

УДК 541(64+49).547.458.8

## РОЛЬ БЛОЧНОЙ СТРУКТУРЫ АЛЬГИНАТА В ФОРМИРОВАНИИ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КОМПЛЕКСОВ С КАТИОННЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ ГИДРОКСИЭТИЛЦЕЛЛЮЗЫ

© 2006 г. Ю. А. Щипунов\*, И. В. Постнова\*\*

\*Институт химии Дальневосточного отд. Российской академии наук  
690022 Владивосток, пр. 100 лет Владивостоку, 159\*\*Дальневосточный государственный университет  
690950 Владивосток, ул. Суханова, 8

Поступила в редакцию 02.02.2005 г.

Принята в печать 02.09.2005 г.

Показано, что блочная структура альгината существенно сказывается на механизме формирования и свойствах его водорастворимых полиэлектролитных комплексов с катионными производными гидроксииэтилцеллюзы. Альгинат, содержащий остатки одной только маннуроновой кислоты, остается в растворе в виде клубков, а введение в макромолекулу остатков гулуроновой кислоты приводит к формированию сетчатой структуры. Обнаруженное отличие в структуре полиэлектролитных комплексов объяснено различной жесткостью блоков, образованных остатками маннуроновой и гулуроновой кислот, отличающихся конформацией пиранозного цикла.

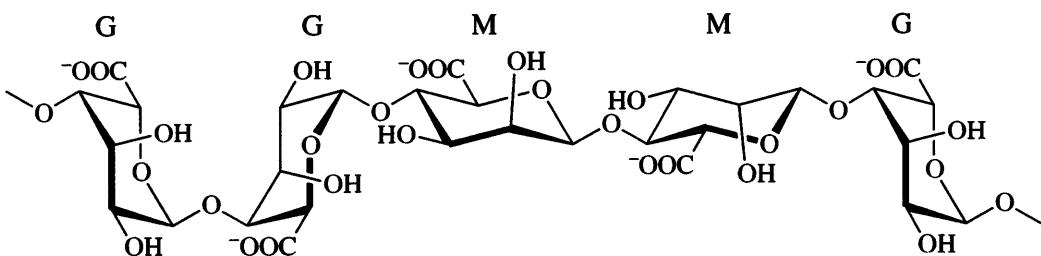
### ВВЕДЕНИЕ

Альгинат натрия, являясь анионным полиэлектролитом природного происхождения, в водных растворах ассоциирует с противоположно заряженными (био)полимерами, образуя полиэлектролитные комплексы (ПЭК). Это свойство достаточно широко используется при формировании оболочек микрокапсул. В качестве катионных полиэлектролитов часто выступают хитозан и полилизин. Они образуют нерастворимые ПЭК, что обусловливает формирование устойчивой оболочки при микрокапсулировании [1–5].

Наши исследования комплексообразования альгината с катионными производными гидроксииэтилцеллюзы (ГОЭЦ) показали, что наряду с нерастворимыми ПЭК могут формироваться и

растворимые, что определяется соотношением концентраций противоположно заряженных полисахаридов в смеси [6]. Было проведено детальное изучение фазового поведения и реологических свойств растворов растворимых комплексов, условий их образования, роли катионного производного, влияния плотности заряда на его макромолекуле и гидрофобного заместителя.

Зависимость механизма формирования и свойств ПЭК с катионными производными ГОЭЦ от структуры альгината натрия не рассматривалась, хотя представляет значительный интерес с той точки зрения, что данный полисахарид является природным блочным сополимером [7–12]. Он состоит из двух уроновых кислот –  $\beta$ -D-маннуроновой (M) и  $\alpha$ -L-гулуроновой (G):



E-mail: YAS@ich.dvo.ru (Щипунов Юрий Анатольевич).

## Характеристики образцов альгината натрия

Образец	$M$	$F_M$	$F_G$	$F_{MM}$	$F_{MG}$	$F_{GM}$	$F_{GG}$
Маннуронат	$3 \times 10^4$	1	0	1	0	0	0
Альгинат	$3.5 \times 10^4$	0.67	0.33	0.41	0.26	0.26	0.07

Примечание.  $F_M$  и  $F_G$  – относительное содержание остатков маннуроновой и гулуроновой кислот;  $F_{MM}$  и  $F_{GG}$  – относительное содержание MM- и GG-блоков;  $F_{MG}$  и  $F_{GM}$  – относительное содержание пар звеньев, в которых чередуются остатки маннуроновой и гулуроновой кислот.

Его образцы, полученные из разных источников, различаются соотношением мономеров M и G, а также их распределением вдоль полимерной цепи, чем и объясняется разнообразие полисахарида в природе. Показано [7–12], что распределение мономерных звеньев в макромолекулах альгиновой кислоты и ее солей носит блочный характер, причем имеются блоки из остатков кислот только M или G (MM- и GG-блоки), а также участки, построенные из остатков обеих кислот с их более или менее строгим чередованием (MG-блоки).

Различие в конформации пиранозного цикла уроновых кислот обусловливает существенную разницу в свойствах MM- и GG-блоков. Она наиболее ярко проявляется в комплексообразовании с катионами щелочноземельных металлов [7–12]. Комплексы образуют только GG-блоки. Влияние блочной структуры альгината на формирование ПЭК с (био)полимерами до настоящего времени не изучалось, но в работе [4] отмечено, что формирование оболочек микрокапсул с хитозаном зависело от соотношения MM- и GG-блоков в макромолекуле полисахарида.

Цель настоящей работы – изучение влияния блочного состава альгината натрия на формирование и свойства водорастворимых ПЭК альгината с катионным производным ГОЭЦ. Для ее достижения были взяты образцы полисахарида с различным соотношением остатков кислот M и G.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Катионное производное гидроксиэтилцеллюлозы, содержащее глицидилтриметиламмоний хлорид  $-\text{CH}_2-\text{CHON}-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ , получено от фирмы "Hoechst" (Германия). Оно имело  $M = 9.5 \times 10^5$  и степень замещения катионным заместителем в пересчете на остаток  $\beta$ -D-глюкопиранозы, равную 0.1.

Один из образцов альгината натрия содержал остатки только маннуроновой кислоты, а второй – остатки как маннуроновой, так и гулуроновой кислот. Они далее называются как маннуронат и альгинат соответственно. MM образцов альгината натрия определена вискозиметрическим методом. Характеристики образцов, а также их состав представлены в таблице.

Блочный состав альгинатов был установлен с помощью спектрометрии высокого разрешения ЯМР  $^1\text{H}$  (ЯМР спектрометр "Bruker") на частоте 600 МГц в Университете г. Байройт (Германия). Растворы альгината натрия с концентрацией 3 мас. % для исследований готовили на дейтерированной воде. Для нейтрализации эффекта следов солей кальция, присутствующих в образцах полисахаридов, добавляли этилендиаминтетрауксусную кислоту в концентрации 0.2 мас. %. Химические сдвиги δ ядер  $^1\text{H}$  определяли по отношению к 3-(триметилсилил)пропансульфонату натрия. Идентификацию полос в спектре проводили в соответствии с работой [13]. Результаты по блочному составу альгинатов приведены в таблице.

Азид натрия и дейтерированная вода чистотой 99.9% получены от фирмы "Fluka". Этилендиаминтетрауксусная кислота имела квалификацию х.ч. Для приготовления растворов использовали дистиллированную воду.

Исходные растворы полисахаридов готовили растворением навески сухого вещества в дистиллированной воде (рН 5.6–5.8) при непрерывном перемешивании на магнитной мешалке. После добавления азода натрия в концентрации  $1.5 \times 10^{-3}$  моль/л для предотвращения развития микроорганизмов растворы оставляли на три дня при комнатной температуре для установления равновесия.

Смеси полисахаридов получали смешением исходных растворов альгината натрия и катионного

производного ГОЭЦ, взятых в различных соотношениях. Суммарная концентрация полисахаридов 1 мас. %. Растворы после смешения нагревали при перемешивании до 60°C, охлаждали и оставляли на 1 сутки. Если в результате смешения они становились мутными или в них выпадал осадок, то смеси продолжали перемешивать. Окончательный вывод о фазовом состоянии систем делали через семь дней.

Механические свойства растворов смесей полисахаридов исследовали с помощью реометра "Rotovisco RT-20" (фирма "Haake", Германия). Измерения проводили при контролируемом сдвиговом усилии в режимах осцилляций и постоянного напряжения сдвига. Частоту варьировали в диапазоне 0.001–40 Гц. Измерительный модуль имел геометрию конус–пластина. Параметры конуса: угол 1°, диаметр 60 мм. Зазор между пластиной и конусом (0.052 мм) устанавливался в автоматическом режиме. Для растворов с пониженной вязкостью применяли ячейку с двойным зазором, которая имела аналогичные размеры. Измерения проводили при температуре 25.00 ± 0.05°C, для поддержания которой использовали термостат K-20 ("Haake", Германия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### *Фазовое поведение смесей альгинатов с катионным производным ГОЭЦ*

Смешение растворов катионного производного ГОЭЦ и маннуроната или альгината либо не сопровождалось какими-либо изменениями и растворы оставались прозрачными, либо в них появлялась опалесценция или выпадал осадок, что зависело от соотношения компонентов в смеси. Соответствующие области, обозначенные как I, II и III, показаны в виде диаграммы фазовых состояний на рис. 1. Видно, что растворимые ПЭК (области I и II) формируются в условиях, когда один из полисахаридов находится в значительном избытке по отношению к другому. Последовательное увеличение содержания второго компонента вначале приводит к появлению опалесценции, а затем – выпадению осадка. В настоящей работе исследованы только растворы смесей полисахаридов, в которых отсутствовало фазовое расслоение, что отвечает областям I и II.

Сопоставление фазового поведения в системах с разными образцами альгинатов натрия показы-

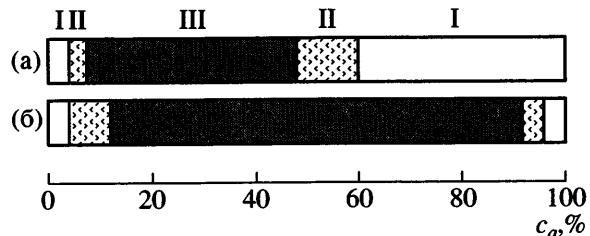


Рис. 1. Диаграммы фазовых состояний смесей катионного производного ГОЭЦ с альгинатом (а) и маннуронатом (б).  $c_a$  – концентрация альгината натрия в смеси. Суммарное содержание полисахаридов в смеси 1 мас. %. I – прозрачный раствор, II – опалесцирующий и мутный растворы, III – область осадка.

вает, что между ними имеется заметное отличие. Оно заключается в различной протяженности областей водорастворимых ПЭК (области I и II). При переходе от альгината к маннуронату наблюдается их сокращение. Соответственно область осадков для маннуроната (область III) на диаграмме (рис. 1) расширяется. Это происходит за счет значительного сдвига ее правой границы в сторону высоких концентраций альгината. В то же время несколько расширяется область растворимых ПЭК при высоких концентрациях катионного производного ГОЭЦ.

Таким образом, из сопоставления фазового поведения в системах с маннуронатом и альгинатом следует, что формирование водорастворимых ПЭК с катионным производным ГОЭЦ определяется составом альгината. Введение GG-блоков в макромолекулу полисахарида благоприятствует растворимости ПЭК.

### *Реологические свойства*

Исходные растворы альгинатов натрия и катионного производного ГОЭЦ были псевдопластичными жидкостями. Их вязкость понижалась с увеличением приложенного напряжения сдвига. Такое реологическое поведение присуще системам, в которых макромолекулы находятся преимущественно в виде отдельных клубков. Последние при наложении напряжения сдвига ориентируются по потоку, что приводит к уменьшению гидродинамического сопротивления [14, 15].

Смешение маннуроната с катионным производным ГОЭЦ не сопровождалось изменением

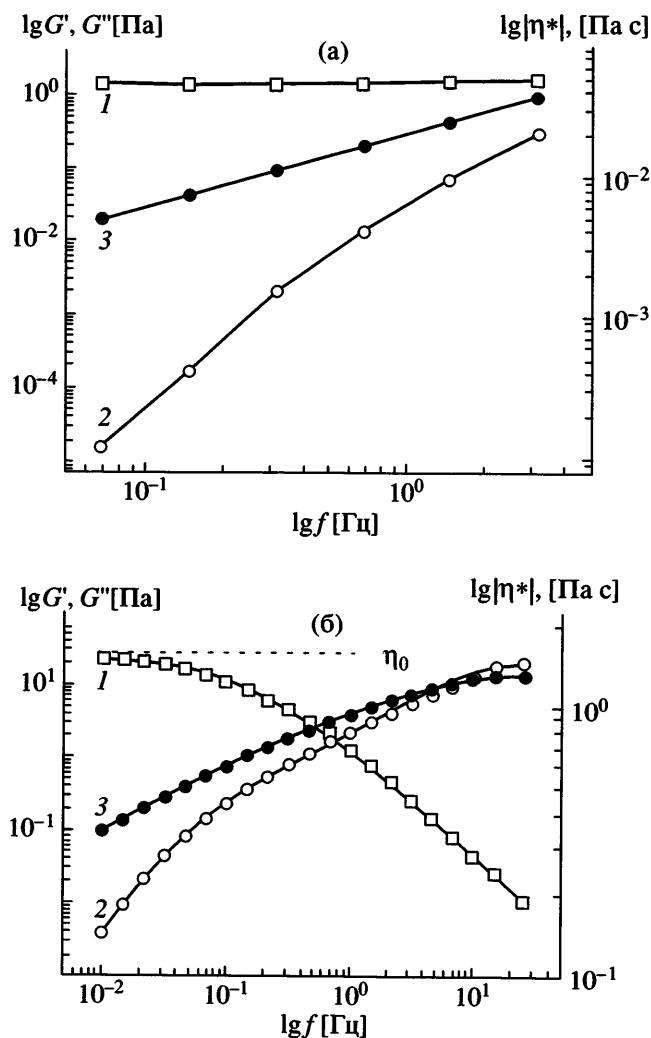


Рис. 2. Зависимости комплексной вязкости  $|\eta^*|$  (1), модулей накопления  $G'$  (2) и потерь  $G''$  (3) от частоты гармонических осцилляций  $f$  для водного раствора смесей, содержащих 9% маннуроната и 91% катионного производного ГОЭЦ (а) и 3% альгината и 97% катионного производного ГОЭЦ (б). Суммарная концентрация полисахаридов в смеси 1 мас. %. Штриховой линией показано значение статической вязкости, определенное из представленной зависимости.

реологического поведения. Оно оставалось псевдопластичным. Для него характерно, как видно на примере смеси, составленной из 9% маннуроната и 91% катионного производного ГОЭЦ (рис. 2а), отсутствие зависимости комплексной вязкости от частоты осцилляций  $f$  в измеряемом диапазоне и более высокие значения модуля потерь  $G''$  по сравнению с модулем накопления  $G'$ . Сохранение характера реологического поведения при переходе от исходных растворов к смесям указывает на то, что при формировании ПЭК ма-

кромолекулы полисахаридов в растворе остаются в прежнем состоянии – в виде клубков.

Системы с альгинатом ведут себя иным образом. При смешении с катионным производным ГОЭЦ наблюдается переход от псевдопластичного поведения к максвелловскому. Это проявляется в изменении характера реологических зависимостей. Иллюстрацией служит рис. 2б, на котором даны комплексная вязкость  $|\eta^*|$ , модули накопления  $G'$  и потерь  $G''$  в зависимости от частоты гармонических осцилляций для смеси, составленной из 3% альгината и 97% катионного производного ГОЭЦ. Видно, что модуль потерь по величине превосходит модуль накопления только в низкочастотной области, тогда как в высокочастотной  $G'' < G'$ . Кроме того, комплексная вязкость в этой же области не остается постоянной величиной, а уменьшается с ростом  $f$ . Этот тип частотных зависимостей реологических параметров описывается в рамках модели Максвелла [14–16], которая применима к системам с определенной структурной организацией. Как правило, такие системы имеют сетчатую структуру, образуемую в объеме раствора взаимопроникающими сегментами соседних цепей полимеров. Важно отметить, что сшивки в виде ковалентных связей между цепями отсутствуют или их количество невелико. Поэтому макромолекулы могут перемещаться относительно друг друга, что происходит по механизму рептации.

Экспериментальные частотные зависимости комплексной вязкости, представленные на рис. 2, послужили для определения статической вязкости  $\eta_0$  в соответствии с уравнением  $\lim_{f \rightarrow 0} |\eta^*| \equiv \eta_0$  [14–16]. Полученные значения  $\eta_0$  используются для сопоставления реологических свойств растворов индивидуальных полисахаридов и их смесей.

Зависимость статической вязкости  $\eta_0$  от содержания альгината натрия в смеси с катионным производным ГОЭЦ представлена на рис. 3. Показана область растворимых ПЭК, которые образуются при избытке катионного полисахарида (левая часть диаграммы фазовых состояний, рис. 1). Добавление альгината натрия в раствор катионного производного ГОЭЦ приводит к увеличению  $\eta_0$ . Такое поведение имеет место в области I (рис. 1). При переходе в область опалесциру-

ющих растворов (область II) вначале наблюдается выход кривой на максимум, а затем ее спад.

Сопоставление кривых 1 и 2, относящихся к системам с альгинатом и маннуронатом, показывает, что статическая вязкость существенно возрастает только в первом случае. При этом, как отмечалось выше, происходит переход от псевдо-пластичного поведения к максвелловскому. В случае маннуроната вначале  $\eta_0$  также увеличивается, но менее значительно, чем в системах с альгинатом. Кроме того, смешение полисахаридов не сопровождается изменением характера реологического поведения. Их макромолекулы остаются в растворе в виде клубков. Примечательно, что при дальнейшем добавлении маннуроната статическая вязкость становится меньше, чем у исходного раствора катионного производного ГОЭЦ. Поскольку статическая вязкость определяется размерами клубков макромолекул [14–16], это означает, что ПЭК имеет меньший радиус инерции, чем макромолекула катионного производного ГОЭЦ в исходном растворе. Другими словами, ассоциация противоположно заряженных полисахаридов сопровождается сжатием клубков.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рассмотренные данные приводят к выводу о зависимости механизма формирования водорасстворимых ПЭК альгинатов с катионным производным ГОЭЦ и реологических характеристик их растворов от блочного состава полисахарида. До настоящего времени, насколько нам известно, это установлено впервые не только в случае рассматриваемых систем, но и для ПЭК в целом. Поэтому представляется важным понять природу данного явления. Она проясняется, на наш взгляд, из анализа конформационных особенностей остатков гулуроновой и маннуроновой кислот в макромолекулах альгината.

Остатки  $\beta$ -D-маннуроновой и  $\alpha$ -L-гулуроновой кислот при идентичности химического состава и структурной близости отличаются конформацией пиранозного цикла [8–10, 12, 17].  $\beta$ -D-маннуроновая кислота имеет конформацию  $^4C_1$ . При этом гидроксильные группы располагаются диэлеватриально, что обуславливает объединение остатков моносахарида в вытянутую цепь, структура которой получила название “ленточной”. Остат-

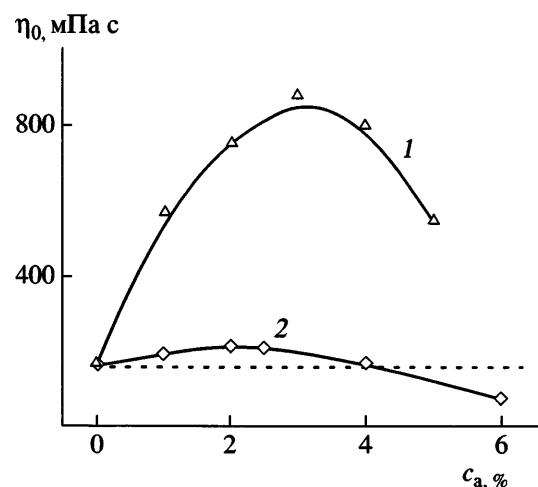
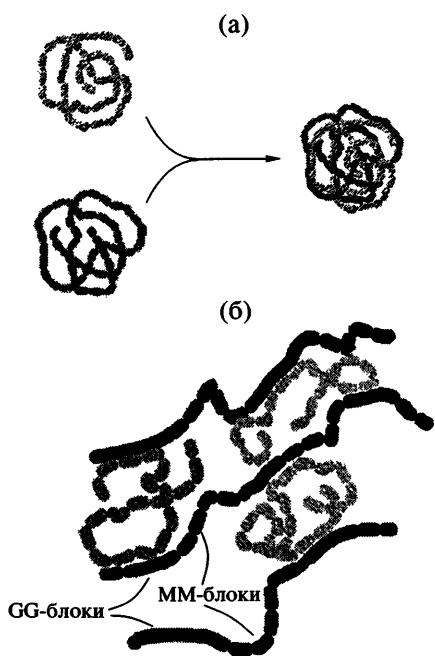


Рис. 3. Статическая вязкость  $\eta_0$  водных растворов, содержащих 1 мас. % полисахаридов, в зависимости от содержания альгината (1) и маннуроната (2) в смесях с катионным производным ГОЭЦ. Штриховая прямая показывает значение  $\eta_0$  для исходного раствора катионного производного ГОЭЦ.

ки  $\alpha$ -L-гулуроновой кислоты имеют конформацию пиранозного цикла  $^1C_4$ , при которой гидроксильные группы располагаются диаксиально. При их объединении в цепь также формируется ленточная структура, но складчатого типа. Поскольку соседние остатки  $\alpha$ -L-гулуроновой кислоты оказываются расположеными достаточно близко друг к другу, между гидроксильными группами образуются водородные связи. Они стабилизируют цепь, что делает GG-блоки более жесткими по сравнению с MM-блоками, в случае которых внутримолекулярные Н-связи отсутствуют.

Различие в жесткости GG- и MM-блоков объясняет, на наш взгляд, обнаруженные отличия в механизме формирования ПЭК исследованными альгинатами. Из реологических данных следует, что смешение растворов альгината и катионного производного ГОЭЦ приводит к образованию сетчатой структуры из макромолекул противоположно заряженных полисахаридов, тогда как в системах с маннуронатом они остаются в виде клубков. Более того, в последнем случае происходит даже уменьшение статической вязкости по сравнению с ее значением для исходного раствора катионного производного ГОЭЦ (рис. 3, кривая 2). Согласно положениям реологии растворов полимеров, подобные изменения  $\eta_0$  вызваны умень-



**Рис. 4.** Схематичное изображение структуры водорастворимых ПЭК на основе альгинатов натрия и катионного производного ГОЭЦ: а – модель формирования ПЭК из маннуроната и катионного производного ГОЭЦ, макромолекулы которых находятся в растворе в виде клубков; б – модель структуры лестничного типа для ПЭК на основе альгината и катионного производного ГОЭЦ.

шением размеров клубков [14–16]. Это означает, что ассоциация макромолекул противоположно заряженных полисахаридов приводит к формированию более компактной структуры. Такие изменения наблюдаются при ухудшении качества растворителя для растворенных полимеров. Как показано в работах [18, 19], ассоциированные сегменты цепей являются более гидрофобными, чем исходные макромолекулы противоположно заряженных полиэлектролитов. Поэтому смешение маннуроната с катионным производным ГОЭЦ не может привести к развертыванию клубков. Оно сопровождается образованием более компактной структуры, что объясняет уменьшение статической вязкости при добавлении относительно больших количеств маннуроната в раствор катионного производного ГОЭЦ (рис. 3, кривая 2).

Следует отметить, что формирование компактных клубков может происходить в случае макромолекул, характеризующихся небольшими значениями персистентной длины. Цепи манну-

роната обладают достаточно высокой гибкостью в силу ленточной структуры, которая не стабилизирована какими-то дополнительными внутримолекулярными связями [20, 21]. Блоки GG, напротив, являются жесткими, поскольку в них имеются водородные связи между соседними остатками  $\alpha$ -L-гулуроновой кислоты. В их случае формирование компактных клубков оказывается затруднительным. Исходно эти блоки находятся в растворе в виде вытянутых (стержнеобразных) сегментов и остаются в таком состоянии и после смешения с противоположно заряженным полиэлектролитом. Как следствие, цепи с жесткими (GG-блоками) и гибкими (MM-блоками) сегментами при формировании ПЭК, скорее всего, самоорганизуются в сетчатые структуры лестничного типа, модель которых развита в работах Зезина и Кабанова [18, 19]. С учетом сказанного образование ПЭК в системах с маннуронатом и альгинатом дается в виде схематичных изображений на рис. 4. Необходимо обратить внимание на тот факт, что в системах с альгинатом макромолекулы катионного производного ГОЭЦ остаются в виде клубков. Они выступают, по всей видимости, в качестве своеобразных сшивающих агентов, располагаясь между вытянутыми цепями альгината.

Авторы признательны А.В. Подкорытовой и Т.Н. Звягинцевой за образцы альгинатов, а также Р. Neudecker за съемку ЯМР-спектров.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Draget K.I., Skjak-Braek G., Smidsrod O. // Int. J. Biol. Macromol. 1997. V. 21. № 1. P. 47.
2. Kim H.-J., Lee H.-C., Oh J.-S., Shin B.-A., Oh C.-S., Park R.-D., Yang K.-S., Cho C.-S. // J. Biomater. Sci., Polym. Ed. 1999. V. 10. № 5. P. 543.
3. Thu B., Bruheim P., Espevik T., Smidsrod O., Soon-Shiong P., Skjak-Braek G. // Biomaterials. 1998. V. 17. № 10. P. 1031.
4. Gaserod O., Smidsrod O., Skjak-Braek G. // Biomaterials. 1998. V. 19. № 17. P. 1815.
5. Gaserod O., Sannes A., Skjak-Braek G. // Biomaterials. 1999. V. 20. № 7. P. 773.
6. Щипунов Ю.А., Постнова И.В. // Журн. физ. химии. 2001. Т. 75. № 10. С. 1795.

7. Clare K. // Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives / Ed. by Whistler R.L., BeMiller J.N. San Diego: Acad. Press, 1993. P. 105.
8. Cottrell I.W., Kovacs P. // Handbook of Water-soluble Gums and Resins / Ed. by Davidson R.L. New York: McGraw-Hill Book Company, 1980. P. 2–1.
9. Day D.F. // Biopolymers from Renewable Resources / Ed. by Kaplan D.L. Berlin: Springer, 1998. P. 119.
10. Moe S.T., Draget K.I., Skjak-Braek G., Smidsrød O. // Food Polysaccharides and their Applications / Ed. by Stephen A.M. New York: Marcel Dekker, 1995. P. 245.
11. Painter T.J. // The Polysaccharides / Ed. by Aspinall G.O. New York: Acad. Press, 1983. P. 195.
12. Sime W.J. // Food Gels / Ed. by Harris P. London: Elsevier, 1990. P. 53.
13. Grasdalen H., Larsen B., Smidsrød O. // Carbohydr. Res. 1979. V. 68. № 1. P. 23.
14. Goodwin J.W., Hughes R.W. Rheology for Chemists. An Introduction. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2000.
15. Schramm G.A. Practical Approach to Rheology and Rheometry. Karlsruhe: Haake, 1994.
16. Ferry J.D. Viscoelastic Properties of Polymers. New York: Wiley, 1980.
17. Vincent J. Structural Biomaterials. Princeton: Princeton Univ. Press, 1990.
18. Kabanov V.A. // Macromolecular Complexes in Chemistry and Biology / Ed. by Dubin P., Bock J., Davis R., Schulz D.N., Thies C. Berlin: Springer, 1994. P. 151.
19. Зезин А.Б., Кабанов В.А. // Успехи химии. 1982. Т. 51. № 9. С. 1447.
20. Rees D.A. Polysaccharide Shapes. London: Chapman and Hall, 1977.
21. Rees D.A., Morris E.R., Thom D., Madden J.K. // The Polysaccharides / Ed. by Aspinall G.O. New York: Acad. Press, 1982. P. 195.

## Alginate Polyelectrolyte Complexes with Cationic Hydroxyethyl Cellulose Derivatives: Role of the Block Structure

Yu. A. Shchipunov\*, and I. V. Postnova\*\*

\*Institute of Chemistry, Far East Division, Russian Academy of Sciences,  
pr. Stoletiya Vladivostoka 159, Vladivostok, 690022 Russia

\*\*Far East State University,  
ul. Sukhanova 8, Vladivostok, 690950 Russia

**Abstract**—It was shown that the block structure of alginate significantly affects the mechanism of formation and properties of its water-soluble polyelectrolyte complexes with cationic derivatives of hydroxyethyl cellulose. Alginate that contains residues of only mannuronic acid remains in solution in the form of coils, and the incorporation of guluronic acid residues gives rise to formation of a network structure. A difference in the structure of polyelectrolyte complexes is explained by different rigidities of blocks formed by residues of mannuronic and guluronic acids having different conformations of the pyranose ring.