

УДК 541.64:547(995+96)

НАБУХАНИЕ И ДЕСТРУКЦИЯ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ПЕКТИНА И ИХ МОДИФИКАЦИЙ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

© 2023 г. Р. Р. Вильданова

Уфимский институт химии Российской академии наук
450054 Уфа, пр. Октября, 71, Россия
e-mail: regina777@list.ru

Поступила в редакцию 05.10.2022 г.

После доработки 12.01.2023 г.

Принята к публикации 26.01.2023 г.

Проведено сравнение набухания и деструкции физических, а также химических гидрогелей на основе хитозана и пектина и их модификаций. Путем смешения водных растворов гидрохлорида хитозана и пектина в виде полиэлектролитного комплекса получены физические гидрогели. Химические гидрогели синтезированы за счет взаимодействия N-сукцинил хитозана и окисленного пектина в растворе с образованием поперечных связей в виде основания Шиффа. Показано, что физические гидрогели обладают относительной стабильностью в кислых и нейтральных средах, в то время как химические гидрогели в данных средах набухают в ряде случаев неограниченно. Оба вида гидрогелей подвергаются быстрой деструкции в щелочной среде.

DOI: 10.31857/S2308113923700328, EDN: PIBKJK

В последнее время гидрогели находятся в фокусе внимания исследователей благодаря высокой биосовместимости и способности сорбировать большое количество разной жидкости по причине своей уникальной структуры, образованной поперечно-сшитой сеткой гидрофильных полимеров [1–5]. Обычно для получения гидрогелей используют синтетические мономеры или полимеры. Однако сегодня активно изучаются свойства гидрогелей на основе природных полимеров, потенциально обладающих более высокой биосовместимостью, физиологической активностью, биоразлагаемостью и низкой токсичностью [6–8].

Транспортные свойства гидрогелей, среди которых набухание и деструкция, обуславливают применение материала в той или иной сфере в соответствии с потребностями. Для применения сорбентов в различных областях (медицина, сельское хозяйство и т.д.) желательны высокие степени набухания. В то время как для доставки лекарственных соединений подходят гели с низкими степенями набухания, поскольку они обеспечивают медленное высвобождение препарата из полимерной матрицы [9–12].

Цель настоящей работы — сравнение поведения в растворах физически и химически сшитых гидрогелей на основе хитозана и пектина и их модификаций.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовали гидрохлорид хитозана ($M = 40 \times 10^3$) и натриевую соль N-сукцинил хитозана ($M = 40 \times 10^3$) Закрытого акционерного общества “Биопрогресс”, яблочный пектин ($M = 26 \times 10^3$) фирмы “Unipectin” и цитрусовый пектин ($M = 70 \times 10^3$) компании “Herbstreith & Fox”.

Окисленный пектин получали периодатным расщеплением нативного пектина. В ходе реакции к водному раствору яблочного пектина с концентрацией 10 мг/мл по каплям добавляли 0.5 моль/л раствора периодата натрия при эквивалентном соотношении реагентов. Реакцию осуществляли при постоянном перемешивании в течение 4 ч и температуре 25°C. Для инактивации непрореагировавшего периодата натрия добавляли этиленгликоль и выдерживали смесь еще в течение 2 ч. Модифицированный полимер очищали диализом против дистиллированной воды в течение трех суток.

Степень деацетилирования хитозана и степень этерификации пектина устанавливали методом кислотного-основного титрования с потенциометрическим фиксированием точки эквивалентности на кулонометрическом титраторе “ТК100-В”. Степень модификации натриевой соли N-сукцинил хитозана определяли с помощью нингидринового анализа [13].

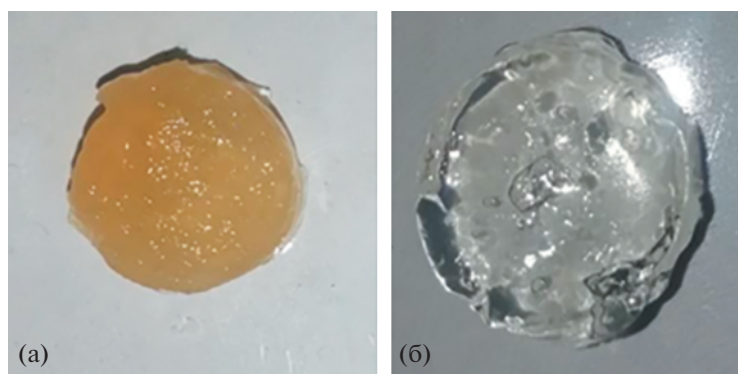


Рис. 1. Физический гидрогель на основе гидрохлорида хитозана и пектина (а), а также химический гидрогель на основе модифицированных хитозана и пектина (б).

ИК-спектры соединений снимали на спектрометре “Shimadzu IR-Prestige-21” в области 700–3600 см^{-1} (вазелиновое масло).

Молекулярную массу полимеров находили методом седиментационного равновесия с помощью ультрацентрифуги “МOM-3180” и рассчитывали по формуле

$$M_z = \frac{RT}{(1 - \nu\rho_0)\omega^2} \text{tg}\alpha$$

Здесь R – универсальная газовая постоянная, T – абсолютная температура, $(1 - \nu\rho_0)$ – Архимедов множитель, ω – угловая скорость вращения ротора ультрацентрифуги; $\text{tg}\alpha$ – угол наклона зависимости Z/X от концентрации раствора C , где X – расстояние от оси вращения ротора до точки кривой на снимке, $Z = dC/dX$ – высота градиентной кривой (градиент концентрации) в данной точке.

Физические гидрогели получали реакционным смешением гидрохлорида хитозана и пектина (путем встряхивания флакона с двумя растворами), а химические гидрогели – за счет взаимодействия натриевой соли N -сукцинил хитозана и окисленного пектина. О формировании гидрогеля судили по потере текучести системы во времени при температуре 25°C.

Коэффициент набухания $K_{\text{наб}}$ определяли гравиметрическим методом:

$$K_{\text{наб}} = \frac{m_t - m_0}{m_0},$$

где m_t и m_0 – масса равновесно набухшего гидрогеля и лиофильно высушенного гидрогеля соответственно. Гравиметрические измерения выполняли на весах “AND GR-120” (точность ± 0.1 мг). Заданную температуру при исследованиях диффузии и набухания поддерживали термостатом (точность $\pm 0.5^\circ\text{C}$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее в работе [14] путем смешения водных растворов полиэлектролитов, таких как хитозан и гиалуроновая кислота, были получены микрочастицы размером 573 нм или осадки в зависимости от концентрации и соотношения полимеров. Замена гиалуроновой кислоты на другой полиэлектролит анионной природы – пектин приводит к формированию гидрогеля мутно-желтоватой окраски (рис. 1). Гидрогелевая форма полиэлектролитного комплекса, видимо, в данном случае обусловлена тем, что взаимодействия между хитозаном и пектином более слабые, чем взаимодействия между хитозаном и гиалуроновой кислотой.

Максимальный выход гидрогеля на основе хитозана и пектина наблюдается при эквимольном соотношении полимеров, а отклонение от него ведет к неполному гелеобразованию с выделением дисперсионной среды. Поэтому для гидрогелей всегда использовалось эквивалентное соотношение полиэлектролитов. Время гелеобразования лежит в диапазоне от 5 до 15–20 секунд. Природа пектина, его ММ и степень этерификации практически не влияют на время гелеобразования, однако визуальное более упругими свойствами обладают гидрогели на основе цитрусового пектина, что связано с их большими ММ, количеством реакционноспособных карбоксильных групп и, соответственно, количеством водородных связей в полученном гидрогеле.

Физическая природа сшивок в представленных гидрогелях подтверждена данными ИК-спектроскопии. Не только спектр хитозана, но и спектры обоих пектинов характеризуются широкой полосой поглощения в области 3000–3600 см^{-1} , свидетельствующей о наличии как связей $O-H$ в полисахаридах, так и связей $N-H$ в хитозане (рис. 2). В яблочном пектине полоса при 1742 см^{-1} принадлежит валентным колебаниям $C=O$ – сложный эфир, в цитрусовом пектине данная полоса располагается при 1733 см^{-1} . В

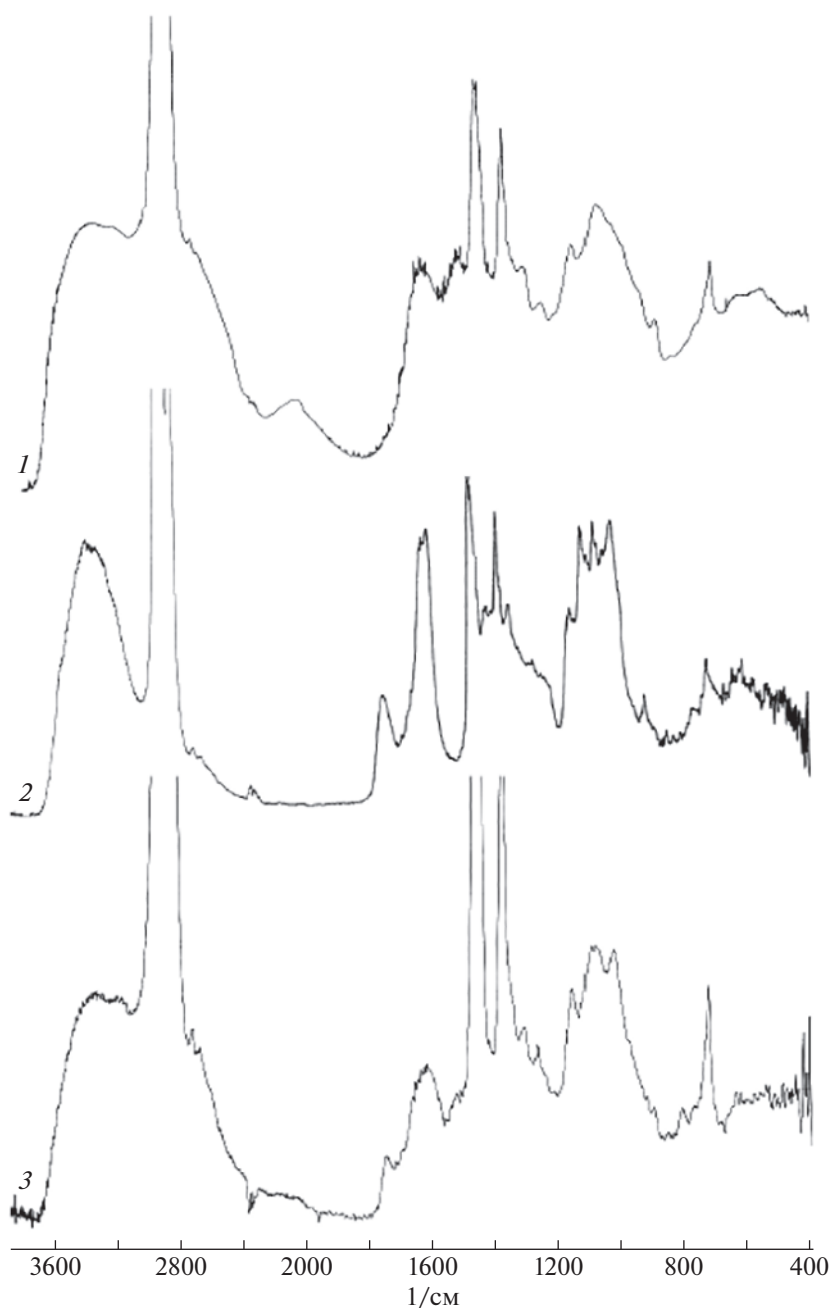


Рис. 2. ИК-спектры гидрохлорида хитозана (1), цитрусового пектина (2) и физического гидрогеля (3).

спектре хитозана полоса в области 1623 см^{-1} принадлежит группе $\text{C}=\text{O}$ первой амидной полосы ацетильного заместителя, а полоса при 1620 см^{-1} относится к антисимметричным деформационным колебаниям NH_3^+ . В ИК-спектре комплексов (гелей) наблюдаются изменения в области $1550\text{--}1800\text{ см}^{-1}$. В спектре геля на основе яблочного пектина полоса при 1742 см^{-1} смещается к 1733 см^{-1} , а в спектре геля на основе цитрусового пектина полоса, относящаяся к сложноэфирным группам при 1733 см^{-1} , смещается к 1743 см^{-1} . Полоса поглощения хитозана при 1623 см^{-1} сдвига-

ется к 1604 см^{-1} в геле на основе цитрусового пектина и к 1615 см^{-1} в геле на основе яблочного пектина. Все эти смещения полос указывают на физические взаимодействия посредством водородных связей между хитозаном и пектином. Образование гидрогеля на основе хитозана и пектина, главным образом, обусловлено формированием полиэлектролитного комплекса за счет ионных взаимодействий между положительно заряженными аммонийными группами хитозана и отрицательно заряженными карбоксилатными группами пектина, а также водородных связей

Таблица 1. Характеристики равновесного набухания физических гелей в водно-солевых растворах

Соль	Концентрация соли, моль/л	$K_{\text{наб}}$
Цитрусовый пектин		
—	—	1.5
NaCl	0.08	1.2
	0.15	1.1
	0.31	0.9
	0.15	1.4
CaCl ₂	0.15	1.4
AlCl ₃	0.15	2.7
Яблочный пектин		
—	—	4.9
NaCl	0.08	4.2
	0.15	3.9
	0.31	3.7

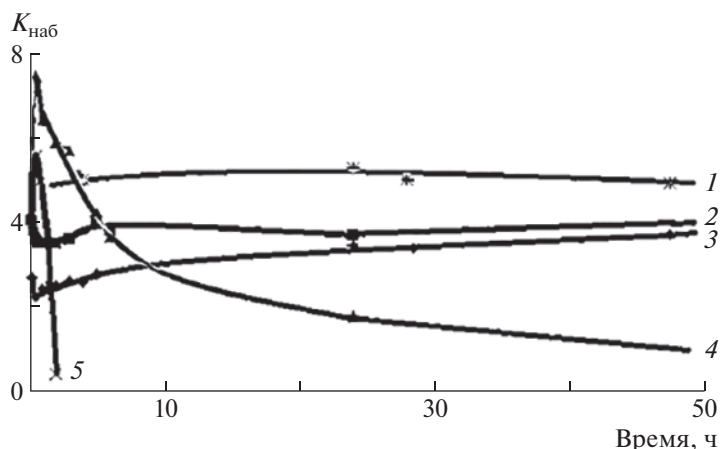
между гидрофильными группами полиэлектролитов: гидроксильными группами пектина и гидроксильными группами хитозана, карбоксильными группами пектина и гидроксильными группами хитозана, карбонильными группами пектина и хитозана, аминогруппами хитозана, гидроксильными группами пектина, аминогруппами хитозана и гидроксильными группами пектина и т.д.

При погружении физического гидрогеля в воду или водно-солевой раствор лиофилизованная матрица практически мгновенно сорбирует максимальное количество молекул воды, которая задерживается в порах ячеек полимерной сетки, вследствие чего полимер набухает, увеличиваясь в размерах. Степень набухания у гидрогеля на основе яблочного пектина больше, чем у гидрогеля на основе цитрусового пектина в ~3 раза (табл. 1). Видимо, это связано с более рыхлой полимерной

сеткой, способной сорбировать больше молекул воды ввиду меньшей молекулярной массы пектина и меньшего количества звеньев, содержащих карбоксильные группы и, соответственно, меньшего числа поперечных связей и большего размера ячеек.

Добавление соли в воду, как и ожидалось, уменьшает степень набухания гидрогеля за счет экранирующего действия ионов соли. Чтобы установить влияние природы катиона соли в растворе на набухание геля были использованы растворы хлоридов натрия, кальция и алюминия одинаковой концентрации. Установлено, что чем больше заряд катиона, тем выше степень набухания. Однако здесь стоит учитывать тот фактор, что 0.15 моль/л растворов хлорида кальция и хлорида натрия характеризуются нейтральным значением pH, в то время как 0.15 моль/л раствора хлорида алюминия имеет pH 2.9. При этом pH дисперсионной среды гидрогеля составляет 3.2–3.7, несмотря на то что растворителем полимеров служил физиологический раствор. Видимо, при погружении геля в раствор хлорида кальция или алюминия происходит уменьшение степени сшивания, увеличивается электростатическое взаимодействие между положительно заряженными аминогруппами, приводя к набуханию геля. При pH внешнего раствора ниже pK_a хитозана аминогруппы хитозана протонируются, электростатические взаимодействия между аммонийными группами способствуют набуханию геля. Наоборот, при высоком pH аммонийные группы хитозана депротонируются до аминогрупп, влияние электростатических взаимодействий ослабевает. Кроме того, причинами уменьшения степени набухания также являются водородные связи, индуцированные гидроксильными группами и аминогруппами, и “экранирующий эффект” избытка ионов во внешнем растворе.

При погружении физического гидрогеля в кислый раствор (рис. 3) его полимерная матрица

**Рис. 3.** Кинетические кривые набухания физических гидрогелей на основе гидрохлорида хитозана и яблочного пектина в дистиллированной воде (1) и натрий-фосфатных буферах с pH 6.4 (2), 5.8 (3), 7.4 (4) и 8.0 (5).

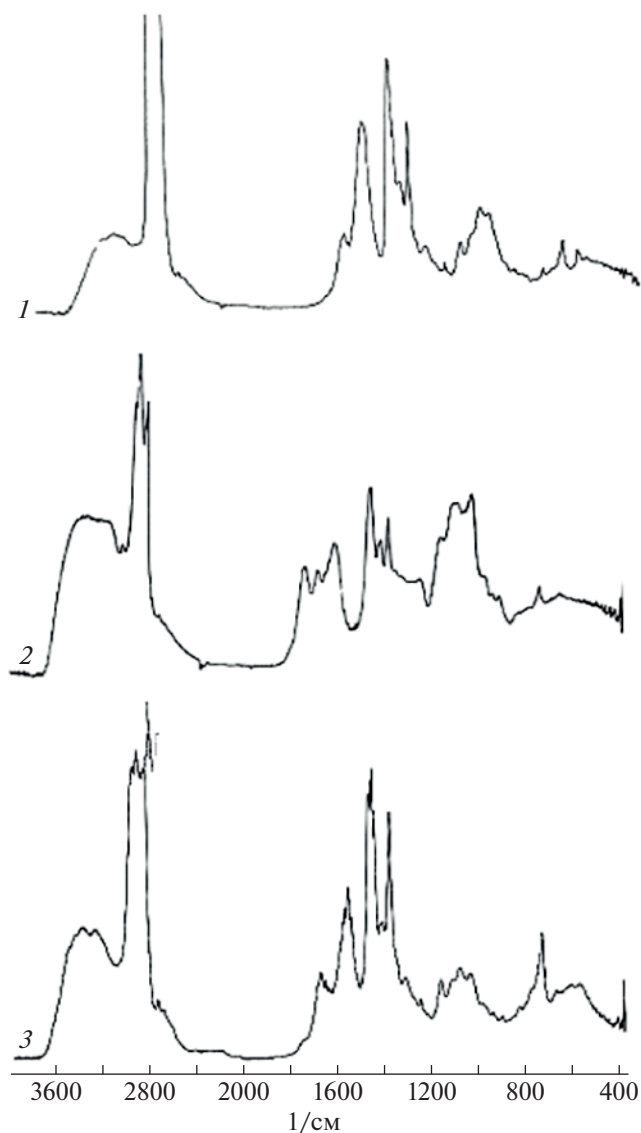


Рис. 4. ИК-спектры N-сукцинил хитозана (1), яблочного пектина, окисленного в течение 4 ч (2), и химического гидрогеля (3).

остаётся стабильной несколько суток, деструкции не наблюдается. Вместе с тем в щелочной среде (рН 8) физический гидрогель на основе хитозана и пектина растворяется в течение первого часа. При подкислении раствора до рН 7,4, как видно на рис. 3, деструкция замедляется.

Для получения химических гидрогелей была проведена реакция образования Шиффа за счёт взаимодействия аминогрупп хитозана и альдегидных групп пектина. В ИК-спектре пектина, окисленного в течение 4 ч (рис. 4), характеристический пик C—ОН при 1071 см^{-1} становится слабее, чем в спектре нативного пектина, что связано с уменьшением количества гидроксильных групп, а полоса при $1743\text{--}1733\text{ см}^{-1}$, характеризующая группы C=O, становится более интенсив-

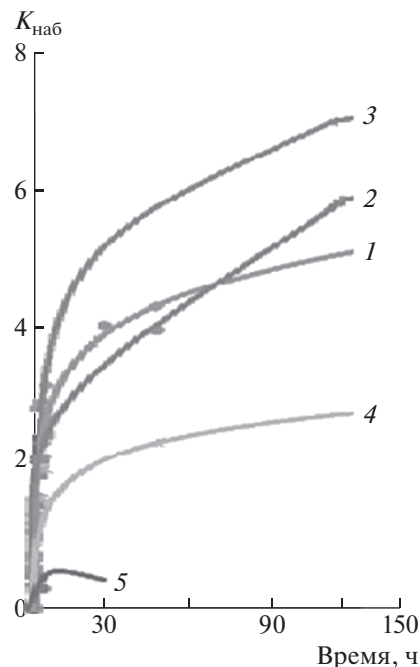


Рис. 5. Кинетические кривые набухания химических гидрогелей на основе модифицированных хитозана и пектина в дистиллированной воде (1), 0,15 моль/л растворе NaCl (2) и натрий-фосфатных буферах с рН 5,8 (3), 7,4 (4) и 8,0 (5).

ной, что связано с заменой вицинальных гидроксильных групп на альдегидные. В ИК-спектре геля на основе N-сукцинил хитозана и окисленного пектина полоса в области $1733\text{--}1734\text{ см}^{-1}$ ослабевает и появляется полоса при 1639 см^{-1} , относящаяся к деформационным колебаниям иминной связи, что свидетельствует о завершении основной реакции Шиффа и является доказательством химического сшивания полимеров. Таким образом, химические гидрогели на основе N-сукцинил хитозана и окисленного пектина образуются, с одной стороны, за счёт ковалентных связей между аминогруппами хитозана и альдегидными группами окисленного пектина, а с другой — за счёт формирования полиэлектролитных комплексов хитозан—пектин в результате ионных взаимодействий между аммонийными группами хитозана и карбоксилатными группами окисленных пектинов и множества водородных связей.

При смешении водных растворов гидрохлорида хитозана и окисленного пектина видимых изменений в системе не наблюдается, в то время как взаимодействие натриевой соли N-сукцинил хитозана и окисленного пектина в изотоническом фосфатном буфере (рН 7,4) приводит к формированию прозрачного гидрогеля (см. рис. 1) в течение 1–2 мин.

На рис. 5 видно, что химические гидрогели набухают медленнее, чем физические гидрогели на основе хитозана и пектина. В кислой среде хими-

ческие гидрогели набухают сильнее, чем в щелочном растворе. За счет химической сшивки стабильность гидрогелей на основе модифицированных хитозана и пектина в средах с различными значениями pH увеличивается.

Работа выполнена в рамках Госзадания по теме № 122031400276-8.

Анализы выполнены на оборудовании Центра коллективного пользования “Химия” и “Агидель” Уфимского института химии Уфимского федерального исследовательского центра РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Valuev I.L., Vanchugova L.V., Gorshkova M.Y., Sivov N.A., Valuev L.I.* // *Polymer Science B.* 2021. V. 63. № 4. P. 404.
2. *Kovylin R.S., Fedushkin I.L., Aleynik D.Y.* // *Polymer Science C.* 2021. V. 63. № 1. P. 29.
3. *Sultanova E.M., Oripova M.Z., Oshchepkova Y.I., Salikhov S.I.* // *Pharmaceut. Chem. J.* 2020. V. 54. № 5. P. 514.
4. *Ahmed E.M.* // *J. Advanced Res.* 2015. V. 6. № 2. P. 105.
5. *Guo Y., Bae J., Fang Z., Li P., Zhao F., Yu G.* // *Chem. Rev.* 2020. V. 120. № 15. P. 7642.
6. *Patel P., Thareja P.* // *Eur. Polym. J.* 2022. V. 163. P. 110935.
7. *Mahmood A., Patel D., Hickson B., DesRochers J., Hu X.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 3. P. 1415.
8. *Ebhodaghe S.O.* // *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomat.* 2022. V. 71. № 3. P. 155.
9. *Sheth S., Barnard E., Hyatt B., Rathinam M., Zustiak S.P.* // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2019. V. 7. P. 410.
10. *Bordbar-Khiabani A., Gasik M.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 7. P. 3665.
11. *Vigata M., Meinert C., Hutmacher D.W., Bock N.* // *Pharmaceutics.* V. 12. № 12. P. 1188.
12. *Pertici V., Pin-Barre C., Rivera C., Pellegrino C., Laurin J., Gignes D., Trimaille T.* // *Biomacromolecules.* 2019. V. 20. № 1. P. 149.
13. *Немцев С.В., Быкова В.М., Ежова Е.А., Лопатин С.А.* // Матер. VIII Международ. конф. “Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана”. М.: Всеросс. науч.-иссл. ин-т рыбного хозяйства и океанографии, 2006. С. 109.
14. *Gurina M.S., Vil'danova R.R., Badykova L.A., Vlasova N.M., Kolesov S.V.* // *Russ. J. Appl. Chem.* 2017. V. 90. № 2. P. 219.