С. Л. Реологические свойства раствора хитозана в молочной кислоте // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: Межвузовский сборник научных трудов XV Всероссийской

конференции молодых ученых с международным участием. Саратов: Издательство "Саратовский источник", 2021. – С. 198-199.

- Курочкина В.А., Кондукторова А.А., Бабичева Т.С., Шмаков С.Л., Шиповская А.Б. Исследование процесса формирования самоорганизованных многослойных структур хитозана в условиях депротонирования поликатиона с использованием органического и неорганического нейтрализующего агента // Сб. Материалов Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2021» Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2021. 2000 экз.