

На правах рукописи



СИЛИНА Надежда Евгеньевна

**СИНТЕЗ БЛОК-СОПОЛИМЕРОВ ХИТОЗАНА И D,L-ЛАКТИДА ПОД
ДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАЗВУКА. КОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И
ПОЛИ(D,L-ЛАКТИДА). СТРУКТУРА И СВОЙСТВА**

02.00.06 – высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Нижний Новгород - 2020

Работа выполнена на кафедре высокомолекулярных соединений и коллоидной химии химического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (ННГУ).

Научный руководитель:

Смирнова Лариса Александровна

доктор химических наук,
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского», профессор кафедры
«Высокомолекулярные соединения и коллоидная
химия»

Официальные оппоненты:

Липатова Ирина Михайловна,

доктор химических наук, профессор,
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт химии растворов
им. Г.А. Крестова Российской академии наук,
главный научный сотрудник лаборатории химии
и технологии модифицированных волокнистых
материалов

Казанцев Олег Анатольевич,

доктор химических наук,
Дзержинский политехнический институт
(филиал) ФГБОУ ВО «Нижегородский
государственный технический университет им.
Р.Е. Алексеева», профессор, заведующий
кафедрой «Химические и пищевые
технологии»

Ведущая организация:

Федеральное государственное учреждение
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»

Защита диссертации состоится «__» _____ 2020 года в __ часов на заседании диссертационного совета Д 999.130.02 на базе Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского и Института металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева по адресу: г. Нижний Новгород, 603950, пр. Гагарина, 23, корп. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И.Лобачевского и на сайте <https://diss.unn.ru/files/2020/1015/diss-Silina-1015.pdf>.

Автореферат разослан «__» _____ 2020 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор химических наук, профессор



А.В. Гущин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Создание биоразлагаемых и биосовместимых материалов на основе природных полимеров является актуальной задачей современной химии полимеров. Среди биополимеров одно из центральных мест занимает хитозан (ХТЗ) - продукт частичного деацетилирования природного хитина благодаря целому спектру уникальных свойств, в частности, нетоксичности, гипоаллергенности, противомикробному действию, биосовместимости с тканями человека, способности усиливать регенеративные процессы при заживлении ран, на его основе получают препараты биомедицинского назначения, а также упаковочные материалы. Наличие функциональных групп, которое обуславливает сорбционные и комплексообразующие свойства ХТЗ, позволяет разрабатывать сорбенты и флокулянты на его основе. Несмотря на комплекс положительных свойств ХТЗ, учитывая отсутствие токсичности и способность к биodeградации, остается ряд нерешенных проблем, связанных с низкой прочностью материалов на его основе, поэтому для масштабного использования ХТЗ необходима его модификация. В этом отношении перспективным представляется комплексное использование свойств ХТЗ и полилактида.

Поли(D,L-лактид) (ПЛА) – биосовместимый, термопластичный, алифатический полиэфир, который широко используется в медицине. Известно, что материалы на основе со(полимеров) лактида с гликолидом, δ -валеролактоном, β -бутиролактоном характеризуются высокой механической прочностью и регулируемой скоростью деградации, однако негативной стороной процесса является образование молочной кислоты в результате гидролиза этого полимера, что может привести к локальным воспалительным реакциям в организме.

Можно полагать, что сочетание уникальных свойств ХТЗ и ПЛА будет успешным как при получении упаковочных материалов специального назначения, так и 2D и 3D (пленочных и объемных) изделий биомедицинского назначения для раневых покрытий и органических составляющих скаффолдов. ХТЗ, являясь полиоснованием, способен связывать молочную кислоту, предотвращая негативные последствия гидролиза ПЛА, а синтетический полимер будет придавать требуемые прочностные характеристики материалу. Кроме того, использование таких гибридных материалов на основе ХТЗ и ПЛА с интегрированным в структуру композиций наноразмерным диоксидом титана, является перспективным для получения прозрачных биосовместимых ранозаживляющих покрытий, позволяющих контролировать состояние раны и способных к подавлению патогенных микроорганизмов без использования антибиотиков. Диоксид титана является биосовместимым и обладает бактерицидной активностью при световом воздействии. В связи с этим перспективным решением для совмещения полезных свойств компонентов является синтез сополимеров D,L-лактида с титаноксидом с использованием изопропоксида титана $Ti(OPr^i)_4$ в качестве инициатора полимеризации и (со)мономера одновременно для дальнейшего создания смесевых композиций с ХТЗ.

Сочетание свойств ХТЗ и ПЛА с неорганическими компонентами, в частности, с гидроксиапатитом (ГА) – основным минеральным компонентом костной ткани – является перспективным для создания скаффолдов при остеорегенерации в тканевой инженерии.

Степень разработанности темы исследования. В настоящее время разработаны методы синтеза привитых сополимеров ХТЗ с лактидом с

использованием каталитических систем, преимущественно, на основе соединений олова. Однако ХТЗ связывает и удерживает ионы металлов, что негативно сказывается на свойствах материалов, предназначенных для биомедицины, которые должны быть нетоксичными с высокой степенью чистоты. Возникает проблема очистки продуктов синтеза от токсичных катализаторов. Попытки получить однородные смесевые композиции на основе гомополимеров в большинстве случаев не увенчались успехом, и системы на их основе характеризовались низким уровнем физико-механических свойств.

Необходимо выделить работы, авторами которых успешно разработаны материалы с повышенной прочностью на основе привитых сополимеров ХТЗ с лактидом, полученных методом твердофазного синтеза без использования растворителей и катализаторов. При всех достоинствах этого метода, он требует энергетических затрат и является сложным в аппаратурном отношении. На основании этих работ можно предположить успешное решение проблемы получения сополимеров с хорошими прочностными характеристиками в процессе другого вида механохимического воздействия – ультразвука на растворы смесей гомополимеров в условиях кавитации, сопровождаемой гидравлическими интенсивными ударами.

Таким образом, существует задача по разработке и развитию стратегий новых методов получения сополимеров ХТЗ с лактидом без использования катализаторов.

Целью работы является синтез блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом ультразвуковым (УЗ) воздействием на растворы смесей гомополимеров, получение композитов на основе смесей ХТЗ с ПЛА и поли(D,L-лактид–титаноксидом), комплексное исследование свойств материалов медико-биологического назначения.

В рамках поставленной цели решались **следующие задачи**:

1. Обоснование совместимости гомополимеров по результатам расчета значений параметров растворимости Гильдебранда ХТЗ (δ_1) и ПЛА (δ_2); получение однородных растворов ХТЗ и ПЛА с различными соотношениями компонентов в смешанном растворителе и при введении низкомолекулярных соединений – модификаторов.
2. Синтез блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом методом УЗ воздействия на растворы смесей гомополимеров, исследование строения цепей блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом.
3. Получение смесевых композиций ХТЗ с ПЛА с использованием компатибилизаторов – блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом.
4. Синтез сополимеров D,L-лактида с титаноксидом с использованием изопропоксида титана и получение их смесей с ХТЗ.
5. Исследование свойств композитов на основе блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом и смесей ХТЗ с ПЛА, изучение биосовместимости композиционных материалов на основе ХТЗ и поли(D,L-лактид–титаноксида).

Научная новизна.

Теоретически обоснована совместимость гомополимеров ХТЗ и ПЛА и выявлены два принципиальных подхода для получения однородных смесей ХТЗ и ПЛА через их растворы:

- использование низкомолекулярных соединений в смешанном растворителе, способных блокировать функциональные группы одного из гомополимеров в минимальной и достаточной концентрации для изменения характера интерполимерного взаимодействия между ХТЗ и ПЛА;

- использование блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом в качестве эффективных компатибилизаторов, обеспечивающих формирование однородных смесей ХТЗ с ПЛА.

Впервые синтезированы блок-сополимеры ХТЗ с D,L-лактидом методом УЗ воздействия на растворы смесей гомополимеров, доказано полиблочное строение блок-сополимеров.

Разработаны композиции на основе смесей ХТЗ и поли(D,L-лактид–титаноксида) с высокими прочностными характеристиками. Материалы являются биоразлагаемыми и биосовместимыми, что создает перспективу их использования в тканевой инженерии.

Получены материалы с высокой термической стойкостью на основе ХТЗ, модифицированного ГА.

Практическая значимость.

Разработан метод и получены однородные по структуре биосовместимые и биоразлагаемые композиционные материалы на основе смесей ХТЗ с ПЛА и блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом с высокими прочностными свойствами (Патент RU 2540468). Блок-сополимеры ХТЗ с D,L-лактидом и смесевые композиции ХТЗ с ПЛА перспективны в качестве материалов биомедицинского назначения для закрытия раневых поверхностей, в качестве органических составляющих скаффолдов.

Объекты исследования и методы исследования. В работе использовали ХТЗ, полученный из панцирей краба (ЗАО «Биопрогресс», Москва, Россия) с молекулярной массой (M_n) = 1.2×10^5 и степенью деацетилирования (СД) = 0.82, растворяли в водных растворах уксусной и молочных кислот. ПЛА с $M_n = 9.0 \times 10^4$, $M_w = 13.2 \times 10^4$ и поли(L-лактид) с $M_n = 7.9 \times 10^4$, $M_w = 15.5 \times 10^4$ растворяли в тетрагидрофуране (ТГФ). Образцы ПЛА и поли(L-лактида) предоставлены к.х.н. Морозовым А.Г. (Лаборатория органических производных непереходных металлов ИМХ им. Г.А. Разуваева РАН). Поли(D,L-лактид-титаноксид) получали полимеризацией D,L-лактида «Sigma-Aldrich» с раскрытием цикла с использованием изопропоксида титана «ACROS Organics» с содержанием основного вещества 98% в качестве катализатора без дополнительной очистки исходных веществ. Поли(D,L-лактид–титаноксид) с $M_n = 18.9 \times 10^3$ и $M_w = 34.0 \times 10^3$, растворяли в ТГФ. ГА – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ с размером частиц 50-100 нм предоставлен кафедрой химии твердого тела ННГУ им. Н.И.Лобачевского (д.х.н., проф. Князевым А.В. и к.х.н. Булановым Е.Н.). Акриламид (АА) с содержанием основного вещества 99 %, производство «Sigma-Aldrich». Полиакриламид (ПАА) с $M_n = 256 \times 10^3$, $M_w = 350 \times 10^3$. Фермент для разложения ХТЗ – хитозаназа с активностью 250 ед/г («Lyven», Франция). Однородность растворов в видимой и УФ-областях контролировали спектрофотометрическим методом, а также исследовали светопропускание образцов пленок смесей ХТЗ и ПЛА на спектрофотометре УФ и видимого диапазонов UV-1650 («Shimadzu»). Вязкость разбавленных растворов полимеров определяли на капиллярном вискозиметре Уббелюде. Блок-сополимеры ХТЗ с D,L-лактидом, ХТЗ с L-лактидом и ХТЗ с АА получали при УЗ воздействии растворов смесей гомополимеров с помощью установки И100-6/4 с ультразвуковым генератором И-10-2.0 и рабочей частотой $\nu = 22 \pm 10\%$ кГц. Соплимеры выделяли осаждением в большом объеме осадителя. Образование сополимеров доказывали методом ИК-спектроскопии (спектрофотометр «Infracum FT-801») очищенных продуктов синтеза после экстракции (аппарат Сокслета, шейкер). Ферментативное разложение цепей ХТЗ при расшифровке структуры цепей блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом и ХТЗ с АА проводили

хитозаназой. Элементный анализ образцов блок-сополимеров ХТЗ с D,L- лактидом и ХТЗ с АА проводили с использованием элементного анализатора «Elementar Vario EL cube». Молекулярно-массовые характеристики ПЛА определяли методом гель-проникающей хроматографии (ГПХ) в ТГФ (жидкостной хроматограф Prominence LC-20VP «Shimadzu»). ММ блок-сополимеров ХТЗ с АА, ММ исходного ПАА и его блоков в блок-сополимере определяли методом ГПХ (высокоэффективный жидкостной хроматограф LC-20AD Prominence «Shimadzu»). ММ блок-сополимера ХТЗ с D,L-лактидом определяли методом масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF) (временнóй тандемный масс-спектрометр AXIMA Performance «Shimadzu»). Азотный лазер (337 нм). Спектры получены в линейном режиме положительных ионов. Отдельно готовили раствор матрицы (2,5-дигидрокси-бензойная кислота с концентрацией 18 мг/ мл в смеси H_2O : $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ = 11: 1 по объему), соли (трифторацетат натрия с концентрацией 2.5 мг/мл в тетрагидрофуране и полимера (с концентрацией 1.8 мг/ мл в смеси H_2O : CF_3COOH = 3: 1 по объему). Полученные растворы смешивали в объемном соотношении матрица: полимер: соль = 100: 10: 1. Перед анализом 2 мкл раствора наносили на мишень, сушили на воздухе при комнатной температуре. Топографию поверхности пленок анализировали методом атомно-силовой микроскопии на приборе «Solver-P4». Рентгенофазовый анализ образцов ХТЗ, блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом и смесей ХТЗ с ПЛА, а также образцов ГА и композиций на основе ХТЗ с ГА выполняли на рентгеновском дифрактометре «Bruker D8 Discover» и на дифрактометре XRD-6000 «Shimadzu», соответственно. Физико-механические характеристики образцов в виде пленок определяли на универсальной разрывной машине «ZWICK/ROELLZ005», Германия. Грибостойкость блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом исследовали, используя гостированные штаммы микромицетов *Aspergillus Oryzae*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium chrysogenum* по стандартным методикам. Температурные переходы в процессе нагревания образцов ХТЗ, ПЛА, блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом, смесевых композиций ХТЗ с ПЛА и композитов ХТЗ с ГА изучали с использованием дифференциального сканирующего калориметра DSC 204 F1 Phoenix (NETZSCH Gerätebau, Германия) и термоанализатора «Shimadzu» DTG-60H, соответственно. Термогравиметрический (ТГ) анализ образцов ХТЗ, ПЛА, блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом и смесей гомополимеров проводили с использованием термомикровесов TG 209 F1 Iris (NETZSCH Gerätebau, Германия). Биodeградацию *in vivo* блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом и смесей ХТЗ с поли(D,L-лактид–титаноксидом) проводили на экспериментальных животных. По показателям крови экспериментальных животных и содержанию конечных продуктов перекисного окисления липидов, определяемых методом И.А. Волчегорского, исследовали биологическую активность и влияние введения пленочных материалов на основе смесей ХТЗ с поли(D,L-лактид – титаноксидом). Бактерицидные свойства блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом исследовали по отношению к культурам бактерий *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, пленки на основе смеси ХТЗ с поли(D,L-лактид–титаноксидом) - *Staphylococcus aureus* по стандартным методикам. Источником УФ-излучения служила бактерицидная лампа БУВ-30-П с длиной волны 254 нм.

На защиту выносятся следующие положения:

- Теоретическое обоснование совместимости гомополимеров ХТЗ и ПЛА и получения однородных композиционных материалов с улучшенными прочностными характеристиками на основе смесей ХТЗ и ПЛА через раствор с

использованием модификаторов, так и при введении компатибилизаторов - блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом.

- Синтез блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом методом УЗ воздействия на растворы смесей гомополимеров, доказательство строения блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом.
- Результаты комплексного исследования свойств композиций на основе полученных блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом, смесей ХТЗ с ПЛА, смесей ХТЗ с поли(D,L-лактид-титаноксидом), материалов на основе ХТЗ, модифицированных ГА.

Обоснованность и достоверность полученных в диссертации результатов обеспечивались неоднократным воспроизведением основных экспериментальных данных и комплексным подходом к решению поставленных задач с использованием современных экспериментальных методов исследования.

Апробация работы. Результаты исследований докладывались и обсуждались на конференциях различного уровня: 10-th International Conference of the European Chitin Society (Saint-Petersburg, 2011), IV Съезде биофизиков России. Симпозиум III «Физика - медицине и экологии» (Нижний Новгород, 2012), XI международной конференции «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» (Мурманск, 2012), XIV International Conference on Thermal Analysis and Calorimetry in Russia (Saint-Petersburg, 2013), Шестой Всероссийской Каргинской Конференции «Полимеры - 2014» (Москва, 2014), XVIII конференции молодых учёных-химиков Нижегородской области (Нижний Новгород, 2015), XX International Conference on Chemical Thermodynamics in Russia (Nizhni Novgorod, 2015), 11th и 12th International Saint-Petersburg Conference of Young Scientists «Modern problems of polymer science» (Saint-Petersburg, 2015, 2016), 13th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry (Belgrade, Serbia, 2016), XV Russian and International Conference on Thermal Analysis and Calorimetry (Saint-Petersburg, 2016) и 2nd International Conference on Nanotechnology and Nanomaterials in Energy (Lyon, France, 2017).

Материалы диссертационных исследований были представлены на научных конкурсах, по результатам которых автору дважды присуждалась именная стипендия академика Г.А. Разуваева (2013/2014, 2014/2015 уч. г.).

Работа выполнена при поддержке грантов ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 годы», при частичной поддержке гранта (соглашение от 27.08.2013г. № 02.В.49.21.0003 между МОН РФ и ННГУ) и финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (код проекта 1537), (ГК № 4.3760.2017/ПЧ) и РФФИ в рамках научного проекта № 16-33-60172 мол_а_дк.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 17 научных работ, в том числе 4 статьи в научных журналах, индексируемых международными реферативно-библиографическими базами научного цитирования *Web of science* и *Scopus*, 1 патент Российской Федерации на изобретение и 12 тезисов докладов.

Личный вклад автора. Диссертант принимал непосредственное участие во всех этапах выполнения диссертационной работы, включая постановку целей и задач исследования, планирование и выполнение экспериментов, анализ полученных данных и их интерпретацию, подготовку и оформление по результатам исследований

публикаций в виде патента, статей и тезисов докладов на конференциях различного уровня.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, выводов, списка сокращений, списка цитируемой литературы из 268 наименований. Работа изложена на 136 страницах машинописного текста, включает 37 рисунков и 18 таблиц.

Соответствие диссертации паспорту специальности. Диссертационная работа по своей актуальности, целям, решаемым задачам и полученным результатам соответствует пунктам 4, 6, 7 и 9 паспорта специальности 02.00.06 – высокомолекулярные соединения.

Благодарности. Автор выражает благодарность д.х.н., проф. Смирновой Н.Н., д.х.н. проф. Маркину А.В. за проведение анализов (со)полимеров методами дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и термогравиметрии, к.х.н. Морозову А.Г. за синтез образцов ПЛА (ИМХ им. Г.А. Разуваева РАН), к.ф.-м.н. Юнину П.А. (ИФМ РАН) за помощь при изучении рентгеноструктурных свойств (со)полимеров, к.х.н. Батенькину М.А. за помощь в изучении топографии поверхности пленок методом атомно-силовой микроскопии, Горностаевой Е.Е. за помощь в определении молекулярно-массовых характеристик со(полимеров) методом ГПХ, д.х.н. Гришину И.Д. и Григорьевой А.О. за проведение исследований методом MALDI-TOF, д.б.н., проф. Корягину А.С. (ИББМ ННГУ им. Н.И. Лобачевского) за помощь при изучении биосовместимости композитов *in vivo*, с.н.с. Смирновой О.Н. (ОБИ ННГУ) за помощь при изучении грибостойкости и бактерицидных свойств материалов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **литературном обзоре** обобщены сведения о свойствах и применении ХТЗ, методах синтеза привитых и блок-сополимеров ХТЗ, особо внимание уделено получению привитых сополимеров ХТЗ с лактидом, смесей ХТЗ с ПЛА, обоснована возможность получения сополимеров ХТЗ с лактидом методом УЗ воздействия. В **экспериментальной части** приведены характеристики исходных соединений, описаны методы получения блок-сополимеров, смесей гомополимеров и композиционных материалов на основе ХТЗ, рассмотрены основные методы анализа структуры и свойств полученных материалов.

1. Синтез блок–сополимеров хитозана с D,L-лактидом методом ультразвуковой деструкции

Синтез блок-сополимеров с помощью УЗ воздействия на растворы смесей гомополимеров является простым и эффективным в экспериментальном отношении. Этот метод, являющийся разновидностью механохимических процессов, позволяет получать однородные композиционные материалы, содержащие в макромолекулах фрагменты несовместимых или трудносовместимых полимеров. За счет разрушения и образования химических связей в процессе УЗ деструкции становится возможным синтез новых сополимеров.

Анализ литературных данных различных авторов, исследовавших возможность получения однородных смесей ХТЗ с ПЛА через раствор, показал, что в большинстве случаев попытки получить смеси гомополимеров не увенчались успехом из-за выпадения осадка. В ряде работ отмечается несовместимость ХТЗ и ПЛА. На наш взгляд, существует несколько факторов, которые влияют на сложность получения однородных смесей указанных гомополимеров. Одна из причин – полимеры могут

быть несовместимыми, другая – неправильно подобранные растворители. Кроме того, одним из факторов является интерполимерное взаимодействие между макромолекулами ХТЗ и ПЛА в растворе за счет их функциональных групп.

Поэтому на первом этапе работы проведены теоретические расчеты для обоснования совместимости (несовместимости) ХТЗ и ПЛА. Известно, что одним из критериев, позволяющих предсказать совместимость полимеров, является различие в значении параметров растворимости Гильдебранда (δ) гомополимеров. Как правило, компоненты совместимы, если $\delta_1 - \delta_2 < 1.5$, где δ_1 и δ_2 – параметры растворимости полимеров 1 и 2, соответственно.

Параметры растворимости ХТЗ и ПЛА были рассчитаны по Аскадскому:

$$\delta^2 = \frac{E^*}{N_A \sum_{i=0}^i \Delta V_i}, \text{ где } N_A - \text{постоянная Авогадро, } \Delta V_i - \text{инкремент ван-дер-ваальсового}$$

объема атомов i -ого вида, E^* – энергия когезии. Значение E^* является аддитивной

величиной $E^* = \sum_{i=0}^i \Delta E_i$, где ΔE_i – вклад каждого атома и типа межмолекулярного

взаимодействия в E^* . Для ХТЗ значение параметра растворимости составило $9.1 \text{ (кал/см}^3)^{1/2}$, для ПЛА $8.5 \text{ (кал/см}^3)^{1/2}$, т.е. $\delta_{\text{ХТЗ}} - \delta_{\text{ПЛА}} = 0.6 \ll 1.5$, близкие параметры растворимости обоих полимеров указывают на их совместимость.

На следующем этапе работы необходимо было подобрать смешанный растворитель. ХТЗ растворим в водных растворах органических кислот, ПЛА – в органических растворителях ТГФ, диоксане. Исходя из этого, ХТЗ растворяли в 1.2 мас.% водном растворе CH_3COOH , ПЛА – в ТГФ. Исследовали устойчивость уксуснокислого раствора ХТЗ при добавлении ТГФ и раствора ПЛА в ТГФ при добавлении 1.2 мас.% водного раствора CH_3COOH . Об однородности образующихся смесей растворов ХТЗ и ПЛА в указанных растворителях судили на основании данных по проценту их светопропускания. Исследуя влияние различных концентраций ПЛА в ТГФ на растворы ХТЗ, установлены оптимальные, с точки зрения получения однородных смесей, соотношения полимеров и растворителей. Однородные растворы смесей гомополимеров были получены при смешении 3 мас. % ХТЗ в 1.2 мас. % водном растворе CH_3COOH с 1.5 мас.% раствором ПЛА в ТГФ. Однако даже при этих оптимальных условиях система оставалась оптически прозрачной лишь до соотношения ХТЗ: ПЛА = 90: 10 по массе, далее наблюдали помутнение раствора и выпадение осадка (интерполимерного комплекса ХТЗ – ПЛА), что подтверждено данными ИК-спектроскопии.

Для получения смесей ХТЗ и ПЛА с высоким содержанием последнего при смешении растворов в раствор ПЛА в ТГФ вводили низкомолекулярные соединения-модификаторы – гуанидин солянокислый $(\text{NH}_2)_2\text{C}=\text{NH} \cdot \text{HCl}$ или моноэтаноламин $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$, содержащие аминогруппы, способные блокировать карбонильные группы ПЛА. Содержание модификаторов варьировали в широком интервале – от эквимольного соотношения модификатора и звеньев ПЛА до соотношения 1: 100. Установлено минимальное количество модификатора, которое требуется вводить по отношению к рассчитанному количеству ПЛА для обеспечения однородности системы при приготовлении его растворов с ХТЗ, составляющее 1: 50. Однородность системы контролировали спектрофотометрическим методом. Затем полученные растворы ХТЗ и ПЛА подвергали УЗ воздействию.

Предварительно было установлено оптимальное время УЗ воздействия на водноуксуснокислые растворы ХТЗ, при котором достигается предельная деструкция цепей полисахарида. Так, для 3 мас. % ХТЗ в 1.2 мас. % CH_3COOH ММ снижается с 1.2×10^5 до 2.1×10^3 , достигая постоянного значения за 30 мин при $\nu = 21.5$ кГц и $T = 21^\circ\text{C}$. Существенно, что при этом не происходит изменение структуры звеньев ХТЗ, о чем свидетельствует полная идентичность ИК-спектров исходного полисахарида и получающегося олигомера.

В этих условиях (30 мин, $\nu = 21.5$ кГц, $T = 21^\circ\text{C}$) было проведено УЗ воздействие на растворы смесей гомополимеров ХТЗ с поли(D,L-лактидом) и ХТЗ с поли(L-лактидом). На основании известных общих положений о влиянии УЗ воздействия на растворы смесей гомополимеров можно предположить, что продукты синтеза представляют собой блок-сополимеры ХТЗ с лактидом. Хотя при этом нельзя исключать и присутствие незначительного содержания гомополимеров. Подтверждением получения блок-сополимеров являются результаты ИК-спектроскопии. В образце, очищенном от возможно непрореагировавших гомополимеров, наблюдаются полосы поглощения, характерные для функциональных групп ХТЗ (1651 амид I, 1591 см^{-1} деформационные колебания свободных аминогрупп) и полоса поглощения, соответствующая валентным колебаниям $>\text{C}=\text{O}$ группы ПЛА (1758 см^{-1}) (рис. 1).

Аналогичный эксперимент был проведен и с другим изомером лактида – L-лактидом. Синтез блок-сополимеров ХТЗ с L-лактидом был интересен с точки зрения оценки влияния стереоизомерии лактида на физико-механические свойства блок-сополимеров. Выявлено, что физико-механические свойства блок-сополимеров ХТЗ с L-лактидом незначительно выше свойств исходного ХТЗ, поэтому все дальнейшие исследования проводились только для блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом. Содержание звеньев ПЛА в блок-сополимерах определено методом CNH-анализа (табл. 1).

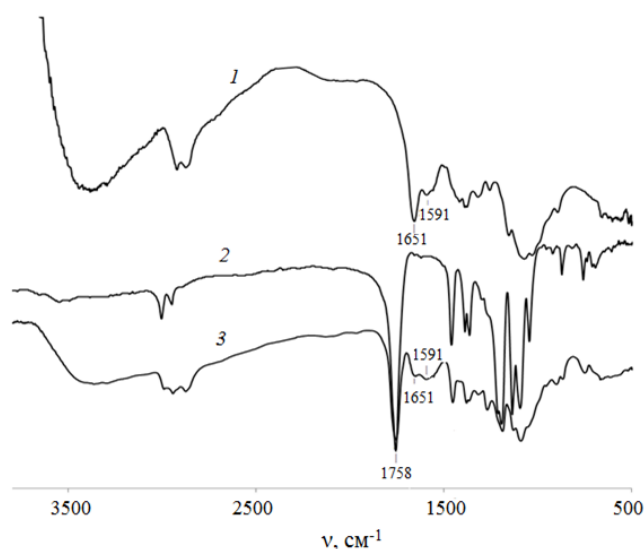


Рис. 1. ИК-спектры образцов пленок ХТЗ (1), ПЛА (2) и блок-сополимера ХТЗ с D,L-лактидом (3); массовая доля ПЛА в блок-сополимере 16 мас. %

Таблица 1

Содержание ПЛА в исходных смесях и блок-сополимерах, выход продукта, %

$\omega(\text{ПЛА})$ в исходной смеси, мас. %	Содержание непрореагировавшего гомополимера (ПЛА), %	Выход блок-сополимера, %	$\omega(\text{ПЛА})$ в блок-сополимере, мас. %
10	4.3	95.7	6
20	4.8	95.2	16
30	5.4	94.6	26
50	7.4	92.6	46

Выявлено, что при увеличении содержания ПЛА в исходной смеси с 10 до 50 мас.% выход блок-сополимера несколько снижается с 95.7 до 92.6 %, однако остается на достаточно высоком уровне. Непрореагировавшего ХТЗ после синтеза не было обнаружено. Количество непрореагировавшего ПЛА можно объяснить использованием полидисперсного образца, низкомолекулярные фракции которого не разрушались под действием ультразвука.

При всей простоте синтеза блок-сополимеров методом УЗ воздействия на растворы смесей гомополимеров существует проблема определения строения их цепей. В случае блок-сополимера ХТЗ с D,L-лактидом открывается возможность ферментативного разрушения блоков ХТЗ хитозаназой. Это позволило определить ММ блоков ПЛА, входящих в блок-сополимер, методом ГПХ (табл. 2). Длина блоков ПЛА, которую определили после ферментативного разложения блок-сополимера, колеблется в пределах от 2.9×10^3 до 22.5×10^3 в зависимости от состава реакционной смеси (табл.2).

Таблица 2

Молекулярно-массовые характеристики блоков ПЛА

$\omega(\text{ПЛА})$ в блок-сополимере, мас. %	ММ фрагментов ПЛА		
	$M_n \times 10^{-3}$	$M_w \times 10^{-3}$	M_w/M_n
6	6.9	9.9	1.4
16	10.5	22.5	2.1
46	0.96	2.9	3.0

Блоки лактида в блок-сополимере ХТЗ с D,L-лактидом, $\omega(\text{ПЛА}) = 6$ мас.% достаточно однородны по ММ ($M_w/M_n = 1.4$) и содержат ~ 137 – 138 звеньев. С увеличением доли ПЛА от 16 до 46 мас.% в блок-сополимере однородность блоков лактида снижается с $M_w/M_n = 2.1$ и 3.0 , а блоки лактида содержат ~ 312 – 313 и ~ 40 звеньев, соответственно. Однако ММ блок-сополимера определить методом ГПХ не удастся ввиду его нерастворимости ни в органическом растворителе, используемого в качестве элюента (ТГФ), ни в водных буферных растворах. Были предприняты попытки определения ММ блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом методом MALDI-TOF. Однако высокая ММ и полидисперсность образцов блок-сополимеров не позволила решить эту задачу.

На качественном уровне была предложена модель строения блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом по результатам анализа структуры блок-сополимеров ХТЗ с акриламидом (АА), синтезированных в аналогичных условиях. Результаты определения ММ блок-сополимеров и блоков в нем представлены в табл. 3. Для блок-сополимера ХТЗ с АА возможно определить как ММ блоков, входящих его состав, так и ММ блок-сополимера за счет растворимости в водных средах. Выход блок-сополимера, содержащего 20 мас. % звеньев ПАА, в данном случае составил 100%.

Блок-сополимер ХТЗ с АА, содержащий 20 мас. % АА, имеет полиблочное строение, в котором блоки (последовательности) АА характеризуются высокой однородностью по ММ ($M_w/M_n = 1.25$) и содержат ~ 5 – 6 звеньев.

Таблица 3

Молекулярно-массовые характеристики исходного ПАА, блок-сополимеров ХТЗ с АА, блоков ПАА в блок-сополимере

Образец	$M_n \times 10^{-3}$	$M_w \times 10^{-3}$	M_w/M_n
ПАА	256	350	1.40
ПАА после деструкции хитозаназой	247	327	1.30
Блок-сополимер ХТЗ с АА	220	269	1.20
Блоки ПАА в блок-сополимере после деструкции хитозаназой	0.30	0.38	1.25

Среднее значение числа блоков ПАА в цепи блок-сополимера равно отношению среднего значения суммарной ММ блоков ПАА к ММ блоков ПАА после деструкции хитозановой части ферментом и составляет ~ 141 . Среднее значение ММ блоков ХТЗ в цепи блок-сополимера составило ~ 1520 , что соответствует количеству его звеньев в блоках ~ 9 единиц.

ММ блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом методом ГПХ определить не представлялось возможным. Однако удалось подтвердить структуру блок-сополимеров по результатам анализа его фракций методом MALDI-TOF. Для этого проведено фракционирование полученных блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом методом дробного осаждения из раствора в смешанном растворителе. Для анализа выбрана фракция блок-сополимера с наиболее узким молекулярно-массовым распределением. ММ образца блок-сополимера ХТЗ с D,L-лактидом с $\omega(\text{ПЛА}) = 16$ мас. % составила: $M_w = 45.8 \times 10^3$, $M_n = 43.9 \times 10^3$, $M_w/M_n = 1.04$.

Длина блоков ПЛА, которую определили после ферментативного разложения блок-сополимера, составила 2.5×10^3 ($M_w/M_n = 3.0$). Среднее значение числа блоков ПЛА в цепи блок-сополимера равно отношению среднего значения суммарной ММ блоков ПЛА к ММ блоков ПЛА после деструкции хитозановой части ферментом и составляет ~ 3 . Блок-сополимер ХТЗ с D,L-лактидом, $\omega(\text{ПЛА}) = 16$ мас. %, имеет полиблочное строение, в котором блоки лактида содержат ~ 35 звеньев.

Среднее значение ММ блоков ХТЗ в цепи блок-сополимера составило ~ 13260 , что соответствует количеству его звеньев в блоках ~ 78 единиц. ММ других фракций установить не удалось из-за высокой ММ блок-сополимера и широкого молекулярно-массового распределения. Таким образом, схему синтеза и структуру блок-сополимера можно представить в следующем виде (рис. 2).

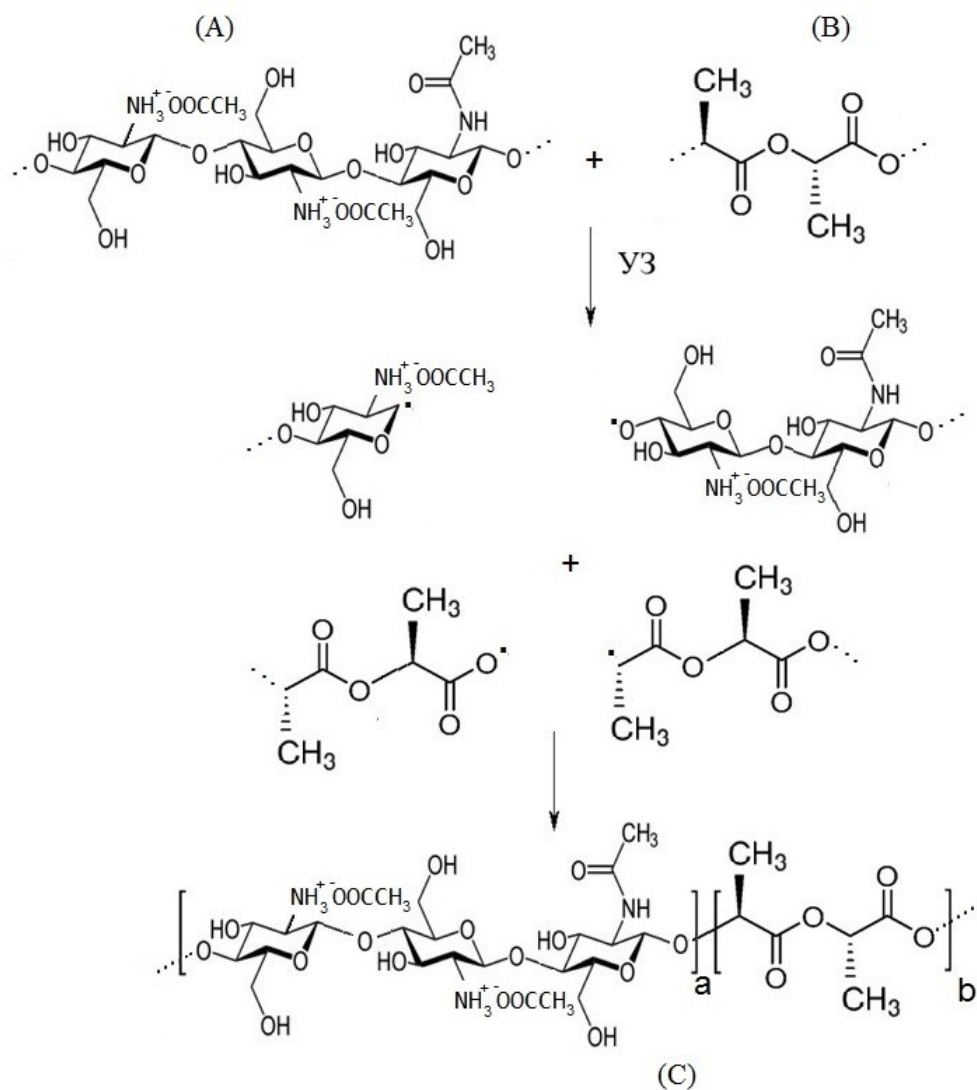


Рис. 2. Схема синтеза блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом (С) методом УЗ воздействия на раствор смеси гомополимеров ХТЗ (А) и ПЛА(В)

2. Исследование свойств и структуры композиций на основе хитозана и поли(D,L-лактида)

2.1. Физико-механические свойства блок-сополимеров хитозана с D,L-лактидом

При исследовании физико-механические свойства блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом выявлено, что величины разрушающего напряжения и предельной деформации пленок блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом в отдельных случаях достигают 52.5 МПа и $\varepsilon \sim 20.6\%$, соответственно, т.е. значительно превышают показатели ХТЗ (табл. 4). Наряду с этим, для сравнения синтезированы блок-сополимеры ХТЗ с L-лактидом. Оказалось, что для пленок блок-сополимеров ХТЗ с L-лактидом величины разрушающего напряжения σ по сравнению с исходным ХТЗ увеличиваются незначительно, а величина предельной деформации ε не превышает 3.5 %. Поэтому, как отмечалось выше, все дальнейшие эксперименты были выполнены с блок-сополимерами ХТЗ с D,L-лактидом.

Таблица 4

Физико-механические характеристики пленок блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом, полученных из растворов в присутствии модификаторов

Массовая доля ПЛА в блок-сополимере, мас. %	Мольное соотношение модификатор: звенья ПЛА	σ , МПа	ε , %
0	—	24.0 ± 1.0	1.9 ± 0.2
6	Гуанидин солянокислый 1: 1	51.2 ± 1.7	12.5 ± 0.5
16		48.4 ± 1.8	14.2 ± 0.4
6	Гуанидин солянокислый 1: 50	51.3 ± 0.9	10.7 ± 0.4
16		47.3 ± 1.6	20.6 ± 0.9
26		40.3 ± 1.4	14.8 ± 0.4
6	Моноэтаноламин 1: 50	44.9 ± 1.5	8.3 ± 0.2
16		52.5 ± 1.1	10.2 ± 0.4
26		50.0 ± 1.5	6.0 ± 0.2
46		43.8 ± 1.2	4.7 ± 0.1

Следует отметить, что наблюдается аналогия в физико-механических характеристиках сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом и ХТЗ с L-лактидом в данной работе и сополимеров ХТЗ с лактидом, полученных методом твердофазного синтеза¹, в обоих случаях высокие показатели σ и ε наблюдаются только для сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом.

¹ Порицкая, А.Ю. Твердофазный синтез сополимеров хитозана с олиго(L,L-/L,D-лактидами) и получение материалов на их основе / А.Ю. Порицкая, Ю.С. Сотникова, Т.С. Демина, В.В. Киреев // Успехи в химии и химической технологии. - 2016. - Т. 30. - № 10(179). - С. 79-81.

2.2. Физико-механические свойства смесей хитозана с поли(D,L-лактидом), полученных в присутствии низкомолекулярных модификаторов, полимерных компатибилизаторов, и хитозана с блок-сополимерами хитозана с D,L-лактидом

Как отмечалось выше, на первом этапе работы удалось получить однородные растворы смесей гомополимеров, содержащие до 50 мас. % ПЛА в присутствии низкомолекулярных модификаторов. Из полученных растворов приготовлены пленки и исследованы их физико-механические свойства. Для смесевых композиций ХТЗ: ПЛА = 92: 8 до 50: 50 по массе наблюдается положительная динамика повышения физико-механических свойств (величины σ и ϵ возрастают до 40.3 МПа и 3.0 %, соответственно, по сравнению с исходным ХТЗ).

С точки зрения снижения энергозатрат при использовании метода УЗ воздействия для получения материалов с высокими физико-механическими свойствами и, исходя из ранее приведенных результатов, перспективными являются два направления – получение композиций блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом и исходного ХТЗ и смесей ХТЗ с ПЛА при введении компатибилизаторов – блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом. Физико-механические характеристики композиций блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом и ХТЗ различного состава приведены в табл. 5.

Таблица 5

Разрушающее напряжение и предельная деформация пленок смесевых композиций ХТЗ с блок-сополимерами ХТЗ с D,L-лактидом

Состав композиции	Массовая доля звеньев лактида в блок-сополимере			
	$\omega(\text{ПЛА}) = 0.1$		$\omega(\text{ПЛА}) = 0.2$	
ХТЗ: блок-сополимер ХТЗ с D,L-лактидом, (г/г)	σ , МПа	ϵ , %	σ , МПа	ϵ , %
100: 0	24.0 ± 1.0	1.9 ± 0.2	24.0 ± 1.0	1.9 ± 0.2
90: 10	30.2 ± 0.4	2.0 ± 0.1	42.4 ± 1.1	4.2 ± 0.5
70: 30	32.4 ± 1.2	3.8 ± 0.1	48.9 ± 1.7	7.5 ± 0.7
50: 50	37.0 ± 0.8	6.5 ± 0.2	49.8 ± 1.9	9.8 ± 0.6

Выбор блок-сополимеров с массовой долей ПЛА в блок-сополимере равной 10 и 20% обусловлен тем, что их пленки демонстрировали максимальный уровень физико-механических показателей. Самые высокие значения $\sigma = 49.8$ МПа и $\epsilon = 9.8$ % проявляются у композиций 50: 50 по массе ХТЗ: блок-сополимер ХТЗ с D,L-лактидом, $\omega(\text{ПЛА}) = 20$ %. Таким образом, используя блок-сополимеры ХТЗ с D,L-лактидом и варьируя состав полимерной композиции, можно достичь прочностных характеристик до 50 МПа при величине деформации до 10 %.

Композиции на основе смесей гомополимеров были получены через их растворы. В раствор ХТЗ вводили раствор компатибилизатора (блок-сополимера ХТЗ с D,L-лактидом с массовой долей ПЛА в блок-сополимере 20 %), а затем вводили раствор ПЛА в ТГФ. Такой подход обеспечил получение однородного раствора гомополимеров с соотношением до 50: 50 по массе ХТЗ: ПЛА (табл. 6).

Следует отметить, что роль компатибилизатора, обладающего двойственной природой и содержащего два вида звеньев – глюкозамина и лактида, сводится к увеличению «связности» полимеров, увеличению прочности связи в межфазном слое, что приводит к увеличению механической однородности смеси в целом. Как видно из

табл. 6, при увеличении доли ПЛА в композиции от 10 до 50 мас. % возрастает как величина разрушающего напряжения пленок, так и относительная деформация по сравнению с исходным ХТЗ. Варьируя состав полимерной композиции можно достичь прочностных характеристик пленок, достигающих 42 МПа, однако по своим показателям они уступают блок-сополимерам ХТЗ с D,L-лактидом.

Таблица 6

Физико-механические характеристики пленок смесевых композиций ХТЗ с ПЛА, содержащих компатибилизатор

Состав композиции ХТЗ: ПЛА (г/г)	Массовая доля компатибилизатора относительно ХТЗ, мас. %	σ , МПа	ϵ , %
100: 0	0	24.0 ± 1.0	1.9 ± 0.2
92: 8	0	25.2 ± 1.2	3.3 ± 0.2
90: 10	0	29.0 ± 1.2	5.2 ± 0.3
80: 20	0	21.8 ± 0.9	4.6 ± 0.3
50: 50	0	40.3 ± 1.3	3.0 ± 0.2
90: 10	1	42.0 ± 1.8	2.7 ± 0.2
90: 10	10	39.6 ± 2.0	12.4 ± 0.9
80: 20	10	33.3 ± 1.7	10.7 ± 0.7
70: 30	10	35.6 ± 1.8	10.3 ± 0.7
50: 50	10	34.3 ± 1.2	13.4 ± 0.9

Таким образом, все композиции отличаются повышенными физико-механическими свойствами по сравнению с ХТЗ, а наилучшие показатели демонстрируют блок-сополимеры ХТЗ с D,L-лактидом.

2.3. Свойства блок-сополимеров хитозана с D,L-лактидом, смесей хитозана с поли(D,L-лактидом) в присутствии компатибилизатора и композитов на основе хитозана, модифицированных гидроксиапатитом

Исследование структурных свойств композиций. Существенное изменение физико-механических свойств композиций, по-видимому, связано с изменением структуры исходного ХТЗ, для которого характерно наличие как аморфных, так и кристаллических структур. На рис. 3 приведены рентгеновские дифрактограммы для ХТЗ (кривая А) и блок-сополимера ХТЗ с D,L-лактидом, $\omega(\text{ПЛА}) = 6$ мас. % (кривая В), смеси ХТЗ с ПЛА, $\omega(\text{ПЛА}) = 10$ мас. % с компатибилизатором (блок-сополимер ХТЗ с D,L-лактидом с массовой долей ПЛА в блок-сополимере 20 %) (линия С), ХТЗ с компатибилизатором без ПЛА (линия D).

В блок-сополимере ХТЗ с D,L-лактидом (рис. 3, кривая В) наблюдалось уменьшение интенсивности и уширение пика ХТЗ (кривая А) вблизи $2\theta = 20$ градусов, что свидетельствует о возрастании аморфных структур, а также ухудшении дальнего порядка. Наряду с этим наблюдаются дополнительные пики при 9 и 13 градусах, которые могут быть обусловлены появлением упорядоченных структур за счет взаимодействия ХТЗ с ПЛА. Введение компатибилизатора в смесевую композицию ХТЗ с ПЛА (линия С) приводит к исчезновению пиков при 9 и 13 градусах, что свидетельствует также об аморфизации системы.

Существенные различия наблюдаются при анализе топографий поверхностей пленок ХТЗ (рис. 4а), ПЛА (рис. 4б) и блок-сополимера ХТЗ с D,L-лактидом (рис. 4в). Поверхность пленки исходного ХТЗ характеризуется зернистой структурой с размером зерен ~ 0.5 мкм (рис. 4а) в отличие от пленок ПЛА, обладающего ярко выраженной фибриллярной структурой (рис. 4б). Чередование звеньев ПЛА и ХТЗ приводит к тому, что поверхность блок-сополимера характеризуется укрупненной зернистой структурой по сравнению с исходным полисахаридом (рис. 4в). Образование этих зерен может быть связано с упаковкой концевых хитозановых блоков цепей блок-сополимера.

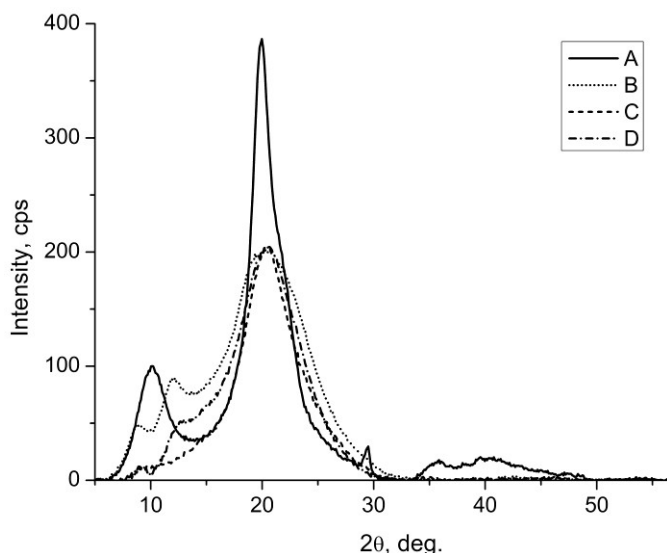


Рис. 3. Рентгеновские диффрактограммы образцов ХТЗ (линия А), блок-сополимера ХТЗ с D,L-лактидом, $\omega(\text{ПЛА}) = 10$ мас. % (линия В), смеси ХТЗ с ПЛА, $\omega(\text{ПЛА}) = 10$ мас. % с компатибилизатором (линия С), ХТЗ с компатибилизатором без ПЛА (линия D)

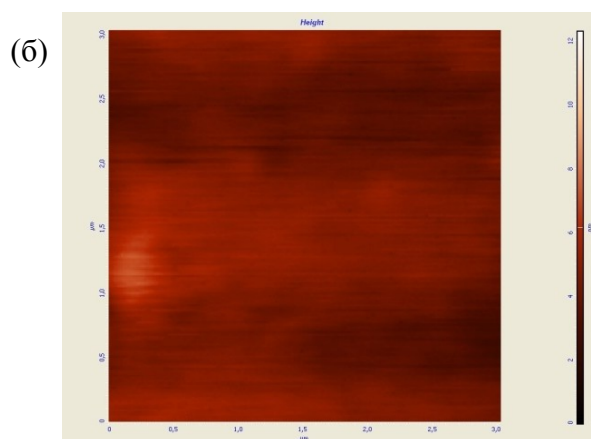
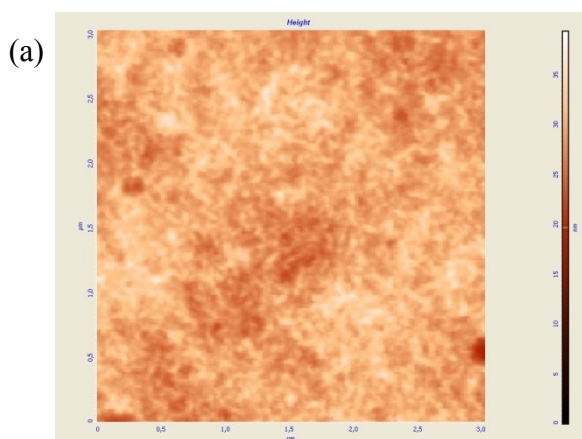
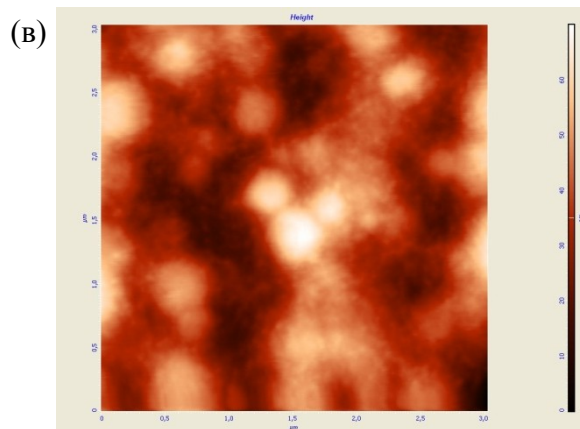


Рис. 4. Топография поверхности пленок ХТЗ (а), ПЛА (б) и блок-сополимера ХТЗ с D,L- лактидом, массовая доля ПЛА в блок-сополимере 26 мас. %. (в).

Плоскостное изображение
(размер 3×3 мкм)



Исследование теплофизических свойств композиций. Для определения температурных границ применения материалов изучены теплофизические характеристики в области $0\text{--}300^\circ\text{C}$ образцов блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом с

массовой долей ПЛА в них равной 6, 16 и 26 мас. %, соответственно (рис. 5) и образцов смесевых композиций на основе ХТЗ и ПЛА с массовой долей последнего 10 и 20 мас.%, полученных в присутствии компатибилизатора в области 30–350°C (рис. 6). Температуры физических переходов в ХТЗ и блок-сополимерах получены методом ДСК (табл. 7). В образце ХТЗ проявляется β -переход ($T_{\beta} = 47^{\circ}\text{C}$) и два температурных интервала расстеклования ($T_{g1} = 74^{\circ}\text{C}$, $T_{g2} = 140^{\circ}\text{C}$). Введение блоков D,L-лактида несколько снижают T_{β} ХТЗ, что может быть связано с изменением его структуры, и возможно обуславливается пластифицирующим эффектом блоков ПЛА.

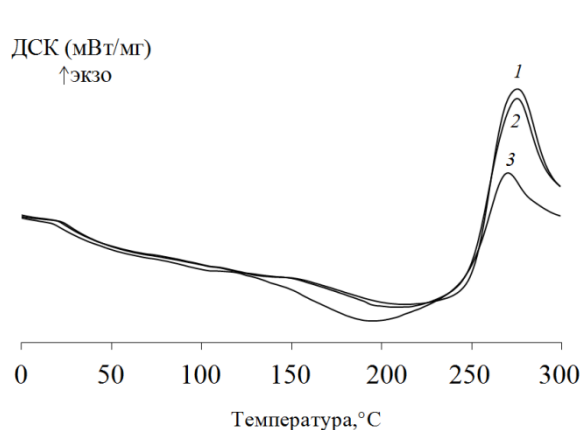


Рис. 5. ДСК-кривые блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом, с $\omega(\text{ПЛА}) = 6$ (1), 16 (2) и 26 мас. % (3)

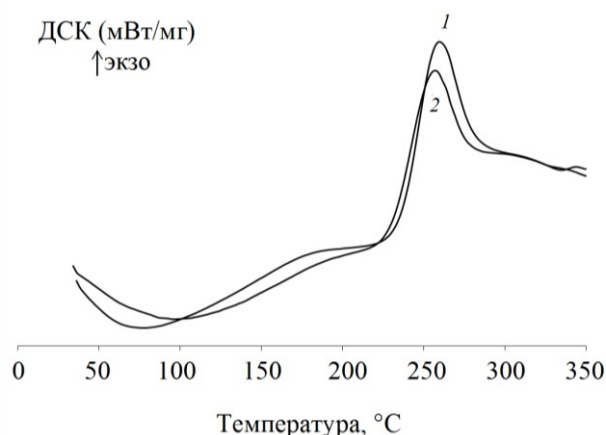


Рис. 6. ДСК-кривые смесевых композиций на основе ХТЗ и ПЛА, $\omega(\text{ПЛА}) = 10$ (1) и 20 мас. % (2)

Таблица 7

Усредненные температуры физических переходов в ХТЗ, ПЛА и образцах блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом

** Погрешность в определении составляет $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$*

Образец	$T_{\beta}, ^{\circ}\text{C}^*$	$\Delta T_1, ^{\circ}\text{C}^*$	$T_{g1}, ^{\circ}\text{C}^*$	$\Delta T_2, ^{\circ}\text{C}^*$	$T_{g2}, ^{\circ}\text{C}^*$
ХТЗ	47	—	74	—	140
Блок-сополимер ХТЗ с D,L-лактидом, $\omega(\text{ПЛА}) = 6$ мас. %	30	28-56	45	155-201	179
Блок-сополимер ХТЗ с D,L-лактидом, $\omega(\text{ПЛА}) = 16$ мас. %	30	31-63	48	164-198	182
Блок-сополимер ХТЗ с D,L-лактидом, $\omega(\text{ПЛА}) = 26$ мас. %	31	17-67	45	129-187	160
ПЛА	—	50-57	53	—	—

* ΔT – температурный интервал, T_g - температура стеклования

На ДСК-кривых блок-сополимеров не наблюдается переходов, характерных для индивидуальных соединений. Расстекловывание идет в более широком температурном интервале: при увеличении содержания D,L-лактида в блок-сополимере с 6 до 26 мас. %, интервал расстекловывания (первый переход) увеличивается с $\Delta T = 28^{\circ}\text{C}$ до $\Delta T = 50^{\circ}\text{C}$, что может быть обусловлено взаимным влиянием звеньев ХТЗ и ПЛА. Согласно данным ТГ-анализа, в инертной среде распад

блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом с массовой долей ПЛА в блок-сополимере, равной 16 и 26 мас. % происходит при более высоких температурах и начинается при 234 ± 1 и $219 \pm 1^\circ\text{C}$, соответственно, по сравнению с ХТЗ, температура начала распада образцов которого составляет $207 \pm 1^\circ\text{C}$. Распад образцов смесевых композиций ХТЗ и ПЛА, $\omega(\text{ПЛА}) = 10$ мас. % и 20 мас. %, начинается при 235 ± 1 и $230 \pm 1^\circ\text{C}$, соответственно. Проявляется тенденция некоторого повышения температуры разложения композитов при введении звеньев ПЛА, однако при значительном содержании ПЛА температура несколько снижается, но остается выше по сравнению с чистым ХТЗ.

Изучение бактерицидных свойств, грибостойкости и биodeградации блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом. Выполнено комплексное исследование поведения образцов блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом как под действием внешних факторов (бактерицидные свойства и грибостойкость), так и под действием внутренних ферментов (биodeградация *in vivo*), что важно как с точки зрения хранения материалов, так и при их использовании.

Изучены бактерицидные свойства блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом по отношению к культурам бактерий: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, способных вызывать воспалительные процессы. В работе выявлено, что исследуемые образцы хитозана проявляли только бактериостатический эффект, поскольку радиус зоны ингибирования роста бактерий составлял 3-4 мм, что сохраняется и для блок-сополимеров с содержанием ПЛА 46-50 мас. %.

Биodeградация *in vivo* образцов блок-сополимера ХТЗ с D,L-лактидом, $\omega(\text{ПЛА}) = 26$ мас. % исследована на экспериментальных животных, которым были сделаны разрезы в бедренной части и под кожу введены и зашиты пластины длиной 2 см и шириной 0.5 см. Пластины биodeградировали под кожей без признаков воспаления за 2 месяца.

Блок-сополимеры были исследованы на грибостойкость. В качестве биodeградантов были использованы гостированные штаммы микромицетов *Aspergillus Oryzae*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium chrysogenum*. Все оказались композиции биodeградируемыми. Наименьшая скорость биоразложения наблюдается для блок-сополимера, содержащего 6 мас. % ПЛА для всех изученных микромицетов. Наиболее активно биodeградация протекает под действием *A. terreus*, в случае которого, для блок-сополимеров, содержащих 16 и 26 мас. % ПЛА, степень обрастания составила 5 баллов. Таким образом, увеличение доли ПЛА в блок-сополимере приводит к возрастанию скорости биodeструкции. Варьируя состав полимерной композиции, можно управлять временем биodeградации.

Совокупность полученных результатов определяет перспективность создания на основе композиций ХТЗ с ПЛА биосовместимых и биodeградируемых многофункциональных материалов с регулируемым временем разложения.

Исследование свойств композитов на основе хитозана, модифицированных гидроксиапатитом. Особый интерес представляет создание гибридных композитов на основе ХТЗ и ПЛА с добавлением ГА для разработки и получения материалов, перспективных в качестве 2D и 3D составляющих скаффолдов для тканевой инженерии. ПЛА, как синтетический полимер, будет придавать необходимую прочность материалу, ХТЗ, являясь полиоснованием, будет способен связывать молочную кислоту (продукт гидролиза ПЛА), а ГА, в свою очередь, будет полезен для увеличения остеоиндуктивных свойств материала. При этом необходимо учитывать влияние ГА на прочностные характеристики получаемых композитов.

Исследовано влияние ГА на физико-механические показатели пленок как чистого ХТЗ, так и материалов на основе ХТЗ и ПЛА. Введение от 1 до 5 мас. % ГА в пленки ХТЗ повышает величину σ в ~ 1.5 раза до 38.5 МПа, однако, этого недостаточно, далее при увеличении $\omega(\text{ГА})$ до 40 % σ и ϵ резко снижаются.

Рентгенографические исследования и анализ ДСК-кривых образцов, выявили, что введение ГА снижает долю кристаллических структур, что в дальнейшем приводит к закономерному снижению T_g в пределах 15-20°C по сравнению с ХТЗ и повышению температуры разложения композитов.

Исследованы физико-механические свойства пленок композиций на основе блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом с массовой долей ПЛА равной 6 и 16 мас.%, наполненных ГА. При введении незначительного количества ГА (0.5 мас. %) величины разрушающего напряжения σ и предельной деформации ϵ пленок несколько снижаются, однако остаются на достаточно высоком уровне.

Таким образом, использование ГА возможно для создания композитов с ХТЗ и ПЛА при получении скаффолдов благодаря содержанию синтетических полимерных блоков в составе, но необходимы дополнительные исследования и доработка улучшению физико-механических свойств композитов.

3. Синтез сополимеров D,L-лактида с титаноксидом с использованием $\text{Ti}(\text{OPr}^i)_4$. Получение и исследование свойств их смесей с хитозаном

Актуальной задачей является разработка прозрачных биосовместимых ранозаживляющих покрытий на основе ХТЗ и ПЛА, позволяющих контролировать состояние раны и способных к подавлению патогенных микроорганизмов без использования антибиотиков. Это может быть достигнуто интегрированием в структуру композиций наноразмерного TiO_2 . TiO_2 является биосовместимым и обладает бактерицидной активностью при световом воздействии, которая обусловлена генерированием активных форм кислорода в образцах за счет одноэлектронного перехода $\text{Ti}^{4+} + e^- \rightleftharpoons \text{Ti}^{3+}$. В связи с этим интересным решением для совмещения полезных свойств ХТЗ, ПЛА и TiO_2 является синтез сополимеров D,L-лактида с титаноксидом с использованием $\text{Ti}(\text{OPr}^i)_4$ в качестве катализатора полимеризации и со(мономера) одновременно для получения смесевых композиций с ХТЗ.

Синтез сополимеров проводили при различном мольном соотношении компонентов [D,L-лактид]: $[\text{Ti}(\text{OPr}^i)_4]$. Качественный состав продукта реакции подтвержден данными ИК-спектроскопии. В очищенном образце присутствуют полосы поглощения, соответствующие валентным колебаниям $>\text{C}=\text{O}$ группы ПЛА (1720 см^{-1}). Полосы поглощения в области $864\text{--}500 \text{ см}^{-1}$ и при 1621 см^{-1} относятся к $\text{Ti}-\text{O}$ и $\text{Ti}-\text{O}-\text{Ti}$, соответственно, что, вероятно, может указывать на образование цепей поли(титаноксида) в полимере. ММ поли(D,L-лактид–титаноксида), полученного при мольном соотношении компонент [D,L-лактид]: $[\text{Ti}(\text{OPr}^i)_4] = 3: 1$, исследованная методом ГПХ, составляет $M_w = 34.0 \times 10^3$, $M_n = 18.9 \times 10^3$. Продолжительность синтеза составила 12 ч при 130°C, выход продукта – 48%. Можно предположить, что в данном случае $\text{Ti}(\text{OPr}^i)_4$ выполняет не только роль катализатора, но и одновременно встраивается в структуру цепей ПЛА. Содержание звеньев поли(титаноксида) в сополимерах, полученных при различных [D,L-лактид]: $[\text{Ti}(\text{OPr}^i)_4]$ варьировалось от 15 до 35 мас. %. На основе полученных образцов поли(D,L-лактид–титаноксида) и ХТЗ были приготовлены растворы, из которых отлиты пленки. Пленки различных

составов представляют собой прозрачные материалы, светопропускание которых в видимой области спектра превышает 70 %.

Характерно, что в данном случае в отличие от системы ХТЗ с ПЛА при совмещении их в растворе в использовании компатибилизатора нет необходимости. Можно предположить, что наличие звеньев поли(титаноксида) в сополимере препятствует образованию интерполимерного комплекса с ХТЗ.

Исследованы физико-механические свойства пленок на основе смесей ХТЗ и поли(D,L-лактид–титаноксида) (табл. 8).

Таблица 8

Разрушающее напряжение и предельная деформация пленок на основе композиций ХТЗ и сополимеров D,L-лактида с титаноксидом

Состав композиции		σ , МПа	ϵ , %
ХТЗ: поли(D,L-лактид – титаноксид)*, г/г	[D,L-лактид]: [Ti(OPr ⁱ) ₄]*		
100: 0	-	24.0 ± 1.0	1.9 ± 0.2
91: 9	1: 1	28.2 ± 1.9	4.5 ± 0.3
91: 9	2: 1	37.7 ± 2.6	3.5 ± 0.2
91: 9	3: 1	70.5 ± 3.4	6.4 ± 0.3
77: 23	1: 1	32.8 ± 1.7	2.9 ± 0.1
77: 23	3: 1	79.3 ± 4.2	6.7 ± 0.3
66.7: 33.3	1: 1	55.0 ± 3.8	4.5 ± 0.3
66.7: 33.3	3: 1	117.1 ± 8.3	7.2 ± 0.5

*мольное соотношение [D,L-лактид]:[Ti(OPrⁱ)₄] при синтезе сополимеров

Из табл. 8 видно, что величины разрушающего напряжения σ и предельной деформации ϵ пленок смесевых композиций существенно возрастают по сравнению с ХТЗ. Для пленки состава 66.7 мас. % ХТЗ + 33.3 мас. % поли(D,L-лактид – титаноксид) величина σ превышает 100 МПа при $\epsilon \sim 7$ %. Содержание звеньев поли(титаноксида) в композиции составляло 10 мас. %. Таким образом, в случае смесевых композиций ХТЗ с поли(D,L-лактид – титаноксидом) удалось добиться высоких показателей разрушающего напряжения σ . Однако величина предельной деформации пленок ($\epsilon \sim 7$ %) ниже показателей пленок блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом и смесей ХТЗ с ПЛА, содержащих компатибилизатор.

Композиция 66.7 мас. % ХТЗ + 33.3 мас. % поли(D,L-лактид–титаноксид) с самыми высокими прочностными показателями ($\sigma \sim 117$ МПа, $\epsilon \sim 7$ %) была исследована на биоразлагаемость, биосовместимость и гиппоаллергенность в опытах *in vivo* на экспериментальных животных. Образцы пленок были зашиты животным в межлопаточную область спины. Функциональное состояние организма оценивали по показателям крови. Через 7 и 21 сутки после введения имплантата у крыс забирали кровь для анализа. Выявлено, что через 7 суток количество лейкоцитов в крови крыс опытной группы статистически значимо не отличалось от показателей контрольных животных, но было выше значения интактной группы, что, по всей видимости, связано с обеспечением биорезорбируемости имплантируемой пленки. Количество лимфоцитов не уменьшалось, то есть животные не находились в состоянии стресса. Имплантация пленки не приводила к развитию аллергии и воспалительным процессам, так как количество эозинофилов и моноцитов в крови животных

оставалось на уровне контрольной. Спустя 21 сутки количество лейкоцитов, моноцитов, лимфоцитов – были практически одинаковые как у интактных, так и у опытных животных. Это свидетельствует о том, что животные не находились в состоянии стресса и не происходило гипериммунного ответа их организма на введение пленки, что дополнительно подтверждается низким содержанием продуктов перекисного окисления липидов в крови. Биоразложение пленки оценивали по изменению ее массы и размеров во времени. В процессе эксперимента часть животных забивали, пленку извлекали. Спустя 3 недели выявлено, что ее размеры уменьшились в 2 раза, а масса – в 4 раза. Спустя 4 недели пленка полностью биоутилизируется.

Исследования бактерицидных свойств пленки по отношению к культуре бактерий *Staphylococcus aureus*, которая является причиной нагноения раневой поверхности. Наблюдалось ингибирование роста бактерии на среде до 40 % при действии УФ излучения в течение 15 мин против 20 % при действии только УФ излучения. Отмечено отсутствие роста бактерий под пленкой, то есть сама пленка под действием УФ излучения приобретала бактерицидные свойства. В отсутствие УФ излучения не было отмечено ингибирования роста бактерий.

Таким образом, подтверждается эффективное бактерицидное действие пленочных образцов, содержащих поли(титаноксид), при УФ-воздействии на них, так как в этом случае происходит генерирование активных форм кислорода за счет одноэлектронного перехода $Ti^{4+} + e^- \rightleftharpoons Ti^{3+}$. Комплекс полезных свойств полученного композита определяет его перспективность в травматологии как основы тканезамещающих матриц различного назначения.

Выводы

1. Подобраны и теоретически обоснованы условия формирования однородных растворов ХТЗ и ПЛА с содержанием последнего до 50 мас. % на основании расчетов значения параметров растворимости гомополимеров как в смешанном растворителе с использованием модификаторов, так и при введении компатибилизаторов - блок-сополимеров ХТЗ с D,L-лактидом для приготовления смесевых композиций ХТЗ с ПЛА с улучшенными прочностными характеристиками.

2. Впервые методом УЗ воздействия на растворы смесей гомополимеров получены блок-сополимеры ХТЗ с D,L-лактидом, имеющие полиблочное строение с ММ блоков ПЛА от 2.9 до 22.5×10^3 в зависимости от соотношения компонентов в реакционной смеси.

3. Введение звеньев ПЛА в ХТЗ приводит к существенному улучшению физико-механических свойств блок-сополимеров по сравнению с исходным ХТЗ. Установлено, что при содержании ПЛА 16 мас. % в сополимере и максимальной ММ его блоков 22.5×10^3 материал обладает оптимальными физико-механическими характеристиками – величина разрушающего напряжения пленок $\sigma = 47$ МПа при величине предельной деформации $\varepsilon = 20$ %.

4. Получены материалы с высокой термической стойкостью на основе ХТЗ и ГА и прозрачные, гипоаллергенные, биосовместимые, биodeградируемые композиции с высокими физико-механическими свойствами, перспективные для тканевой инженерии. Величины разрушающего напряжения σ и предельной деформации ε материала на основе смеси 66.7 мас. % ХТЗ + 33.3 мас. % поли(D,L-лактид–титаноксид) составляют ~ 117 МПа и ~ 7 %, соответственно.

Список основных публикаций по теме исследования

1. **Цверова, Н.Е.** Получение и свойства композиций на основе хитозана и полилактида с использованием компатибилизаторов / **Н.Е. Цверова**, А.Е. Мочалова, А.Г. Морозов, П.А. Юнин, Л.А. Смирнова, И.Д. Гришин // *Высокомолекулярные соединения. Серия Б.* – 2015. – Т. 57. – № 3. – С. 214–219.
2. **Силина, Н.Е.** Получение блок-сополимеров хитозана и D,L-лактида под действием ультразвука. Структура и свойства / **Н.Е. Силина**, А.Г. Морозов, Е.Е. Горностаева, Л.А. Смирнова, С.Д. Зайцев // *Высокомолекулярные соединения. Серия Б.* – 2017. – Т. 59. – № 5. – С. 355–364.
3. Goryunova, P.E. Thermodynamic properties of block copolymers of chitosan with D,L-lactide / P.E. Goryunova, S.S. Sologubov, A.V. Markin, N.N. Smirnova, S.D. Zaitsev, **N.E. Silina**, L.A. Smirnova // *Thermochimica Acta.* – 2018. – V. 659. – P. 19–26.
4. Salomatina, E.V. Biocompatible compositions based on chitosan and copolymer (lactide–titanium oxide) for engineering of tissue substitutes for wound healing / E.V. Salomatina, I.R. Lednev, **N.E. Silina**, E.A. Gracheva, A.S. Koryagin, O.N. Smirnova, M.K. Gorshenin, L.A. Smirnova // *Polymer Bulletin.* – 2019. – P. 1–19. Published Online: 29 October 2019. doi.org/10.1007/s00289-019-03007-3.
5. Патент RU Способ получения композиционных рассасывающихся материалов на основе хитозана и полилактида / Л.А. Смирнова, А.Е. Мочалова, **Н.Е. Цверова**, И.Л.Федюшкин, А.Г. Морозов, В.М. Карюк, А.В. Мальков. – №2540468; Заявл. 06.11.2012; Опубл. 10.02.2015; Бюл. № 4–6 с.
6. **Tsverova, N.E.** Thermophysical and mechanical properties of poly(chitosan-b-lactide) / **N.E. Tsvetova**, A.E. Mochalova, A.G. Morozov, I.L. Phedushkin, A.V. Markin, A.S. Koryagin, L.A. Smirnova // *The 10-th International Conference of the European Chitin Society (EUCHIS'11). Program and Abstracts, Saint-Petersburg.* – 2011. – P. 157–158.
7. **Цверова, Н.Е.** Биосовместимые и биоразлагаемые материалы на основе хитозана и полилактида / **Н.Е. Цверова**, А.Е. Мочалова, Л.А. Смирнова, А.С. Корягин, Д.В. Павлов // *IV Съезд биофизиков России. Симпозиум III «Физика – медицине и экологии». Материалы докладов, Нижний Новгород.* – 2012. – С. 239.
8. **Цверова, Н.Е.** Блок-сополимеры хитозана с лактидом. Структура и свойства / **Н.Е. Цверова**, А.Е. Мочалова, А.Г. Морозов, И.Л. Федюшкин, А.В. Маркин, Л.А. Смирнова, О.Н. Смирнова, Н.Н. Смирнова // *XI международная конференция «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана»: сборник тезисов докладов, Мурманск, ПИНРО.* – 2012. – С. 116.
9. Smirnova, N.N. The thermodynamic properties of biodegradable copolymers of chitosan-poly lactide / N.N. Smirnova, Yu.A. Plutsova, S.S. Sologubov, L.A. Smirnova, **N.E. Tsvetova** // *XIV International Conference on Thermal Analysis and Calorimetry in Russia (RTAC-2013). Book of abstracts, Saint-Petersburg.* – 2013. – P. 323.
10. **Цверова, Н.Е.** Биоразлагаемые материалы на основе хитозана и полилактида / **Н.Е. Цверова**, Л.А. Смирнова, А.Е. Мочалова, А.В. Маркин, О.Н. Смирнова // *VI Всероссийская Каргинская конференция «Полимеры -2014»: сборник тезисов докладов, Москва.* – 2014. – С. 549.
11. Gorunova, P.E. Thermochemical characteristics of copolymers of chitosan and polylactide / P.E. Gorunova, V.N. Larina, N.N. Smirnova, **N.E. Tsvetova** // *XX International Conference on Chemical Thermodynamics in Russia. Book of abstracts, Nizhni Novgorod.* – 2015. – P. 108.
12. Горюнова, П.Е. Термохимия хитозана и его сополимеров с

полилактидом / П.Е. Горюнова, В.Н. Ларина, Н.Н. Смирнова, **Н.Е. Цверова** // Восемнадцатая конференция молодых учёных-химиков Нижегородской области: сборник тезисов докладов, Нижний Новгород. – 2015. – С. 84.

13. **Tsverova, N.E.** Blend compositions of chitosan with polylactide / **N.E. Tsverova**, L.A Smirnova., A.E. Mochalova // 11th International Saint-Petersburg Conference of Young Scientists «Modern problems of polymer science». Book of abstracts, Saint-Petersburg. – 2015. – P. 88.

14. Gorunova, P.E. Thermodynamic characteristics of chitosan-polylactide copolymers P.E. Gorunova, A.V. Markin, N.N. Smirnova, **N.E. Tsverova** // 12th International Saint-Petersburg Conference of Young Scientists «Modern problems of polymer science». Book of abstracts, Saint-Petersburg. – 2016. – P. 107.

15. Bulanov, E.N. Towards to new biomaterials based on hydroxyapatite/chitosan composites / E.N. Bulanov, **N.E. Silina**, A.G. Blokhina, V.Zh. Korokin, K.S. Korshak, M.I. Lelet, I.V. Ladenkov, A.V. Knyazev, L.A. Smirnova // 13th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry. Book of abstracts, Belgrade, Serbia. – 2016. – P. 605–608.

16. Bulanov, E.N. Investigation of hydroxyapatite/chitosan composites / E.N. Bulanov, **N.E. Silina**, M.I. Lelet, I.V. Ladenkov, A.V. Knyazev, L.A. Smirnova // XV Russian and International Conference on Thermal Analysis and Calorimetry RTAC-2016. Proceeding, St. Petersburg. - 2016. P. 185–187.

17. Apryatina, K.V. Synthesis and properties of block copolymers of chitosan and poly-D,L-lactide / K.V. Apryatina, **N.E. Silina**, M.K. Gorshenin, L.A. Smirnova, S.D. Zaitsev // 16th EPF European Polymer Congress. European Polymer Federation. Book of abstracts, Lyon, France. – 2017. – P. 632.