

С. Г. Карпова, А. Л. Иорданский, С. Н. Чвалун, С. М. Ломакин,
Н. Г. Шилкина, А. А. Попов, Г. Е. Заиков, Х. С. Абзальдинов

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА СТРУКТУРНО - ДИНАМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПОЛИМЕРОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ. СООБЩЕНИЕ 3

Ключевые слова: биodeградируемые композиции, кристалличность, зондовый метод ЭПР, ДСК, РСА, озон, вода, время корреляции, хлоргексидин, полиэфируретан, диффузия, молекулярная подвижность.

Методами зондового анализа ЭПР-спектроскопии, дифференциально-сканирующей калориметрии (ДСК) и рентгеноструктурного анализа (РСА) в больших углах, а также УФ-спектроскопии исследовали молекулярную динамику, структуру, диффузионные, механические свойства, способность к озонному окислению сополимера гидроксибутирата и хитозана и их смесевых композиций. Исследования сополимера гидроксибутирата и хитозана и их смесевых композиций показали, что, начиная с 30%-ного содержания ПГБ в смеси, на порядок возрастает время корреляции, что свидетельствует о резком замедлении молекулярной подвижности, и по данным ДСК и РСА скачкообразно уменьшается степень кристалличности. Уменьшается и коэффициент диффузии рифампицина с ростом содержания полигидроксибутирата в смеси. Ограниченное во времени (1 ч) воздействие воды на смесевые композиции при 70°C сопровождается ростом молекулярной подвижности зонда в системе. Кристалличность меняется сложным образом.

Keywords: biodegradable composition, crystallinity probe EPR, DSC, XRD, ozone, water, the correlation time, chlor-hexidine, polyester urethane, diffusion, molecular mobility.

Methods for probe analysis of EPR-spectroscopy, differential scanning calorimetry (DSC) and the X-ray analysis (XRD) at high angles, as well as UV-spectroscopy examined the molecular dynamics, structure, diffusion, mechanical properties, ozone oxidation of copolymer of hydroxybutyrate with chitosan. Study on copolymer hydroxybutyrate and chitosan and their mixed compositions showed that, since 30% of SGS in the mix, on the order of time increases the correlation time that indicates a sharp slowing molecular movement, and according to the DSC and the degree of crystallinity is decreased stepwise SAR. Decreases and the diffusion coefficient of rifampicin with the growth of polyhydroxybutyrate in mixture compositions. The effect of water, limited in time (1 h), on mixed compositions at 70°C is accompanied by increasing the molecular mobility of the probe in the system. Crystallinity change in complex ways.

Введение

Исследование биоэластомеров для медицины и медицинской техники представляет чрезвычайно перспективное направление современного полимерного материаловедения [1,2]. Ранее, на примере композитов биоразлагаемого поли(3-гидроксибутирата) [3,4], были изучены физико-химические и транспортные характеристики биоразлагаемых эластомерных матриц, предназначенных для адресной доставки лекарственных веществ. Однако чистый ПГБ, из-за его ограниченных механических характеристик и сравнительно высокой стоимости, существенно ограничивают его использование. Поэтому в настоящее время смесевые композиции ПГБ, например, с полиэфируретаном (СПЭУ), с хитозаном и др., привлекающие все больший интерес в связи с широким использованием их как конструкционных биомедицинских материалов (элементы искусственного сердца, искусственные сосуды, катетеры, матрицы для доставки лекарственных веществ и др.).

Одной из перспективных является смесь ПГБ с хитозаном [5,6]. Хитозан – природный полимер, не токсичный, биоразлагаемый, получаемый дезацетилированием хитина и второй по распространенности в природе биополимер после целлюлозы. Хитозан используется в пленочных покрытиях и мембранах для удлинения срока хранения продуктов питания. Однако высокая чувствительность хитозана к влаге ограничивает его применение. Преодолеть этот недостаток удается

смешением хитозана с влагоустойчивыми полимерами, сохраняя, однако, биоразлагаемость материала.

Варьируя состав ПГБ/хитозан, и, следовательно, влияя на морфологию и кристалличность, можно получать композиционные материалы с различными физико-химическими характеристиками, такими как проницаемость, растворимость воды, скорость и механизм деградации и др. Так в работе [4] методом ДСК и ЯМР было показано, что кристаллизация ПГБ в смесях с хитозаном подавляется с ростом концентрации полисахаридов. Авторы предположили, что могут формироваться водородные связи карбонильных групп ПГБ с амидными группами хитозана. Однако есть данные [7], противоречащие результатам работы [4], касающиеся изменений ПГБ в смесях ПГБ/хитозан, что вероятно связано с условиями получения смесей.

Объекты и методы исследования

В работе изучались смесевые композиции на основе биodeградируемых полимеров – гидроксибутирата и хитозана. Для получения пленок в работе использовали природный биоразлагаемый полимер полигидроксибутират серии 16F, полученный методом микробиологического синтеза компанией BIOMER® (Германия). Исходный полимер представляет собой белый мелкодисперсный порошок. Молекулярная масса ПГБ $M_w = 2.06 \cdot 10^5$

г/моль плотность $d = 1.248 \text{ г/см}^3$, $T_{пл} = 177^\circ\text{C}$, степень кристалличности – 65%. Хитозан отечественного производства (компания “Биопрогресс”, г. Щелково) является неплавким полисахаридом и представляет собой мелкодисперсный порошок. Молекулярная масса этого полимера $M_w = 4.4 \cdot 10^5 \text{ г/моль}$, степень деацетилирования – 82.3%. При получении пленок методом полива использовали следующие растворители: для ПГБ – CHCl_3 и диоксан марки “ЧДА” (ЗАО “Экос_1”, РФ), для ХТ – CH_3COOH марки “ЧДА”. Пленки готовили путем смешения раствора хитозана в воднокислых средах и раствора ПГБ в диоксане. Раствор ХТ получали путем растворения порошка в уксусной кислоте.

Молекулярную подвижность изучали методом парамагнитного зонда. В качестве зонда использовали стабильный нитроксильный радикал 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил (ТЕМПО). Радикал вводили в пленки из паров при температуре 25°C до концентрации 10^{-3} моль/л . Регистрацию спектров ЭПР проводили в отсутствие насыщения, что проверяли по зависимости интенсивности сигнала от мощности микроволнового поля. Значения времени корреляции вращения зонда (τ) оценивали из спектров ЭПР. Время корреляции определяли по формуле [8]:

$$\tau = \Delta H_+ (\sqrt{I_+/I_-} - 1) 6,65 \cdot 10^{-10},$$

где ΔH_+ – ширина компоненты спектра, расположенной в слабом поле, I_+/I_- – интенсивности компонент в слабом и сильном поле соответственно. Ошибка в определении τ составляла $\pm 5\%$.

Рентгеноструктурный анализ образцов проводили с использованием съемок на просвет с помощью дифрактометра Bruker Advance D8 (CuK α излучение). Параметры кристаллической решетки определяли из соответствующих межплоскостных расстояний, полученных из уравнения Брэгга–Вульфа $n\lambda = 2d\sin\theta$, где n – порядок отражения, $\lambda = 1.5408 \text{ \AA}$ – длина волны падающего рентгеновского излучения, 2θ – угол дифракции. Средний эффективный размер кристаллита L_{hkl} в кристаллографическом направлении hkl определяли из интегральной полуширины линии соответствующего рентгеновского рефлекса $\Delta hkl(2\theta)$ с помощью формулы Селякова–Шеррера где $I(2\theta)$ и I_{max} – интенсивность линии при некотором угле 2θ и максимальная интенсивность соответственно. При дифрактометрической записи числитель представляет собой площадь, ограниченную профилем рефлекса, а знаменатель – его максимальную ординату. Математическая обработка профилей исследованных рефлексов производилась с помощью пакета программ Microcal™ Origin™

Результаты и их обсуждение

Изучение аморфной фазы ПГБ и его композиций с хитозаном при взаимодействии с водой

Спектры ЭПР смесевых композиций хитозана и ПГБ, так же как и исходных полимеров,

являются суперпозициями двух спектров, соответствующих радикалам с временами корреляции τ_1 и τ_2 : τ_2 характеризует молекулярную подвижность в рыхлых аморфных областях, а τ_1 – в более плотной аморфной фазе (рис. 1). Все расчеты спектров ЭПР проведены методом стохастического уравнения Лиувилля (метод случайных траекторий) [9]. Интенсивности первых пиков триплетов с заторможенным движением и более быстрым мы обозначили соответственно как и I_+^1 и I_+^2 .

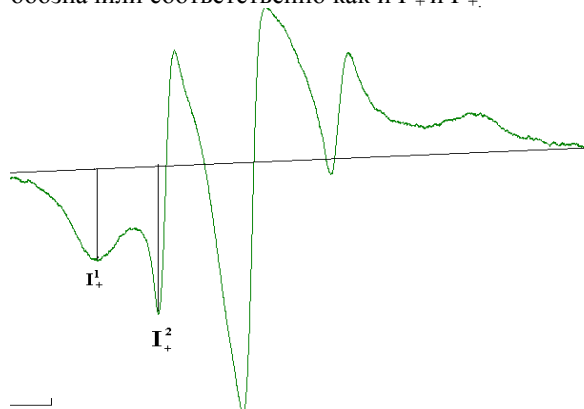


Рис. 1 - Спектр ЭПР смесевой композиции, содержащей 80% хитозана и 20% ПГБ

Была построена зависимость отношения интенсивностей первых линий спектров I_+^1/I_+^2 от состава композиции (рис. 2а). Этот параметр характеризует отношение доли аморфной фазы с медленной молекулярной подвижностью к доле с быстрой подвижностью.

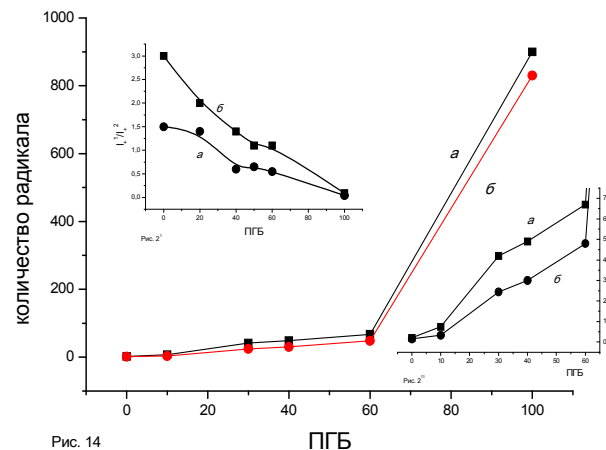


Рис. 14

Рис. 2 - Количество радикала ТЕМПО в образцах одинаковой массы от состава композиции

Рис. 2' - Отношение первых пиков спектров со временем корреляции τ_1 и τ_2 до отжига (а) и после отжига (б). Рис. 2''. Количество радикала в смесевых композициях (до 60% ПГБ) одинаковой массы

Видно, что в чистом ПГБ доля медленной составляющей невелика и практически на порядок возрастает в смесевых композициях. Следует отметить, что в чистом хитозане и в смесевых композициях с 10 и 20% ПГБ это отношение еще более высокое. Эти данные указывают на гетерогенность структуры, и гораздо в большей

степени она проявляется в смесевых композициях и хитозане.

Был выполнен эксперимент по установлению количества радикала в одинаковых навесках ПГБ, хитозана и их смесей. Из рис. 2 видно, что количество радикала в чистом ПГБ почти на два порядка больше, чем в хитозане и композициях. Эти результаты указывают на низкую проницаемость межфазных областей для радикала. Форма спектров в смесевых композициях и в хитозане резко отличается от спектров в ПГБ. Если в ПГБ первый спектр с заторможенным движением практически накладывается на спектр с быстрой молекулярной подвижностью, то в хитозане и смесевых композициях эти спектры четко разделены (рис. 1). На основании полученных данных можно сделать предположение, что непрерывной фазой в смесевых композициях является хитозан и межфазные слои характеризуются достаточно высокой плотностью.

На рис. 2 (кривая 1) представлены зависимости времени корреляции τ_2 от состава смесевой композиции. Видно, что в исходном хитозане, так же как и в композициях с 10 и 20% ПГБ, время корреляции имеет небольшие значения $((9.5-19) \cdot 10^{-10} \text{ с})$, в то время как композиция с 30% ПГБ имеет время корреляции $280 \cdot 10^{-10}$ (в ПГБ $\tau_2 = 65 \cdot 10^{-10} \text{ с})$. Высокие времена корреляции имеют и другие смесевые композиции. Согласно полученным результатам можно предположить, что хитозан при его смешении с ПГБ переходит из стеклообразного в высокоэластическое состояние, и радикал, проникая в плотные участки фазы, дает высокие значения времени корреляции τ .

Образцы подвергались температурному воздействию в воде при 70°C в течение 1 ч. На рис. 3 кривой 2 представлена зависимость времени корреляции от состава композиции.

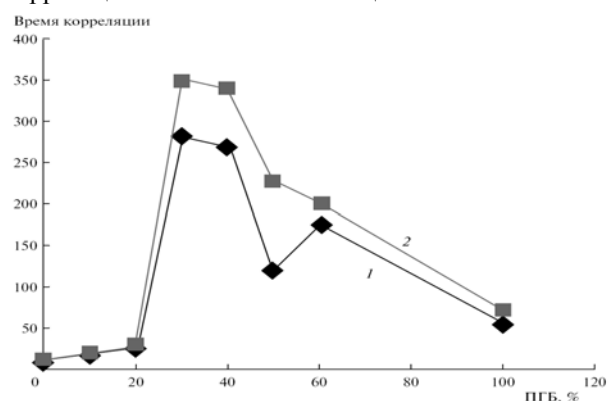


Рис. 3 - Зависимость времени корреляции от состава смесевой композиции ПГБ с хитозаном до отжига (а) и после отжига (б) при температуре 70° в течении 1 часа

Видно, что характер зависимости остается прежним, возрастают только значения τ_2 , что свидетельствует о замедлении молекулярной подвижности в рыхлой аморфной фазе. Отношение интенсивностей первых линий спектра (I_1/I_2) с временами корреляции τ_1 и τ_2 после отжига в воде

(рис. 2а, кривая 2) указывает на увеличение доли аморфных областей с низкой подвижностью. Только для ПГБ разницы не наблюдается. Следует также отметить, что количество радикала сорбировалось в композициях после воздействия воды при 70°C в течении 1 ч в меньшем количестве, чем в исходных полимерах, что также свидетельствует о росте жесткости цепей после температурного воздействия в воде (рис. 2). Данные по энергии активации для всех изучаемых композиций приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Значения энергии активации в смесевых композициях хитозана и ПГБ

Содержание хитозана, %	E_1 , кДж/моль	E_2 , кДж/моль
100	7,5	
90	8,8	42
80	10	38
70	33	50
60	31	45
50	9	50
40	25	60
0	27	27

На рис. 4 представлены зависимости времени корреляции от температуры для трех композиций.

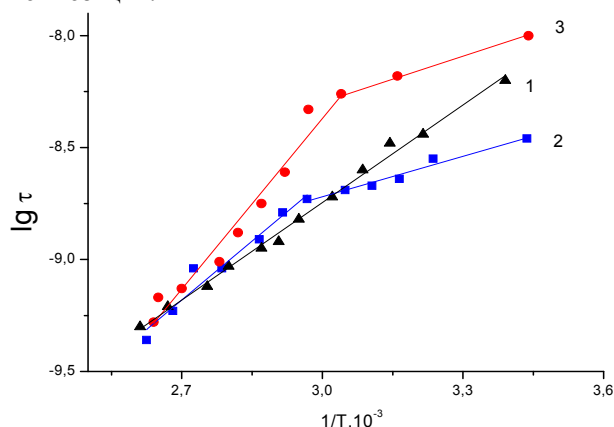


Рис. 4 - Температурная зависимость времени корреляции для ПГБ (а), для смесевой композиции с содержанием ПГБ 20% (б) и 50% (в)

Видно, что для ПГБ зависимость имеет линейный характер, в то время как для смесевых композиций наблюдается излом при температурах $\approx 60^\circ\text{C}$. Следовательно, при этой температуре “размораживается” подвижность в плотных областях хитозана, так как энергия активации (E) почти в 2 раза выше, чем в ПГБ. Важно отметить, что величина E на начальном участке для хитозана и смесевых композиций с 10 и 20% ПГБ невелика и возрастает почти в 2.5 раза для композиций с большим содержанием ПГБ (исключение составляет композиция с 50% ПГБ). Этот факт также свидетельствует о том, что структура аморфной фазы смесевой композиции, начиная с 30%-ного содержания ПГБ, становится более жесткой вследствие перехода кристаллической структуры в аморфную (как будет показано ниже), и радикал, сорбируясь в этих плотных областях,

свидетельствует о более замедленном молекулярном движении.

Были проведены эксперименты по изучению кинетики высвобождения рифампицина из пленок. Эти исследования представляют большой интерес для решения задач по диффузии лекарственных веществ. Скорость этих процессов будет зависеть в большой степени от структуры аморфной фазы полимера. Расчет коэффициентов диффузии рифампицина в смеси осуществлялся по уравнению $D = \pi l^2 (\text{tg} \alpha)^2 / 16$, где D – коэффициент диффузии, α – угол наклона кинетических кривых высвобождения рифампицина из пленок, l – толщина пленки. На рис. 5 представлена зависимость D от содержания ПГБ в смесевой композиции.

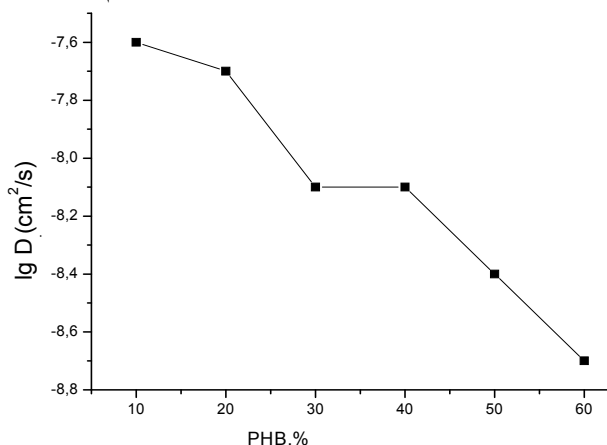


Рис. 5 - Зависимость коэффициента диффузии рифампицина D от состава композиции ПГБ с хитозаном

Видно, что при увеличении содержания ПГБ в композиции в системе наблюдается падение диффузионной подвижности, что может быть обусловлено замедлением молекулярной подвижности, как показано на рис. 2. Причем именно после того как содержание ПГБ в смеси становится $>20\%$, наблюдается резкое снижение значений коэффициента диффузии и для композиций с 30 и 40% ПГБ эти значения близки (рис. 5). Таким образом, изучение аморфной фазы в смесевых композициях ПГБ/хитозан показало, что смесь с содержанием ПГБ выше 20% характеризуется отсутствием стеклообразной составляющей и имеет достаточно высокую плотность. Коэффициент диффузии также уменьшается с ростом ПГБ в композиции, и особенно резкое снижение наблюдается в смеси с содержанием ПГБ от 20 до 30%. Воздействие воды при 70°C приводит к росту молекулярной подвижности, что обусловлено уплотнением аморфной фазы смесевых композиций.

Изучение кристаллической фазы ПГБ, хитозана и их смесей

Методом ДСК была изучена кристаллическая фаза в смесевых композициях (рис. 6). Характерно, что бимодальная форма пика плавления ПГБ переходит в одиночный пик в смесевых композициях, что косвенно

свидетельствует о слиянии двух форм кристаллического состояния ПГБ.

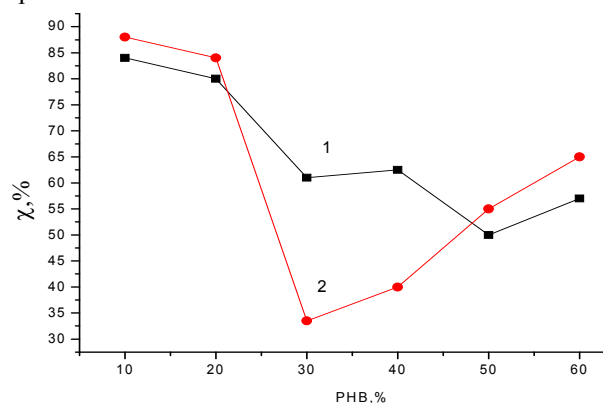


Рис. 6 - Изменение степени кристалличности от состава композиции ПГБ с хитозаном в исходных образцах (а) и после отжига при 70° в течении 1 часа (б)

Высокотемпературный пик в области 175°C принадлежит плавлению хорошо организованной кристаллической структуры, а низкотемпературный пик в области 161°C относится к плавлению менее совершенной кристаллической структуры ПГБ. Данные ДСК показали, что с ростом содержания ПГБ в смеси его кристалличность (χ) и температура плавления кристаллитов уменьшаются. Так, в смесевой композиции с 10% ПГБ кристалличность высока и составляет 82% (рис. 6), и по мере роста доли ПГБ в смеси эта величина уменьшается до 60% (в ПГБ $\chi = 61\%$). Характерно, что и кристалличность уменьшается также скачкообразно. Если в смесевой композиции с 20% ПГБ кристалличность составляла 79%, то в смеси с 30% ПГБ $\chi = 60\%$, а в смеси с 60% ПГБ $\chi = 56,7\%$.

В хитозане степень кристалличности по данным ДСК невелика и составляет 6,5%, а в смеси кристаллическая фаза отсутствует. Температура плавления ПГБ в смесевой композиции с 10% ПГБ составляет $172,7^\circ\text{C}$, а в смеси с 30 и 60% ПГБ она равна 171°C . Эти данные свидетельствуют о том, что при смешении ПГБ с хитозаном его кристаллическая структура становится менее совершенной. Объяснением может служить взаимодействие между хитозаном и ПГБ путем формирования водородных связей между сложноэфирными группами ПГБ и аминными группами полисахарида. При этом структура хитозана становится более рыхлой, кристаллическая фаза в смесевых композициях уже не проявляется. Важно отметить, что в смесевой композиции с 10 и 20% ПГБ кристалличность последнего чрезвычайно высока, видимо, вследствие низкой перепутанности цепей, что облегчает процесс кристаллизации, а доля водородных связей чрезвычайно мала.

Аналогичные закономерности получены и РСА. Этот метод показал, что степень кристалличности в хитозане составляет 38% и уменьшается с ростом доли ПГБ. Так, в смесевой композиции с 20% ПГБ она составляет 30%, с 30% ПГБ – 15%, а в смесевой композиции с 40% ПГБ кристалличность равна нулю (рис. 7).

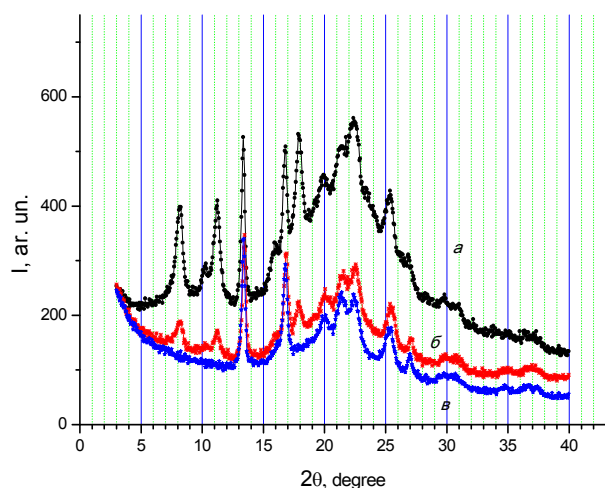


Рис. 7 - Дифрактограмма рентгеновского рассеивания для смеси с 20% ПГБ (а), с 30% ПГБ (б), с 40% ПГБ (в) с хитозаном

Степень кристалличности ПГБ также уменьшается с ростом его содержания в смеси. В чистом ПГБ степень кристалличности составляет 62%, в смеси с 20% ПГБ она равна 54%, с 30% ПГБ – 44%, с 40% ПГБ – 40%. Из этих данных также видно, что степень кристалличности ПГБ, начиная с 30%-ного его содержания скачкообразно уменьшается с его ростом. Таким образом, в смеси с 20% ПГБ по сравнению с исходным хитозаном, то в смеси с 30% ПГБ – сразу на 23%, и эти процессы отражаются на времени корреляции. Именно с 30%-ного содержания ПГБ в смеси начинается резкий рост времени корреляции. Из чего можно сделать вывод, что часть кристаллитов переходит в аморфное состояние и радикал в таких смесях, сорбируясь в этих плотных структурных образованиях, дает высокие времена корреляции.

Воздействие воды при 70°C в течение 1 ч по данным ДСК приводит к росту степени кристалличности в смеси с 10, 20, 50 и 60% ПГБ. В образцах с 30, 40% ПГБ и в хитозане кристалличность уменьшилась почти в два раза (рис. 6). По данным РСА после воздействия воды при 70°C в течение 1 ч в смеси с 10, 20, 30 и 40% ПГБ кристаллическая фаза хитозана не зафиксирована. Температура плавления

ПГБ после такого воздействия возрастает на 6–7°C для всех изучаемых полимеров. Увеличение кристалличности в полимерах после отжига хорошо известно [10,11], тем более что присутствие воды, оказывая пластифицирующее действие, также ускоряет процесс кристаллизации. Вместе с тем, уменьшение кристалличности с ростом ПГБ в смеси свидетельствует о взаимодействии хитозана и ПГБ посредством формирования водородных связей между сложноэфирными группами ПГБ. Характерно, что после воздействия воды при 70°C в смеси композициях по данным РСА кристалличность хитозана не проявляется.

Таким образом, в работе показано, что структура смесевых композиций, начиная с 30%-ного содержания ПГБ и 70%-ного содержания хитозана резко изменяется, что проявляется в значительном увеличении времени корреляции. Это свидетельствует о росте структур с плотной упаковкой цепей, что подтверждается данными по диффузии лекарственных веществ. Резко снижается и степень кристалличности по мере увеличения доли ПГБ в композиции, что зафиксировано как методом ДСК так и методом РСА. Температурное воздействие при 70°C в течение 1 ч приводит к росту времени корреляции, а следовательно, к снижению молекулярной подвижности. Кристалличность же изменяется сложным образом.

Литература

1. Long Yu, Katherine Dean, Lin Li. Prog. Polym. Sci. 31 (2006) 576–602
2. L.A.Utracki.(Ed). Polymer blends. Handbook. Vol.1. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht. 2002.
3. Николенко Ю. М., Курявый В. Г., Шевелева И. В., Земскова Л. А., Сергиенко В. И.// Неорганические материалы, 2010. Т. 46. № 3. С. 266.
4. Ikejima T., Inoue Y.// Carbohydrate Polym. 2000. V. 41. P. 351.
5. Suttiwittitphudee N., Sato H., Zhang J., Hashimoto T. // Polymer. 2011. V. 52. P. 461.
6. Карпова С.Г. и др. Влияние температурного воздействия в водной среде на структуру и молекулярную динамику смеси с хитозаном // Вестник Казан. технол. ун-та. 2013. №2. С. 92-96
7. Ikejima T., Yagi K., Inoue Y.// Macromol. Chem. Phys. 1999. V. 200(2). P. 413.
8. Попов А. А., Карпова С. Г., Подкопаева Е. В., Коварский А. Л. И др. // Высокомолекуляр. соединения. А. 1980. Т. 22. № 4. С. 868.
9. Mandelkern L., Allon A. // J. Polimer Sci. 1966. В 4. V. 4. P. 447.
10. Штильман М.И. Полимеры медико-биологического назначения. М.: Академкнига, 2006.
11. Shi R., Chen D., Liu Q. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2009.10.P. 4223.

© С. Г. Карпова – к.х.н., сотр. лаб. физико-химии композиций синтетических и природных полимеров Института биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН; А. Л. Иорданский – д.х.н., проф., зав. лаб. диффузионных явлений в полимерных системах Института химической физики им. Н.Н. Семенова РАН; С. Н. Чвалун – д.х.н., проф., зав. лаб. Института синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН; С. М. Ломакин – к.х.н., зав. лаб. химической стойкости полимеров Института биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН; Н. Г. Шилкина – сотр. Института биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН; А. А. Попов – д.х.н., проф. зав. лаб. физико-химии композиций синтетических и природных полимеров Института биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН; Г. Е. Заиков – д.х.н., проф. каф. технологии полимерных материалов КНИТУ; Х. С. Абзальдинов – к.х.н., доц. той же кафедры, abzaldinov@mail.ru.