

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени
М.В.ЛОМОНОСОВА»
ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

БИОСОВМЕСТИМЫЕ АЭРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА

Курсовая работа
студента 2-го курса
Новикова И.В.

Научные руководители:
д.ф.-м.н., доцент Галлямов Марат Олегович
аспирантка Пигалёва Марина Алексеевна

Москва 2015

Введение

1.1 Объект исследования

Объектом нашего исследования является биополимер хитозан. Хитозан является производным хитина, очень распространенного в природе полисахарида, добываемого преимущественно из ракообразных. Хитозан является нетоксичным и биосовместимым с тканями живых организмов, обладает антимикробной активностью. Кроме того, хитозан широко доступен и является недорогим веществом.

Благодаря всем этим свойствам, хитозан широко применяется в медицине, биоинженерии и во многих других областях, связанных с живыми организмами. В нашей работе исследуются гели и аэрогели на основе хитозана.

1.2 Цель исследования

Целью работы является получение гидрогелей на основе хитозана, сшитых с помощью генипина и гидрогелей, сшитых с помощью ионов серебра, а также получение и сравнительное исследование аэрогелей и криогелей, образованных из гидрогелей на основе хитозана с помощью сушки диоксидом углерода в сверхкритическом состоянии (СК CO_2) и лиофильной сушки для использования данного подхода в биомедицинских приложениях.

Для того чтобы гели на основе хитозана были биосовместимыми и нетоксичными нужно использовать биосовместимые сшивающие агенты, а также биосовместимые и гипоаллергенные растворители хитозана. Поэтому в данной работе были получены гидрогели, сшитые генипином и ионами серебра, на основе хитозана, растворенного в угольной кислоте. В литературе присутствует много информации о гелях на основе хитозана, но для их получения использовались другие растворители, не в полной мере удовлетворяющие указанным выше требованиям. Поэтому такой подход совершенно новый и нуждается в экспериментальных исследованиях.

Литературный обзор

2.1 Хитозан - биосовместимый полимер

Хитозан – органическое вещество, принадлежащее классу полисахаридов. Хитозан является производным хитина – распространенного в природе биополимера, содержащегося в экзоскелете членистоногих, клеточных стенках грибов, а также в организмах многих других животных. Хитин добывается преимущественно из панцирей промысловых ракообразных[1].

Хитин представляет собой аминополисахарид, построенный из остатков N-ацетил- β -D-глюкозамина (см. Рис. 1).

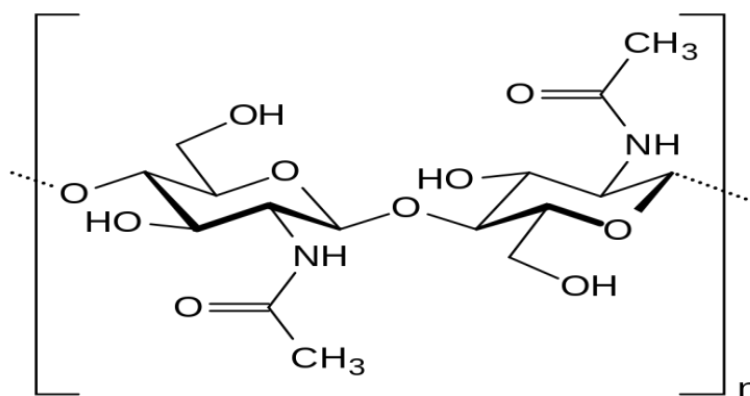


Рис. 1 Структурная химическая формула звена хитина

Хитозан получают из хитина путем полного или частичного деацетилирования (т.е. отщепления ацетильной группы) с помощью концентрированных щелочей[2]. В большинстве звеньев хитина остаток уксусной кислоты CH_3CO - замещается атомом водорода. Для получения высокодеацетилированного хитозана требуется избыток щелочи, но при таких условиях возможна деструкция полимера, поэтому на практике применяется только частичное деацетилирование[2]. Это означает, что хитозан представляет собой полимерную цепь из чередующихся случайным образом β -(1-4) D-глюкозаминовых и N-ацетил-D-глюкозаминовых звеньев или блоков из таких звеньев(см. Рис. 2). Отношение количества звеньев с аминогруппами к общему количеству звеньев в хитозане называется степенью деацетилирования.

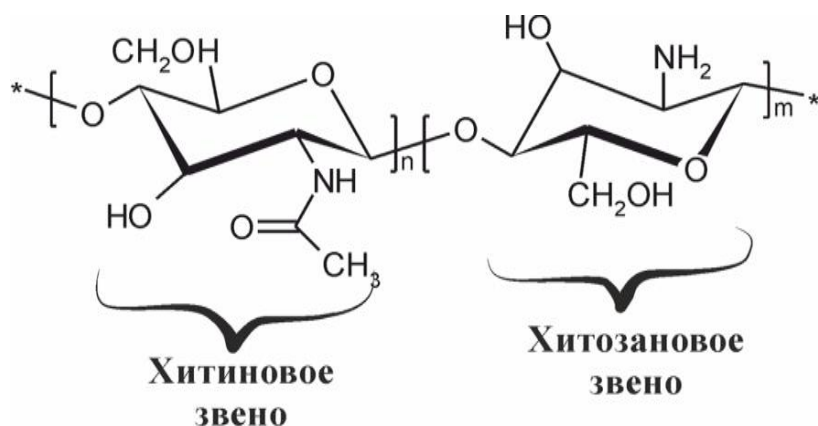


Рис. 2 Структурная химическая формула хитозана

Таким образом, хитозан имеет реакционноспособную группу - аминогруппу NH_2 -. Благодаря этому, он может связывать и удерживать ионы различных металлов[3]. Также он может образовывать большое количество водородных связей, вследствие чего способен связывать органические водорастворимые вещества. Не растворим в воде; хорошо растворяется в водных растворах кислот, в том числе и органических.

Хитозан обладает рядом уникальных физических свойств: биосовместимость, нетоксичность, антимикробная активность и другие[4,5,6]. Кроме этого, он может быть получен в различных формах, а именно: в виде гидрогеля, ксерогеля, аэрогеля, порошка, тонких пленок и многих других. Также хитозан является универсальным сорбентом[7].

Все эти особенности хитозана позволяют находить ему множество приложений в медицине, биотехнологии, биоинженерии. Так, с помощью тонких пленок на основе хитозана можно создавать защитные биосовместимые покрытия для искусственных биопротезов, в том числе искусственных клапанов сердца[8,9]. Капсулы, покрытые пленкой из хитозана можно использовать для доставки лекарств[3,6,10], а на основе аэрогеля из хитозана существует возможность создания каркасов для регенерации и роста костных клеток, поскольку известно, что хитозан способствует росту клеток и минерализации костей[11].

В медицине и фармацевтике хитозан часто используют в форме гидрогеля.

2.2 Гидрогели. Гидрогели на основе хитозана

Гель – это система полимер-растворитель, в которой существует пространственная сеть достаточно устойчивых связей нефлуктуационной природы (т.е. энергия связи молекул много больше энергии их теплового движения)[13]. Гели состоят как минимум из двух компонент - высокомолекулярная дисперсная фаза, образующая трехмерную сеть, являющуюся каркасом геля, и низкомолекулярная дисперсионная среда. Сеть могут образовывать, как и неорганические (например, диоксид кремния), так и органические соединения (полимеры и биополимеры). Дисперсионной средой может быть вода, различные биологические жидкости, спирты. Гели, дисперсионной средой которых является вода, называются гидрогелями. Иначе говоря, гидрогели – высокомолекулярные сети, набухающие в воде[12].

В связи с тем, что возможны различные определения гидрогелей, существует несколько их классификаций. Однако наиболее удобной классификацией является классификация по природе связей, образующих пространственную сетку. По ней гидрогели подразделяются на две большие группы[12,13].

1) Химические гидрогели. Они представляют собой необратимые системы с пространственной сеткой, образованной химическими связями между макромолекулами. Такие системы не способны к обратимому плавлению и гелеобразованию и разрушаются только при деструкции самого полимера. Химические гидрогели образуются различными способами: набуханием трехмерных полимеров; полимеризацией мономера в растворе в присутствии очень малого количества сшивающего агента; полимеризацией или поликонденсацией мономеров, обладающих большим количеством функциональных групп.

2) Физические гидрогели. Они представляют собой системы, пространственная сетка которых образована обратимыми связями различной природы. Такие гидрогели могут образовываться в процессе ограниченного

набухания твердых линейных полимеров или из растворов полимеров при соответствующем изменении термодинамических условий. Также гели могут быть образованы ионными взаимодействиями как в ионно-сшитых гидрогелях и полиэлектролитных комплексах, или вторичными взаимодействиями как в комплексных гидрогелях из хитозана и поливинилового спирта и в запутанных гидрогелях.

Процесс гелеобразования состоит из двух стадий. Первая стадия обуславливается возникновением узлов пространственной сетки, которое сопровождается значительным увеличением вязкости среды и появлением эластичности, а при более высоких концентрациях дисперсной фазы – возникновением упругости и утрате текучести при малых напряжениях. Во второй стадии образуется трехмерная сетка, что приводит к полной потере текучести системы[13].

Процессы образования химических и физических гидрогелей аналогичны. В обоих процессах гелеобразование обусловлено образованием узлов трехмерной сети за счет локальных взаимодействий макромолекул друг с другом.

Ограниченное набухание полимеров связано с амфифильной природой полимеров (т.е. наличием молекул одновременно как гидрофильных, так и гидрофобных свойств). Оно проявляется при термодинамических условиях, когда взаимодействие полимер-растворитель достаточно для преодоления одних контактов полимер-полимер, но недостаточно для преодоления других более прочных контактов, которые и образуют трехмерную сетку.

Сшитыми гидрогелями называются гидрогели, полимерные цепи в которых связаны между собой сшивающими агентами.

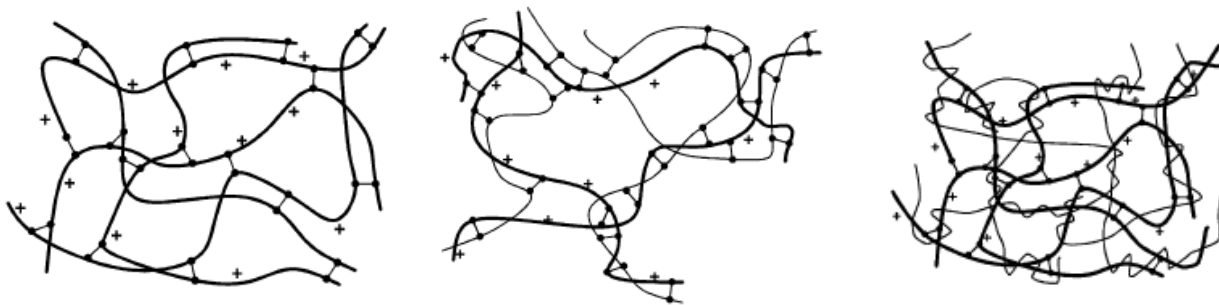


Рис. 3 Типы гелеобразования ковалентно-сшитого хитозана:

- а) гель из хитозана, сшитый сам с собой (слева); б) гибридно-полимерная цепь (в центре);
в) полу- и полностью проникающие полимерные цепи

Свойства сшитых гидрогелей зависят, в основном, от степени сшивания - отношения количества вещества сшивающего агента к количеству вещества звеньев полимерной цепи. В зависимости от природы сшивающего агента, основные взаимодействия, формирующие сеть, являются ковалентными или ионными.

Гидрогели на основе ковалентно-сшитого хитозана могут быть разделены по их структуре: гель из хитозана, сшитый сам с собой (см. Рис. 3, а), гибридная полимерная сеть (ГПС) (см. Рис. 3, б), полу- или полностью взаимопроникающие полимерные цепи (см. Рис 3, в)[12]. Самую простую структуру имеет первая группа гидрогелей. В гидрогелях, образованных гибридной полимерной сетью, реакция сшивания происходит между структурными звеньями хитозановой полимерной цепи посредством сшивающего агента. Кроме того, не исключено сшивание между звеньями одного и того же полимера. Сшивающие агенты – молекулы, которые имеют, по меньшей мере, две реакционноспособные функциональные группы, позволяющие образовывать связи между полимерными цепочками. Для хитозана наиболее используемые сшивающие агенты – это диальдегиды (глиоксали), в частности глутаровый альдегид (ГА)[14,15]. Альдегидные группы образуют ковалентные связи с аминогруппой хитозана. Эта реакция проходит без дополнительных условий в кислой среде. Однако диальдегиды считаются токсичными для человека[3,15]. ГА, к примеру, является

нейротоксичным[12]. Поэтому после реакции сшивания необходимо очистить полученный гель от остатков диальдегида.

В связи с этим, также используются альтернативные сшивающие агенты, не обладающие токсичными свойствами, то есть являющиеся биосовместимыми. Таким биосовместимым сшивающим агентом является генипин[4].

2.3 Генипин – биосовместимый сшивающий агент

Генипин - это агликон, полученный из иридоидного гликозида, называемого генипозидом. Генипозид выделяют из плодов жасминовидной гардении. Структурная формула генипина приведена на Рис. 4.

В результате многочисленных исследований было установлено, что генипин обладает противовоспалительными, противоангиогенными свойствами, применяется при нарушениях работы

печени, стимулирует выделение инсулина, что используется для лечения диабета, и многое другое[4].

Эксперименты, проведенные с желатином, сшитым с помощью генипина, показали, что генипин гораздо менее токсичен, чем глутаровый альдегид, и может быть реальной альтернативой для сшивания биоматериалов, содержащих аминокислоты[4]. После проведения ряда исследований было оценено, что генипин в 10000 раз менее токсичен, чем глутаровый альдегид [4,5].

Хитозан, как полимер, содержащий аминокислоты, может быть сшит генипином. В кислой среде механизм реакции следующий. Аминокислота хитозана осуществляет нуклеофильную атаку на олефиновый атом углерода

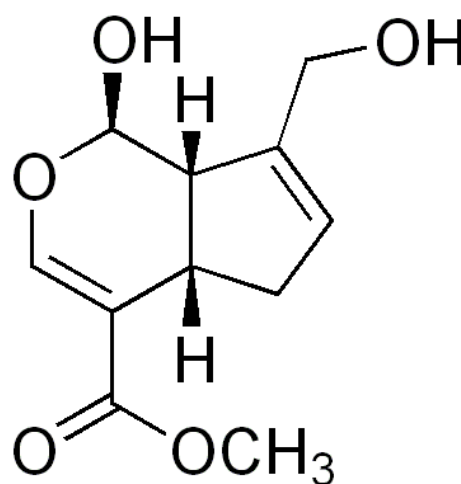


Рис. 4 Структурная формула генипина

генипина, после чего раскрывается дигидропирановое кольцо, и другая аминогруппа атакует альдегидную группу генипина (см. Рис. 5)

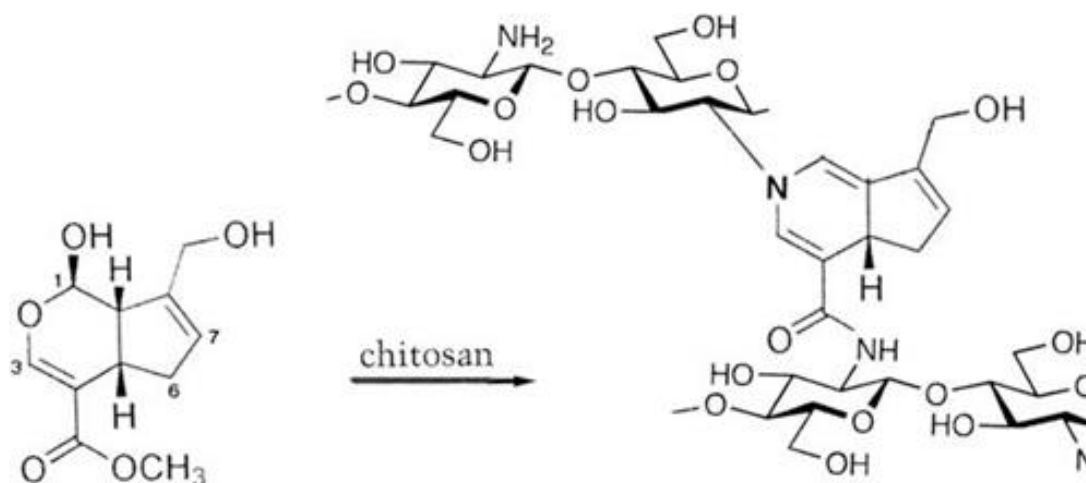


Рис. 5 Процесс сшивания хитозана генипином

Эксперименты по получению гелей на основе хитозана, образованных с помощью сшивающего агента генипина были проведены в работах [4,5,10,15]. В качестве растворителя в этих работах использовали уксусную кислоту. В результате этих работ были получены гидрогели, демонстрирующие хорошие механические свойства.

2.4 Наночастицы металлов Au и Ag как сшивающие точки.

Хитозан является хорошим поликатионом в кислых средах. Это означает, что аминогруппы хитозановых звеньев имеют положительный заряд и в силу электростатических взаимодействий могут притягивать анионы. Более того, благодаря координационным взаимодействиям между ионами металлов и цепочками хитозана может сформироваться пространственная сеть гидрогеля.

В работах [3,16] в качестве анионов использовались ионы AuCl_4^- . Для этого хитозан растворяется в золотохлористоводородной кислоте HAuCl_4 . В растворе отрицательные ионы AuCl_4^- притягиваются к положительно заряженной аминогруппе хитозана, в результате чего в системе резко понижается растворимость хитозана. Изменение цвета раствора на темно-красный свидетельствует об образовании наночастиц золота с нулевой

валентностью в гидрогеле. Вследствие сильного координационного взаимодействия аминогрупп хитозана и наночастиц золота из раствора образуется гибридный гидрогель на основе хитозана и золота, где наночастицы золота выступают в качестве сшивающего агента (в данном случае, сшивающих точек).

Подобные результаты наблюдались в работе [17], где хитозан использовали в качестве восстановителя и стабилизирующего агента для синтеза наночастиц золота и серебра. Аналогично изложенному выше процессу образования наночастиц золота из золотохлористоводородной кислоты HAuCl_4 , наночастицы серебра формировались из раствора нитрата серебра AgNO_3 .

2.5 Растворимость хитозана. Перспективный растворитель угольная кислота.

Все вышеупомянутые реакции гелеобразования протекают с растворенным хитозаном. То есть встает вопрос о растворимости хитозана: в каких средах растворяется, и при каких условиях.

Хитозан не растворяется в воде при нейтральных значениях pH. Зато, в отличие от хитина, который не растворяется практически ни в каких средах, хитозан достаточно хорошо растворяется в кислых водных средах с pH меньше 6. Кроме показателя кислотности существуют другие условия, от которых зависит растворимость хитозана: степень его ацетилирования, расположение ацетильных групп в полимерной цепи, природа растворителя. Известно, что хитозан хорошо растворим в некоторых органических кислотах, таких как муравьиная, пропионовая, молочная кислоты. Также хорошо растворим хитозан и в разбавленной уксусной кислоте (концентрация около 1%), которая является наиболее часто используемой. Кроме того, хитозан растворим в таких неорганических кислотах, как разбавленные соляная и азотная кислота. Однако он не растворяется в лимонной, щавелевой и янтарной органических кислотах, а также не растворим в серной и фосфорной кислотах[19,20,21].

Известно, что в наше время существует проблема гиперчувствительности человека. Поэтому для медицинских приложений важно найти растворитель, который был бы гипоаллергенным. Также для медицинских приложений необходим биосовместимый растворитель, причем, желательно, проявляющий антимикробную активность. Гель из хитозана должен иметь особую чистоту, то есть не иметь никаких остаточных следов потенциально аллергенного растворителя. Под эти требования подходит растворитель угольная кислота.

Угольная кислота – слабая двухосновная неорганическая кислота с химической формулой H_2CO_3 . При атмосферном давлении неустойчива. Раствор угольной кислоты получается путем растворения в воде углекислого газа под давлением:



Равновесие в правую сторону смещается при повышении давления и понижении температуры.

Растворимость хитозана в угольной кислоте объясняется следующим образом. Когда вода насыщается жидким углекислым газом при достаточно высоком давлении, рН среды снижается до значений меньших 3[22]. В такой кислой среде макромолекулы хитозана становятся протонированными, т.е. аминогруппы хитозана приобретают положительный заряд. Хитозан становится полиэлектролитом и поэтому растворяется в угольной кислоте.

Ключевой особенностью в использовании угольной кислоты является возможность контролировать кислотность среды, а значит, и ее растворяющую способность, не используя никакие дополнительные химические реагенты, а изменяя только физические параметры – давление и температуру. Таким образом, после создания геля не требуется дополнительной нейтрализации кислой среды, удаления солей или растворителя. Достаточно понизить давление, и угольная кислота разлагается обратно на биосовместимые углекислый газ и воду[21,23]. Таким образом,

угольная кислота является очень перспективным растворителем для применения в медицине, который будет использован в этой работе.

2.6 Аэрогели. Аэрогели на основе полисахаридов и, в частности, на основе хитозана.

Не существует единого определения аэрогелей. ИЮПАК (Международный союз теоретической и прикладной химии) определил понятие аэрогель как «гель, состоящий из микропористого твердого вещества, в котором дисперсионная среда представляет собой газ»[24]. В других определениях несколько по-другому понимается трехмерная сеть, являющаяся каркасом аэрогеля. Но общей чертой всех формулировок является то, что во всех них аэрогель определяется через понятие геля, так как почти все аэрогели были получены из гелей с помощью определенных методов сушки.

Следует выделить особенности аэрогелей, связанные с их молекулярным строением и физическими свойствами. С точки зрения структуры аэрогели характеризуется следующими особенностями: гелеобразная структура, наноразмерные связанные каркас и поры, способность образовывать макроскопический монолит. Таким образом, аэрогель представляет собой тип материала, имеющий вид трехмерной сети состоящей из наночастиц или полимерных молекул.

В связи с такой необычной структурой, аэрогели имеют ряд отличительных физических свойств. Во-первых, его плотность. Плотность аэрогеля может варьироваться от 1000 кг/м^3 , что соответствует твердым телам и жидкостям, до 1 кг/м^3 , что соответствует газам. То есть, несмотря на то, что аэрогели, как и твердые тела, имеют постоянные объем и форму, по плотности они являются промежуточными состояниями между твердыми телами и газами, что, разумеется, сильно сказывается на их свойствах.

Во-вторых, как следствие такой плотности, аэрогели обладают такими уникальными физическими свойствами, как сверхнизкая теплопроводность, сверхнизкий модуль упругости, сверхнизкая диэлектрическая постоянная,

сверхнизкая скорость звука, очень широкий диапазон регулируемой плотности и показателя преломления, большая площадь поверхности и сверхвысокая пористость[24,25]. Учитывая все эти особенности, аэрогели можно рассматривать не только как специфический тип материала, но и как агрегатное состояние вещества[24].

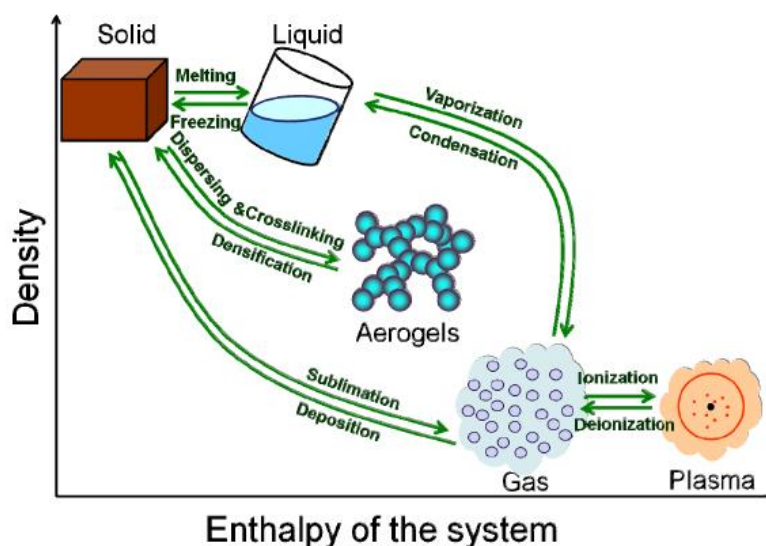


Рис. 6 Агрегатные состояния вещества работа (из

Аэрогели можно классифицировать несколькими способами. Например, по внешнему признаку – монолит, порошок, пленка; по способу получения – ксерогель, криогель, непосредственно сам аэрогель в понимании данного выше определения; по структуре – микропористый (<2нм), мезопористый (2~50нм) и аэрогель со смешанной пористостью. Но наиболее однозначной классификацией аэрогелей является классификация по составу. В такой классификации выделяют две большие группы: однокомпонентные и композитные аэрогели. К однокомпонентным относятся оксидные (кремниевые и некремниевые), органические, углеродные, халькогенидные и некоторые другие аэрогели. К композитным – многосоставные, микро- и нанокомпозитные аэрогели и другие.

В частности, к числу органических аэрогелей относятся аэрогели на основе полисахаридов. Известны аэрогели из таких полисахаридов как хитозан, крахмал, пектин, целлюлоза, альгинат, карраген, агар-агар[26,27]. Так как все эти полисахариды являются биосовместимыми, то имеют

широкое применение в медицинских и фармацевтических приложениях. К примеру, такие аэрогели могут служить для доставки лекарств[26,27].

Приготовление аэрогелей на основе полисахаридов можно разделить на несколько этапов. Сначала полимер растворяется в определенной среде. Затем в раствор добавляется сшивающий агент, ухудшаются качества растворителя, и после этого следует процесс гелеобразования – макромолекулы сшиваются сшивающим агентом и собираются во влажный гель. Последним этапом является переход «гель-аэрогель», т.е. сушка. В этом процессе дисперсионная среда геля замещается воздухом без существенных повреждений каркаса геля.

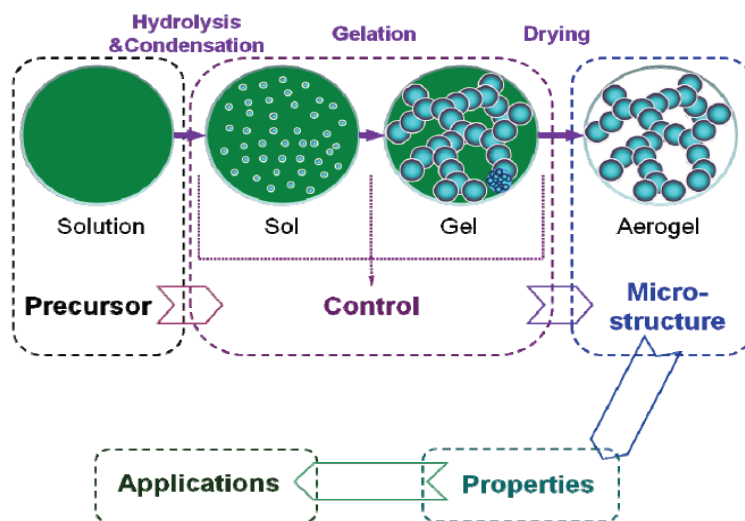


Рис. 7 Схема процесса получения аэрогеля (из работы[24])

Первые процессы уже обсуждались выше. Не оговорен был только процесс сушки гелей.

Существует много различных методов сушки. Известны такие способы проведения этого процесса как сушка сверхкритическими флюидами при высоких температурах, естественная сушка, замораживающая сушка и т.д. Естественная сушка не является приемлемой для получения многих аэрогелей, в том числе и на основе полисахаридов. При такой сушке вследствие капиллярных явлений в порах геля испаряется только малая часть жидкой дисперсной среды. Более того, из-за капиллярного давления, действующего на стенки пор, структура геля не сохраняется. Получившийся

твёрдый материал является ксерогелем, а не аэрогелем, то есть имеет физические свойства, отличающиеся от свойств аэрогеля.

Наиболее эффективным способом сушки аэрогелей на основе полисахаридов, и в том числе на основе хитозана, является сушка с помощью сверхкритических (СК) флюидов, в том числе и СК диоксида углерода CO_2 .

Сверхкритический флюид (сверхкритическая жидкость) – состояние вещества, в котором исчезает различие между жидкой и газообразной фазами. При температуре и давлении выше критических значений переход из жидкой фазы в газообразную и наоборот невозможен. В этой области и существует сверхкритический флюид. Для CO_2 значение критической температуры равно 32°C . Такая температура может быть достаточно легко создана в лабораторных условиях, и для создания СК CO_2 будет необходимо только повысить давление до 7,4 МПа. Кроме того при такой температуре изменение структуры геля минимально.

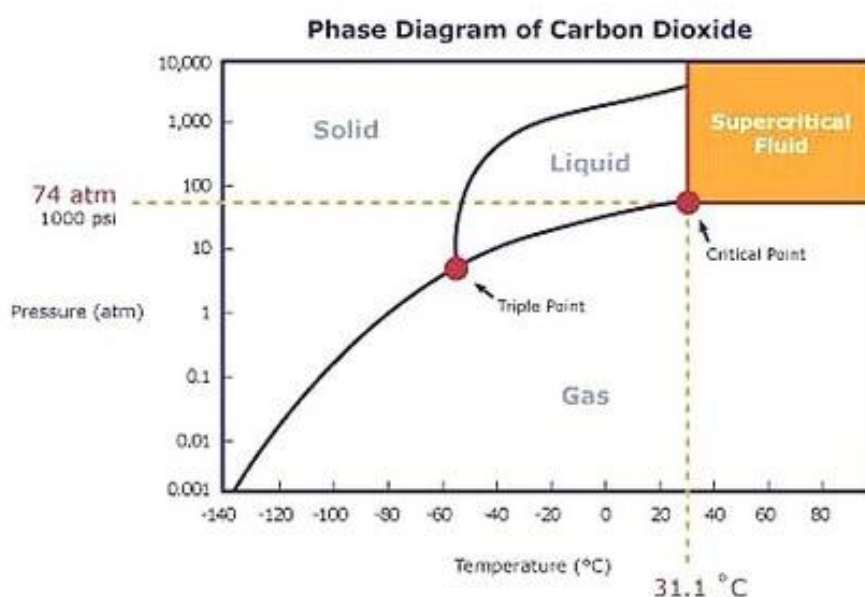


Рис. 8 Фазовая диаграмма диоксида углерода

Сушка СК флюидом включает в себя два переноса массы флюида и дисперсионной среды в пору и из поры геля. Сначала СК флюид проникает в пору геля и частично вытесняет жидкость растворителя из поры. Затем сверхкритический флюид и дисперсионная среда геля смешиваются. Поскольку силы поверхностного натяжения при таких условиях отсутствуют,

смесь выходит из поры. При этом не происходит явления коллапса поры в структуре геля при удалении растворителя из геля.

Другим методом сушки гелей, сохраняющей его структуру, является метод лиофильной сушки. Он включает в себя обезвоживание геля за счет возгонки жидкости из твердого состояния (лед) сразу в пар, избегая фазы воды, что может быть выполнено только в условиях вакуума. Таким образом, при таком способе сушки мы также избегаем влияния капиллярных сил на структуру геля.

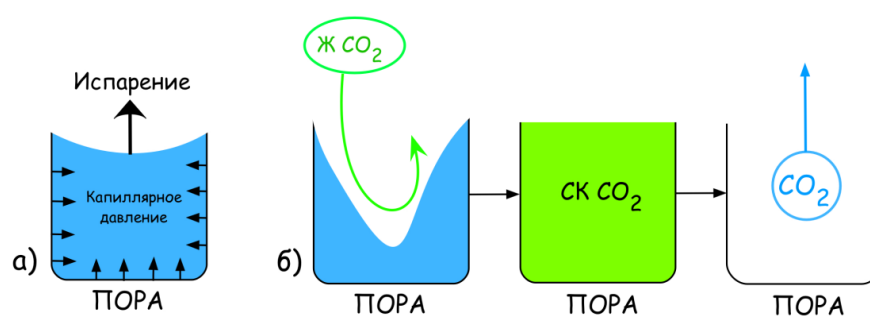


Рис. 9 Схема процесса сушки гидрогелей

а) естественная сушка, б) сушка с помощью СК CO_2

В работе [27] был проведен комплекс экспериментов по получению аэрогелей методом сушки сверхкритическим флюидом CO_2 из различных полисахаридов, в том числе и хитозана. Были получены аэрогели на основе альгинатов, каррагена и хитозана, обладающие свойствами, удовлетворяющими большинству требований для гетерогенных катализаторов. В работах [30, 31, 32] из хитозанового геля, сшитого глутаровым альдегидом, получили аэрогель также методом сушки СК CO_2 , который был исследован на адсорбцию, в результате чего было показано, что полученный аэрогель является хорошим сорбентом. В работах [28,29] экспериментально были получены композитные гели на основе хитозана и диоксида кремния. В работе [29] методом сверхкритической сушки, а в работе [28] - криогель методом лиофильной сушки. Было показано, что такие аэрогели обладают уникальными механическими свойствами (высокая пористость, низкая плотность, высокая прочность). Также было исследовано,

что количественное соотношение хитозана и кремния в геле сильно влияет на физические свойства материала. В работе [19] был получен композитный аэрогель из хитозана и диоксида кремния с наночастицами серебра и золота.

Таким образом, из гидрогеля на основе хитозана и других полисахаридов может быть получен аэрогель, что и будет исследовано в этой работе.

Экспериментальная часть

3.1 Материалы

В работе использовались образцы хитозана, генипина и нитрата серебра поставки производства Sigma-Aldrich (США). Также мы использовали воду, очищенную на установке Millipore Milli-Q Synthesis, приготовленную непосредственно перед каждым экспериментом.

3.2 Экспериментальная установка

Экспериментальная установка (см. Рис. 10) была разработана для растворения хитозана в угольной кислоте с последующим его гелеобразованием. Установка состоит из поршневого генератора давления с электронным управлением, механического манометра, баллона с углекислым газом, и мини-автоклава-кюветы. Генератор соединен с реактором высокого давления объемом 10 мл (мини-автоклавом-кюветой) через систему капилляров и вентилях. Механический манометр отслеживает давление в реакторе высокого давления. Ввод и вывод углекислого газа в и из баллона контролируется вентилями.

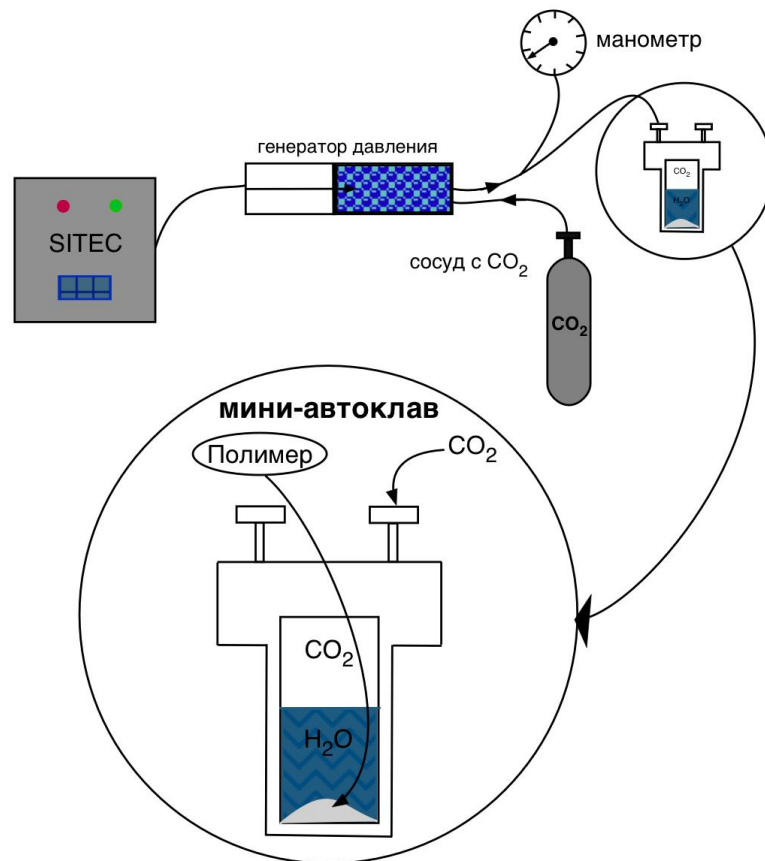


Рис. 10 Схема экспериментальной установки

3.3 Растворение хитозана в угольной кислоте и формирование гидрогелей

Растворение хитозана в угольной кислоте проводилось следующим образом. Мы измеряли вес порошка хитозана на весах Sartorius CP225D с воспроизводимостью 0.02 мг. Затем добавляли хитозан в кювету. После этого аналогичным образом взвешивали порошок генипина и помещали его в реактор. Потом в реактор добавляли 5 мл воды, после чего реактор закрывали, герметизировали и впускали в систему сжиженный углекислый газ и повышали давление в реакторе до 300 атм. После чего на два дня ставили кювету на магнитную мешалку с целью получить более однородный гель, а затем реактор помещался в термостатический шкаф еще на пять дней для эффективного формирования сшивок.

То же самое мы производили с другим реактором, но с тем отличием, что вместо генипина в реактор добавляли порошок нитрата серебра.

Для формирования геля, сшитого генипином, в эксперименте мы брали 150 мг хитозана, 2,6 мг генипина, следуя известному из литературы

подходу[33]. Для геля, сшитого серебром – 50 мг хитозана и 11 мг нитрата серебра, т.е. в мольном соотношении 1 моль серебра к 5 молям.

Экспозицию мы завершали также при комнатной температуре посредством медленной декомпрессии, порядка 3 минут. Затем вынимали из реакторов полученные образцы гелей.

3.4 Лиофильная сушка

Полученные образцы гидрогелей выкладывались на тефлоновые чашки, заливались водой, замораживались с помощью жидкого азота и затем высушивались на установке Alpha 1-2 LD, Christ (Германия).

Результаты и их обсуждение

В результате выполнения работы нами были получены образцы двух гелей на основе хитозана: гель, сшитый генипином и гель, сшитый ионами серебра. Полученные образцы являются гелями, поскольку они не обладают свойством текучести и имеют постоянную форму и объем, что не характерно для жидкостей (см. Рис. 11).



Рис. 11 Образцы гидрогеля, сшитого ионами серебра (слева), и гидрогеля, сшитого генипином (справа)

Механические свойства гидрогеля, сшитого генипином, оказались лучше, чем у гидрогеля, сшитого ионами серебра. Гидрогель, сшитый ионами серебра, был более бесформенным и жидким, по сравнению с гидрогелем, сшитым генипином. Для планируемого в дальнейшем исследования структуры полученных гелей с помощью сканирующего электронного

микроскопа (СЭМ) мы приготовили из них криогели методом лиофильной сушки. Полученные образцы показаны на Рис. 12

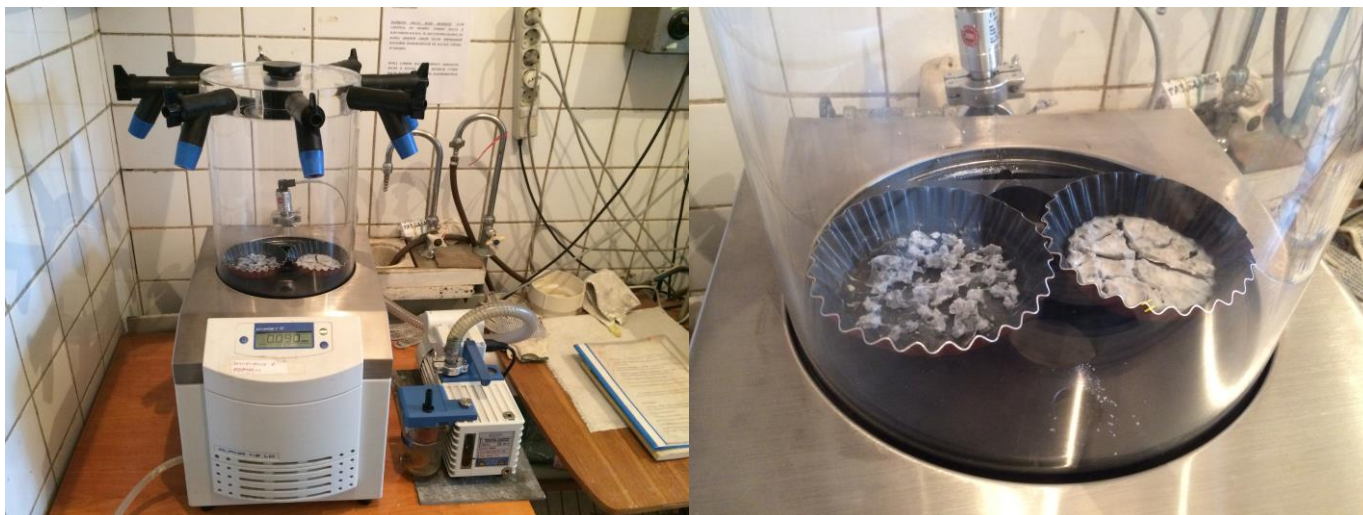


Рис. 12 Образцы криогелей

В качестве дальнейшего развития работы планируется провести систематические исследования структуры гелей методом СЭМ, а также разработать подход к созданию аэрогелей с помощью сушки сверхкритическим флюидом диоксида углерода.

Выводы

Показано, что из хитозана, растворенного в угольной кислоте, могут формироваться гидрогели на основе хитозана, сшитые генипином, и гидрогели, сшитые ионами серебра. Также продемонстрирована возможность формирования из геля, сшитого генипином, криогеля методом лиофильной сушки.

Список литературы

- [1] В.М. Быкова, Немцев В.С. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихревой, В.П. Варламова. Сырьевые источники и способы получения хитина и хитозана. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. Изд. «Наука». М. 2006, 7–23
- [2] В.М. Быкова, Немцев В.С. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихревой, В.П. Варламова. Получение хитозана. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. Изд. «Наука». М. 2006, 7–23

- [3] Rui Chen, Qi Chen, Da Huo, Yin Ding, Yong Hua, Xiqun Jiang. In situ formation of chitosan–gold hybrid hydrogel and its application for drug delivery.// *Coll. Surf. B: Biointerfaces*, 2012, 97, 132– 137
- [4] Riccardo A.A. Muzzarelli. Genipin-crosslinked chitosan hydrogels as biomedical and pharmaceutical aids.// *Carbohydr. Polym.* 2009, 77, 1–9
- [5] Kumari Rinki, P.K. Dutta. Physicochemical and biological activity study of genipin-crosslinked chitosan scaffolds prepared by using supercritical carbon dioxide for tissue engineering applications.// *Int. J. Biol. Macromol.* 2010, 46, 261–266
- [6] Riccardo A.A. Muzzarelli. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone.// *Carbohydr. Polym.* 2009, 76, 167–182
- [7] Л.Ф. Горовой, В.Н. Косяков. Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихревой, В.П. Варламова. Сорбционные свойства хитина и его производных. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. Изд. «Наука». М. 2006, 7–23
- [8] G. M. Nogueira, A. D. Rodas, R. F. Weska, C. G. Aimoli, O. Z. Higa, M. Maizato, A. A. Leiner, R. M. Pitombo, B. Polakiewicz, M. M. Beppu. Bovine pericardium coated with biopolymeric films as an alternative to prevent calcification: In vitro calcification and cytotoxicity results.// *Mater. Sci. Eng. C.* 2010, 30, 575–582
- [9] J. Chanda. Anticalcification treatment of pericardial prostheses.// *Biomaterials* 1994, 15 (6), 465–469
- [10] Fwu-Long Mi, Shin-Shing Shyu, Chin-Kang Peng. Characterization of ring-opening polymerization of genipin and pH-dependent cross-linking reactions between chitosan and genipin.// *J. Polym. Sci. Part A: PolymChem.* 2005, 43, 1985–2000
- [11] Jayachandran Venkatesan, P. Angelin Vinodhini, Prasad N. Sudha, Se-Kwon Kim. Chitin and chitosan composites for bone tissue regeneration.// *Adv. Food Nutrition Res.*, 2014, 73, 59-81

- [12] J. Berger, M. Reista, J.M. Mayer, O. Felt, N.A. Peppas, R. Gurny. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications.// *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004, 57, 19–34
- [13] Л.З. Роговина, Г.Л. Слонимский. Природа студнеобразования, структура и свойства студней полимеров.// *Успехи химии.* 1974, 6, 1102-1128
- [14] E. A. Merkovich, M.-L. Carruette, V. G. Babak, G. A. Vikhoreva, L. S. Gal'braikh, and V. E. Kim. Kinetics of the initial stage of gelation in chitosan solutions containing glutaric aldehyde: viscometric study. // *Colloid J.* 2001, 63(3), 350–354
- [15] Lei Gao, Hui Gan, Zhiyun Meng, Ruolan Gu, Zhuona Wu, Ling Zhang, Xiaoxia Zhu, Wenzhong Sun, Jian Li, Ying Zheng, Guifang Dou. Effects of genipin cross-linking of chitosan hydrogels on cellular adhesion and viability.// *Coll. Surf. B: Biointerfaces.* 2014, 117, 398–405
- [16] Maria J. Hortiguela, Inmaculada Aranaz, Maria C. Gutierrez, M. Luisa Ferrer, and Francisco del Monte. Chitosan gelation induced by the in situ formation of gold nanoparticles and its processing into macroporous scaffolds.// *Biomacromolecules.* 2011, 12, 179-186
- [17] Dongwei Wei, Weiping Qian. Facile synthesis of Ag and Au nanoparticles utilizing chitosan as a mediator agent.// *Coll. Surf. B: Biointerfaces.* 2008, 62, 136–142
- [18] Shanyu Zhao, Haixun Xu, Lijiu Wangc, Pinghua Zhu, William M. Risen Jr., J. William Suggs. Synthesis of novel chitiline–silica aerogels with spontaneous Au and Ag nanoparticles formation in aerogels matrix.// *Micropor. Mesopor. Mat.* 2013, 171, 147–155
- [19] Rinaudo, M., Pavlov, G., J. Desbrieres. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. // *Polymer* 1999, 40, 7029–7032.
- [20] Rinaudo, M.; Pavlov, G.; J. Desbrieres. Int. J. Polym. Solubilization of chitosan in strong acid medium. // *Anal. Charact.* 1999, 5, 267–276.

- [21] Marina A. Pigaleva, Ivan V. Portnov, Andrey A. Rudov, Inesa V. Blagodatskikh, Timofei E. Grigoriev, Marat O. Gallyamov, and Igor I. Potemkin. Stabilization of Chitosan Aggregates at the Nanoscale in Solutions in Carbonic Acid.// *Macromolecules*. 2014, 47, 5749–5758
- [22] Karen L. Toews, Robert M. Shroll, and C. M. Wai, Neil G. Smartt. pH-Defining Equilibrium between Water and Supercritical CO₂. Influence on SFE of Organics and Metal Chelates// *Anal. Chem.* 1995, 67, 4040-4043
- [23] Marat O. Gallyamov, Ivan S. Chaschin, Marina A. Khokhlova, Timofey E. Grigoriev, Natalia P. Bakuleva, Irina G. Lyutova, Janna E. Kondratenko, Gennadii A. Badun, Maria G. Chernysheva, Alexei R. Khokhlov. Collagen tissue treated with chitosan solutions in carbonic acid for improved biological prosthetic heart valves// *Mater. Sci. Eng. C*. 2014, 37, 127–140
- [24] Ai Du, Bin Zhou, Zhihua Zhang and Jun Shen. A special material or a new state of matter: a review and reconsideration of the aerogel// *Materials*. 2013, 6, 941-968
- [25] Alain C. Pierre and Gerard M. Pajonk. Chemistry of aerogels and their applications.// *Chem. Rev.* 2002, 102, 4243-4265
- [26] C.A. Garcia-Gonzalez, M. Alnaief, I. Smirnova. Polysaccharide-based aerogels—Promising biodegradable carriers for drug delivery systems.// *Carbohydr. Polym.* 2011, 86, 1425– 1438
- [27] Françoise Quignard, Romain Valentin and Francesco Di Renzo. Aerogel materials from marine polysaccharides.// *New J. Chem.*, 2008, 32, 1300–1310
- [28] Qian Ma, Yanfei Liu, Zhe Dong, Jianglang Wang, Xin Hou. Hydrophobic and nanoporous chitosan–silica composite aerogels for oil absorption.// *J. Appl. Polym. Sci.* 2015, 41770, 1-11
- [29] Michael R. Ayers, Arlon J. Hunt. Synthesis and properties of chitosan-silica hybrid aerogels.// *J. Non-Cryst. Solids*. 2001, 285, 123-127
- [30] Xinhong Chang, Dairong Chen and Xiuling Jiao. Chitosan-Based Aerogels with High Adsorption Performance// *J. Phys. Chem. B*. 2008, 112, 26

- [31] Kumari Rinki, Pradip K. Dutta, Andrew J. Hunt, Duncan J. Macquarrie, and James H. Clark. Chitosan aerogels exhibiting high surface area for biomedical application: preparation, characterization, and antibacterial study.// *Int. J. Polym. Mat.* 2011
- [32] Alfredo Ricci, Luca Bernardi, Claudio Gioia, Simone Vierucci, Mike Robitzer and Françoise Quignard. Chitosan aerogel: a recyclable, heterogeneous organocatalyst for the asymmetric direct aldol reaction in water.// *Chem. Commun.*, 2010, 46, 6288–6290
- [33] Li Cui, Junfang Jia, Yi Guo, Yun Liu, Ping Zhu. Preparation and characterization of IPN hydrogels composed of chitosan and gelatin cross-linked by genipin.// *Carbohydr. Polym.* 2014, 99, 31-38