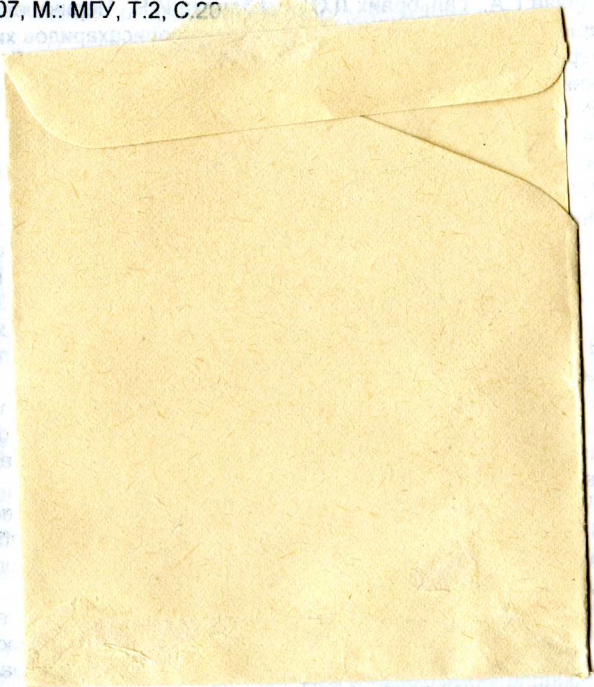


заявка № 2005128133 от 09.09.2005. Решение о выдаче патента РФ от 28.09.2006.

17. Акопова Т.А., Зеленецкий А.Н., Владимиров Л.В., Чернышенко А.О., Могилевская Е.Л., Жорин В.А., Зеленецкий С.Н., Марквичёва Е.А., Озерин А.Н. Реакционное смешение хитозана: новый подход к получению материалов биомедицинского применения // Мат. VIII межд. конф. «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана (РосХит 2006)», М.:ВНИРО, 2006, С.10-13.
18. Чернышенко А.О., Акопова Т.А., Семёнова Г.К., Кечекьян А.С., Владимиров Л.В., Зеленецкий А.Н., Вихорева Г.А.. Полимерные материалы на основе хитозана с улучшенными механическими свойствами // Мат. VIII межд. конф. «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана (РосХит 2006)», М.:ВНИРО, 2006, С.150-152.
19. Зайцева-Зотова Д.С., Хмелев Г.В., Чернышенко А.О., Акопова Т.А., Зеленецкий А.Н., Ерохина Т.Н., Марквичёва Е.А.. Микрокапсулы на основе хитозана и его производных для получения мультিকлеточных раковых сфероидов // Мат. VIII межд. конф. «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана (РосХит 2006)», М.:ВНИРО, 2006, С.200-204.
20. Акопова Т.А., Чернышенко А.О., Владимиров Л.В., Кузнецов А.А., Зеленецкий А.Н. Синтез бифильных систем на основе полисахаридов и полиэфиров при пластическом течении // Тез. докл. IV всерос. Каргинской конф. «Наука о полимерах 21-му веку», 2007, М.: МГУ, Т.2, С.20.



Подписано в печать 26.04.07

Формат бумаги 60x84/16 Бумага множ.

Усл.печ.л. 1,0 Заказ 195 Тираж 80

МГТУ им. А.Н. Косыгина, 119071, Москва, ул. Малая Калужская, 1

Б-ке

На правах рукописи

УДК 678.01+678.06:664.959

ЧЕРНЫШЕНКО АЛЕКСАНДР ОЛЕГОВИЧ

ТВЕРДОТЕЛЬНЫЙ СИНТЕЗ ХИТОЗАНА И ПОЛУЧЕНИЕ МАТЕРИАЛОВ НА ЕГО ОСНОВЕ

02.00.06 – Высокомолекулярные соединения

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Москва – 2007

Работа выполнена на кафедре технологии химических волокон
Московского государственного текстильного университета
им А.Н. Косыгина

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Вихорева Галина Александровна

Официальные оппоненты: доктор химических наук
Бабиевский Кирилл Константинович
кандидат химических наук
Немцев Сергей Владимирович

Ведущая организация: Российский химико-технологический
университет им Д.И. Менделеева

Защита состоится «30» мая 2007г. в 15⁰⁰ на заседании
диссертационного совета Д212.139.01 при Московском государственном
текстильном университете им А.Н. Косыгина по адресу: 119071,
г.Москва, ул. Малая Калужская, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Московского
государственного текстильного университета им А.Н. Косыгина.

Автореферат разослан «28» апреля 2007 г.

Учёный секретарь диссертационного совета



проф. Зубкова Н.С.

Актуальность темы. Широко распространённый биополимер хитин и его производные, в частности хитозан, являются объектом интенсивных исследований во всём мире, благодаря актуальному сочетанию природного происхождения, биологической, сорбционной активности, волокно-, плёнкообразующей способности, гидрофильности, растворимости в доступных растворителях и наличием легко поддающихся модификации групп. Изделия на основе хитозана уже нашли своё применение в таких областях как биотехнология, сельское хозяйство, фармакология, косметология, медицина, экология, химический анализ (хроматография, селективные электроды), пищевая промышленность и других. Ряд производных и привитых сополимеров хитозана представляют интерес в качестве основы для новых композиционных материалов, полиэлектролитных комплексов и гидрогелей, носителей ферментов, лекарственных препаратов, рабочего слоя разделительных мембран, суперсорбентов и прочего.

Внедрение хитозана во многом сдерживается его относительно высокой стоимостью, что обусловлено несовершенством технологии получения, в частности высоким расходом щёлочи для дезацетилирования хитина (15-20 моль щёлочи на основомоль хитина), большим расходом деионизованной воды для промывки получаемого хитозана и длительностью процесса. Кроме того, использование растворов хитозана в биологических объектах ограничено тем, что pH растворов не может быть более 5, тогда как pH физиологических жидкостей в организме человека и других теплокровных млекопитающих может быть ≥ 7 . Это затрудняет решение, получая производные хитозана с замещёнными функциональными группами или, что более предпочтительно, привитые сополимеры хитозана.

Твёрдотельное экструзионное химическое модифицирование полисахаридов целлюлозы, хитина и хитозана, основы которого заложены российскими исследователями школы акад. Н.С. Ениколопова, является одним из новых и перспективных подходов решения указанных проблем. Данная работа, выполненная в рамках программы «Интеграция» и госбюджетной темы № 03-609-45 единого заказ-наряда Федерального агентства по образованию, является развитием исследований твердотельных реакций в полимерных системах.

Целью работы является синтез хитозана и его привитого сополимера в твёрдом агрегатном состоянии под действием давления и пластического деформирования и исследование процесса превращения, структуры и свойств полученных продуктов реакции.

Научная новизна. Впервые показано влияние катиона основания (NH_4^+ , Li^+ , Na^+ , K^+) на степень дезацетилирования и молекулярную массу хитозана, полученного в условиях твёрдотельного дезацетилирования хитина в экструдере, и установлено, что КОН сильнее деструктурирует полимер, чем NaOH при аналогичной степени превращения полимера, а менее сильное основание NH_4OH и оказывающий антифрикционный эффект LiOH в условиях реакции неактивны.

Установлено, что скорость твёрдотельного экструзионного синтеза хитозана контролируется химически. Целевой процесс дезацетилирования хитина сопровождается разветвлением полимерных цепей в результате реакции концевой альдегидной группы с аминогруппой хитозана.

Впервые путём совместно-последовательного щёлочного дезацетилирования хитина и поливинилацетата синтезированы привитые сополимеры хитозана и поливинилового спирта, установлена связь состава и строения продуктов с растворимостью в воде (холодной, горячей, с нейтральной, щёлочной и кислой средой) и другими свойствами.

Практическая ценность. Предложены оптимизированные условия получения и модифицирования хитозана посредством твёрдотельного экструзионного метода, а также оригинальный способ очистки хитозана от избытка NaOH путём экстракции реакционной массы смесью растворителей, обеспечивающих отсутствие щёлочных стоков, сохранение аморфной структуры и высокой реакционной способности полимера.

Показано, что экструзионное дезацетилирование хитина в присутствии восстановителей приводит к снижению молекулярной массы и числа разветвлений образующегося хитозана, что важно для биохимического применения, в частности, инкапсулирования животных клеток, ферментов и других лекарственных препаратов.

Расширен круг производных хитозана, получаемых твёрдотельным экструзионным модифицированием. Предложены условия получения нового водорастворимого производного хитозана – его привитого сополимера с поливиниловым спиртом, растворы которого стабильны при pH 7 и выше и обладают хорошими плёнообразующими свойствами. С применением привитого сополимера получены микрокапсулы с животными клетками (мультиклеточные сфероиды).

Личный вклад автора заключается в планировании и проведении синтеза и исследования полученных образцов, выборе методов исследования, интерпретации результатов, разработке метода выделения хитозана и его привитого сополимера, схемы фракционирования привитых сополимеров и аппаратного оформления процессов.

Публикации. По теме работы опубликовано 20 печатных работ, включая тезисы докладов на конференциях и 2 патента.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на: Межд. студ. конф. «Фундаментальные науки - специалисту нового века» (Иваново, 2002); II Всеросс. научная конф. с межд. участием «Физикохимия процессов переработки полимеров» (Иваново, 2002); Всеросс. научно-технич. конф. «Современные технологии и оборудование текстильной промышленности» (Москва, 2002 и 2006); VII и VIII Межд. конф. «Современные перспективы в исследовании и использовании хитина и хитозана» (Санкт Петербург, 2003; Казань, 2006); III Всеросс. Каргинской конф. «Полимеры-2004» (Москва, 2004); Межд. научно-технич. конф. «Энергосберегающие технологии и оборудование, экологически безопасные производства» (Иваново, 2004); 13th European Carbohydrate Symposium (Словакия, Братислава, 2005); European Polymer Congress 2005 (Москва, 2005); VII международной научно-практической конференции "Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов" (Щёлково, 2005); IV Всерос. Каргинской конф. «Наука о полимерах 21-му веку» (Москва, 2007).

Структура диссертации. Диссертация изложена на 113 страницах печатного текста и состоит из введения, литературного обзора (2 раздела), методического раздела, обсуждения результатов (2 раздела), выводов и списка

литературы, который содержит 104 ссылки. Работа содержит 17 таблиц и 35 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** дана общая характеристика работы, обоснована её актуальность, и сформулированы цели исследования. **Литературный обзор** состоит из двух разделов. **Первый** включает сведения о хитозане и его производных, в том числе сополимерах, в нём же проведён анализ сведений о водорастворимых полимер-полимерных композициях хитозана. **Второй раздел** посвящен рассмотрению современных представлений о природе твёрдотельного химического взаимодействия в условиях пластической деформации и применению этого метода для дезацетилирования хитина и модификации хитозана посредством реакционной экструзии в твёрдом состоянии. В **методическом разделе** приведены характеристики исходных веществ, используемые методы синтеза, выделения и анализа. Описаны условия деформирования реакционной смеси при экструзионном синтезе.

Первый раздел главы «обсуждение результатов» посвящён исследованию закономерностей экструзионного¹ дезацетилирования твёрдого хитина, в частности влияния измельчения, размера и структуры частиц полимера на свойства образующегося хитозана. Падение молекулярной массы хитина (ММ 650 кД) после его экструзионного размола при 5 и 180°C составляет 37 и 53% соответственно. Использование однородного, мелкодисперсного хитина повышает степень дезацетилирования (СД) с 75 до 95% и выход хитозана ММ 55 – 150 кД с 75 до 96%. Отмечено, что форма частиц хитина влияет на вероятность их превращения в хитозан. Снижение СП хитозана по сравнению с исходным хитином связано с механоактивированной хемодеструкцией. Однако, на основании того, что хитозан при его экструдировании не только измельчается, но и теряет растворимость предложена схема образования ветвлений на полимерной цепи хитозана за счёт реакции концевых альдегидных и звеньевых аминогрупп (рис.1).

Изучено влияние различных оснований на СД и ММ образующегося хитозана. Установлено, что гидроксид аммония и гидроксид лития не активны при экструзионном дезацетилировании хитина. Замена NaOH на более активный КОН показала, что реакция имеет химический контроль, так как у образующегося хитозана СД растёт, а ММ снижается. Введение в реакционную смесь восстановителей - боргидрида и дитионита натрия - приводит к существенному падению ММ хитозана, получаемого в экструдере (таблица 1), тогда как у хитозана, полученного в суспензионном процессе, ММ растёт. Действие выбранных восстановителей, очевидно, связано с восстановлением концевых альдегидных групп, что предотвращает образование разветвленных макромолекул. Кроме того, в суспензионном процессе дезацетилирования скорость образования азометиновых групп ограничена диффузией.

¹ Твёрдотельный синтез и ряд исследований полученных продуктов проведены в ИСПМ им. Н.С. Ениколопова РАН под руководством А.Н. Зеленецкого, которому автор выражает большую благодарность.

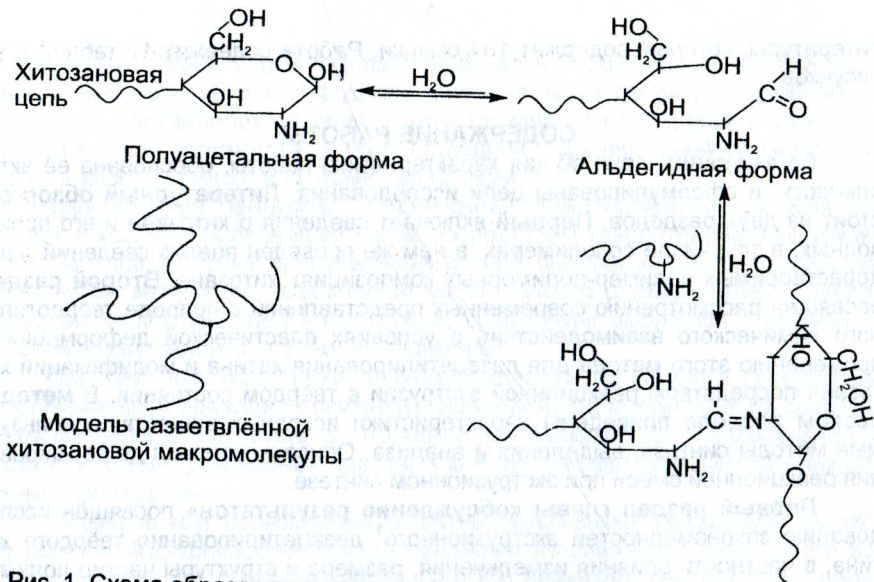


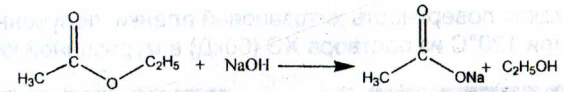
Рис. 1. Схема образования разветвлённых макромолекул хитозана за счёт реакций его аминогрупп с альдегидными

Таблица 1
Влияние восстановителей на характеристику хитозана, полученного
экструзией хитина со щёлочью

Образец хитозана	Щёлочь	Восстановитель, % от хитина	Выход хитозана, г/г хитина	Растворимость, %	СД, %	ММ, кД
ХЭ-14	NaOH	Нет	0,81	73,0	79	150
ХЭ-15	NaOH	NaBH ₄ , 5%	0,73	82,5	86	88
ХЭ-16	KOH	Нет	0,70	91,0	80	101
ХЭ-17	KOH	NaBH ₄ , 1%	0,65	94,3	81	75
ХЭ-18	NaOH	Нет	0,74	82,0	72	116
ХЭ-19	NaOH	NaBH ₄ , 1%	0,75	86,5	78	94
ХЭ-20	NaOH	NaBH ₄ , 2%	0,76	87,0	75	78
ХЭ-21	NaOH	Na ₂ S ₂ O ₄ , 5%	0,70	85,6	74	74
ХЭ-22	NaOH	Na ₂ S ₂ O ₄ , 20%	0,78	88,0	78	43

Образцы получены на жёстком наборе кулачков при соотношении хитин: щёлочь 1:5 основомоль/моль и температуре 180°C.

С целью сохранения структуры хитозана в процессе его выделения из реакционной массы был разработан и запатентован новый способ очистки хитозана от ацетата натрия и избыточной щелочи в условиях, исключающих набухание, пластификацию и кристаллизацию полимера. Способ заключается в экстракции реакционной массы смесью этилового спирта, воды и этилацетата, который превращает щёлочь в ацетат натрия по реакции:



Структура и строение образцов хитозана, полученных твёрдотельным способом, были изучены методами электронной микроскопии, рентгеноструктурного анализа, термического анализа, ядерного магнитного резонанса ¹³C и ИК-спектроскопии. Рентгеноструктурным исследованием доказано, что в процессе пластической деформации реагентов в экструдере их смешение происходит на сегментально-молекулярном уровне, в результате чего кинетика протекающей реакции имеет химический, а не диффузионный контроль. На степень кристалличности (СК) хитозана наиболее сильное влияние оказывает способ его выделения. Так, СК образцов суспензионного и экструзионного хитозана, выделенных промывкой водой и диализом водного раствора, равны (40 - 43%), несмотря на 8-ми кратное отличие их молекулярных масс. Выделение диализом и промывкой можно считать тождественными, с точки зрения воздействия условий на процесс кристаллизации хитозана. Экструзионный хитозан, выделенный экстракцией смесью спирт-вода-этилацетат, имеет наименьшую СК, что объясняется сохранением постреакционного разупорядочения структуры. Обработка хитозана на накопальном Бриджмена показывает, что не столько химическое взаимодействие, сколько пластическое течение является фактором, приводящим к разрушению кристаллитов. В целом же химическое строение экструзионного хитозана, идентично химическому строению суспензионного хитозана, а наиболее существенным отличием является его меньшая молекулярная масса и наличие разветвлений.

Изучена плёнообразующая способность 15-20% растворов экструзионного хитозана, вязкость которых находится на уровне десятков Па·с и сопоставима с вязкостью формовочных растворов других полимеров. Эксперимент по формованию плёнок испарением растворителя при 20°C из растворов хитозанов с различной молекулярной массой в муравьиной и уксусной кислотах показал, что плёнки из низкомолекулярных хитозанов 50-60 кД, в отличие от прозрачных, бездефектных и прочных (разрывное напряжение 90-130 МПа) плёнок из более высокомолекулярных хитозанов (180 - 300 кД), характеризуются мутностью и низкой прочностью. Переход к полимеру с большей молекулярной массой обеспечивает получение более однородных и прочных плёнок, причем для уксуснокислых форм это происходит при меньших величинах ММ полимера. Формование плёнок испарением растворителя при 120°C приводит к получению однородных и прочных плёнок из растворов хитозанов с ММ 50-300 кД в муравьиной и уксусной кислотах. Исследование поверхности плёнок методом электронной микроскопии подтвердило факт фазового разделения при высушении растворов низкомолекулярных хитозанов. На рис. 2а) и б) микрофотографиях плёнок, полученных из растворов хитозана с ММ 60кД в муравьиной и уксусной кислотах испарением растворителя при 20°C, видна выраженная пористая поверхность с непрерывной хитозановой фазой, при этом более развитой пористостью обладает плёнка, полученная из раствора в 4% муравьиной кислоте. Подобной структурой обладают разделительные, в частности, микрофильтрационные мембраны, формируемые в условиях контролируемого фазового разделения. Для сравнения на рис. 2в) представлена от-

носителю гладкая поверхность хитозановой пленки, полученной испарением растворителя при 120°C из раствора ХЭ (60кД) в муравьиной кислоте.

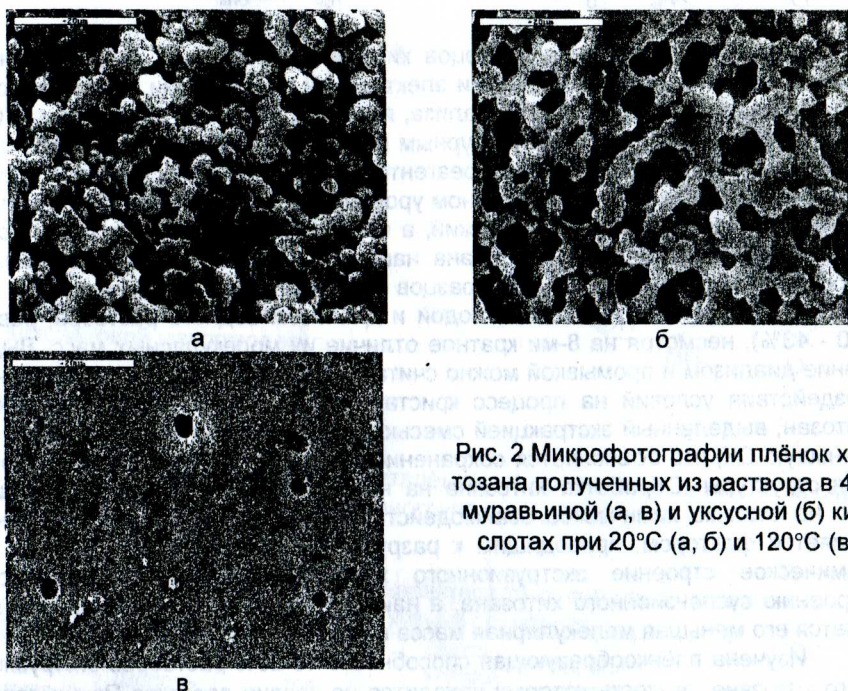


Рис. 2 Микрофотографии плёнок хитозана полученных из раствора в 4% муравьиной (а, в) и уксусной (б) кислотах при 20°C (а, б) и 120°C (в)

Второй раздел главы «обсуждение результатов» посвящён синтезу и исследованию привитых сополимеров хитозана и поливинилового спирта (ПВС). В работе для получения привитого сополимера предложен метод воздействия на полимеры давления и сдвиговых напряжений, позволяющий активировать неактивные в обычных условиях концевые альдегидные группы ПВС, которые становятся реакционноспособными по отношению к хитозану. Особенностью предлагаемого метода является также использование в качестве исходных полимеров хитина и поливинилацетата (ПВА), совместное щелочное деацетилирование которых в процессе соэкструзии приводит к образованию реакционной массы для получения привитых сополимеров (рис.3). Сделано предположение о том, что наилучшее распределение реагентов и наибольший выход привитого сополимера можно получить либо при совместном деацетилировании хитина и ПВА, либо при деацетилировании ПВА в среде свежесинтезированного и наиболее реакционноспособного аморфного хитозана. Макромолекулы хитозана и ПВС могут взаимодействовать, образуя азометиновые связи между аминогруппами хитозана и концевыми альдегидными группами ПВС, продуктами гидролиза и изомеризации концевой винилацетатной группы поливинилацетата или продукта механокрекинга поливинилового спирта. В получаемом сополимере хитозан играет роль хребта, а макромолекулы ПВС – привитых цепей.

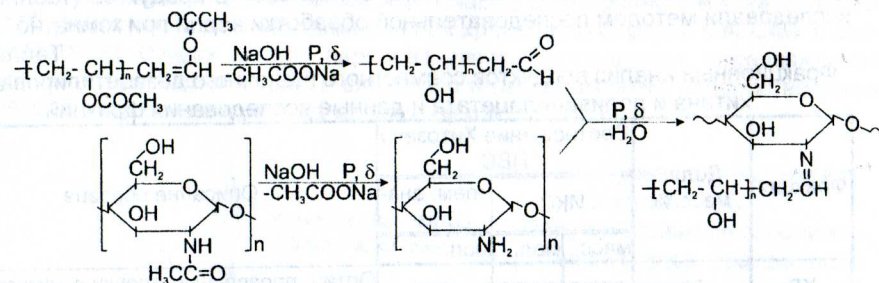


Рис. 3. Образование из поливинилацетата и хитина поливинилового спирта и хитозана, сопровождаемое их взаимодействием

Общепринятым доказательством образования сополимера является поведение полимерной системы в растворе, при этом для изучаемой системы в зависимости от содержания полимерных блоков и их взаимодействия между собой можно ожидать резкого изменения растворимости в различных растворителях. Очевидно, что фракция, обогащенная хитозаном, будет растворяться в кислых водных средах, а фракции с большим содержанием ПВС будут растворимы в горячей (90-95°C) или холодной (20-25°C) воде в зависимости от степени омыления, молекулярной массы, интенсивности межмолекулярного взаимодействия и кристалличности². Для выделения фракций, содержащих частично омыленный поливинилацетат, использовали экстракцию ацетоном и азеотропной смесью этанол-вода. Для исследования состава продуктов экструзионного деацетилирования смеси хитина и ПВА использовали также качественную реакцию на аминогруппы с нингидрином, потенциометрическое кислотно-основное титрование, ИК-спектроскопию, элементный, рентгеноструктурный и термический анализы.

Фракционный состав продукта экструзионного модифицирования эквивалентной смеси хитина и ПВА, полученного при низкотемпературном деацетилировании в присутствии 5 моль щелочи, в частности высокое содержание в нем исходных хитина и поливинилацетата говорит о том, что данные условия обработки не являются эффективными для деацетилирования исходных полимеров и не обеспечивают высокий выход привитого сополимера.

Задача повышения выхода привитых сополимеров была решена разделением синтеза на два этапа: деацетилирование хитина при 180°C с последующим добавлением к реакционной массе ПВА и повторной ее экструзией при 60 и 100°C. Для более равномерного смешения и устранения проскока между кулачками экструдера ПВА вводили в реакцию с изопропанолом, не образующим жидкой фазы. Присутствие спирта в зоне экструзии изменяет механизм реакции расщепления сложноэфирных связей со щелочного омыления на алкоголиз, катализатором которого служат алкоголяты щелочных металлов, образующиеся при взаимодействии спирта и щелочи. Очистку продукта проводили экстракцией смесью этилацетат-спирт-вода и электродиали-

² Ниже эти фракции будем обозначать KB, XB и GB, соответственно, а нерастворимую в водных средах фракцию – HP.

зом до полного обессоливания. Фракционный состав продуктов (таблица 2) исследовали методом последовательной обработки водой при комнатной

Таблица 2

Фракционный анализ продуктов совместного щелочного дезацетилирования хитина и поливинилацетата и данные исследования фракций

Фракция	Доля, масс. %	Соотношение Хитозан / ПВС			Описание образца
		ИКС		элемент. анализ	
		масс.	мол.		
ХВ	30	80/20	50/50	40/60	Оптич. прозрачные пленки с гомогенной структурой, хрупкие. СД 0.98 ± 0.02
ГВ	30	15/85	5/95	6/94	Оптич. прозрачные пленки с гомогенной структурой, хорошей мех. прочностью. СД 0.98 ± 0.02
КВ	40	98/2	90/10	-	СД 0.95 ± 0.02
Хитозан, полученный твердотельным синтезом в отсутствие ПВА					СД 0.90 ± 0.02 ; ММ 60,000 СК 25-30%

температуре, водой при повышенной температуре (80–90 °С), 2%-ной уксусной кислотой. Важно, что полученные продукты не содержат нерастворимых в водных средах фракций (нейтральных и кислых), а содержание остаточных ацетамидных и ацетатных звеньев в образовавшихся хитозане и ПВС, соответственно, по данным ИК-спектроскопии не превышало 1–2%. Как уже было сказано, прививка ПВС на хитозан протекает за счет конденсации концевых альдегидных групп ПВС с аминогруппами хитозана с образованием азометиновых связей ($-N=C-$) (рис. 3). Другие альтернативные пути – реакция кето групп продуктов окисления основной цепи ПВС или радикальная прививка за счет рекомбинации механически инициированных свободных радикалов маловероятны, так как должны приводить к образованию сшитых и нерастворимых продуктов.

Полученные сополимеры сравнивали с модельными смесями того же состава. ИК-спектры пленки из сополимера, растворимого в горячей и холодной воде (фракция ГВ и ХВ), и модельной пленки из смеси хитозана с ПВС, с заданным содержанием хитозана 5% мол. приведены на рис. 4. В качестве внутреннего стандарта для сопоставления спектров использована полоса поглощения деформационных колебаний метиленовых групп ПВС при 850 см^{-1} .

ИК-спектры свидетельствуют о высоком (50% моль.) содержании хитозана в исследуемой фракции. Однако, полоса поглощения образовавшихся узлов прививки (азометиновые связи $-N=C-$) проявляется лишь как плечо в области 1630 см^{-1} полосы поглощения свободных первичных аминогрупп (1600 см^{-1}) в спектре сополимера с эквимольным содержанием звеньев гомополимеров (рис. 4, ХВ), что не позволяет провести надежную количественную оценку их содержания.

Природа связи в узлах прививки подтверждается ее способностью гидролизироваться при длительном выдерживании пленок из сополимера в воде. В кислых водных средах гидролиз ускоряется. По данным ИКС содержание хитозана в сополимере при этом снижается. Восстановление азометиновых свя-

зей в полученных продуктах с помощью NaBH_4 до вторичного амина приводит к стабильности состава сополимеров при хранении растворов в водных и воднокислотных средах и при переосаждении. Многократное переосаждение фракций КВ из кислой среды в щелочную и переосаждение водорастворимых фракций в ацетон не изменяет их химического состава.

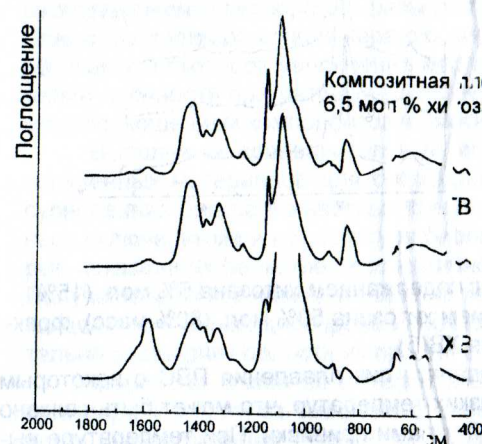


Рис. 4 ИК-фурье спектры пленок Хитозан/ПВС

Получив привитые сополимеры, установив связь фракционного состава получаемых продуктов с растворимостью в разных средах и показав их пленкообразующие свойства, целесообразно было исследовать особенности надмолекулярной структуры и влияние состава и структуры на ряд других свойств например, термических, дегормационно-прочностных, биоразлагаемость пленок из них.

Наиболее информативным методом исследования надмолекулярной структуры полимеров является метод дифракционного рассеяния рентгеновских лучей. Нефракционированный продукт прививки обладает меньшей степенью кристалличности. Степень кристалличности хитозана, осаждаемого щелочью из раствора КВ в 2% уксусной кислоте составляет 40% против 25% для образца экстракционного хитозана, переосажденного в аналогичных условиях, что свидетельствует о пониженном числе дефектов (в том числе ветвлений) у макромолекул хитозана, полученного экстракцией с ПВА.

Дифрактограмма фракции ГВ с содержанием хитозана 15 мас.% представляет собой типичную дифрактограмму чистого ПВС (рис. 5а, кривая 1). Степень кристалличности полимера растет при удалении воды путем кратковременного отжига при 120°C (кривая 2) и снижается при выдерживании пленки при 100%-ой влажности (кривая 3). Дифрактограмма фракции ХВ сополимера с равным мольным соотношением звеньев в ПВС и хитозана, в существенной степени отражает физическую структуру хитозана с высокой степенью кристалличности (рис. 5б, кривая 1). Температурная обработка этого образца приводит к потере кристаллической структуры хитозана и появлению рефлексов кристаллической структуры ПВС. при значениях угла дифракции 2θ близких к 11 и 19° (кривая 2). Эти изменения полностью обратимы, и картина возвращается к исходной при набухании образца при 100%-ной влажности (кривая 3).

Следует отметить, что пленка, полученная из сополимера с равным мольным соотношением звеньев ПВС/хитозан, растворимого в воде при комнатной температуре (фракция ХВ), растворяется в воде только при нагревании. Очевидно, что это связано с кристаллизацией привитых цепей ПВС. Действительно, данные ДТА-анализа переосажденной фракции ХВ показывают,

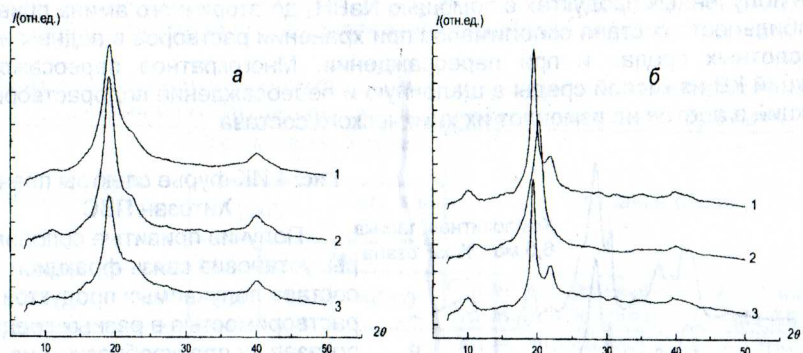


Рис. 5. Дифрактограммы образца с содержанием хитозана 5% мол. (15% масс.), фракция ГВ (а) и с содержанием хитозана 50% мол. (80% масс), фракция ХВ(б).

что при нагревании образца наблюдается пик плавления ПВС с некоторым смещением максимума в сторону низких температур, что может быть связано с дефектностью структуры, вносимой узлами прививки. При температуре выше 260° С начинается деструкция сополимера, заключающаяся в эндотермическом процессе дегидратации ПВС. Этот процесс доминирует и перекрывает экзотермический процесс термоокислительной деструкции.

Проведены физико-механические исследования пленок из сополимеров и смесей гомополимеров. В таблице 3 приведены статистически обработанные результаты испытания модельных и сополимерных плёнок, в виде зависимости прочности, модуля упругости и удлинения от содержания хитозана.

Таблица 3

Деформационно-прочностные характеристики плёнок

Соотношение звеньев полимеров в плёнке хитозан:ПВС г/г	Прочность, σ , МПа	Модуль упругости, E , МПа	Удлинение, %
0:100	61,2	3098	2,3
10:90	102,4	2334	4,6
20:80	89,9	1908	5,3
30:70	92,1	2097	5,7
40:60	83,6	1856	5,5
70:30	66,2	1679	4,9
80:20	78,0	2120	4,4
фракция ГВ	81,3	2536	4,2
фракция ХВ	57,6	1444	5,1

Как видно из данных таблицы, все смесевые композитные пленки обладают хорошей механической прочностью и за счет предотвращения кристаллизации ПВС в присутствии хитозана показывают увеличение разрывной прочности и удлинения при разрыве по сравнению с пленками из чистого ПВС. Это свидетельствует о достаточно равномерном распределении дисперсной фазы (хитозан) в полимерной матрице (ПВС). Увеличение содержания хитозана в смеси приводит к снижению модуля упругости и росту относительного удли-

нения. Хотя прочность пленки, содержащей 80% относительно низкомолекулярного хитозана, необладающего хорошими прочностными свойствами, даже несколько выше, чем у пленки из чистого ПВС. Последнее, по-видимому, обусловлено как образованием сетки межмолекулярных водородных связей между хитозаном и ПВС, так и спецификой морфологии пленки: равномерным распределением дисперсной фазы (хитозан) в дисперсионной среде (ПВС). Пленки из раствора сополимера с содержанием хитозана 15 масс.% (фракция ГВ) имеют некоторое увеличение модуля упругости при незначительном снижении прочности при разрыве по сравнению с модельными пленками с близким соотношением компонентов в смеси.

Выполнены предварительные исследования возможности применения полученных материалов для биомедицинских целей, в частности для инкапсулирования белков и животных клеток (рис. 6), для создания покрытий на раны с включенными в их структуру биологически активными веществами, которые показали их большую перспективность для решения поставленных задач. Полученные сополимеры являются также эффективными стабилизаторами концентрированных дисперсий наночастиц в полимерной матрице, что значительно расширяет область их практического применения.

Отмечено, различие в скорости биodeградации пленки из привитого сополимера и пленки из смеси хитозана и ПВС того же состава. Меньшая скорость биodeградации пленки из сополимера обусловлена, однородностью структуры и тем, что синтетический полимер и природный связаны ковалентной связью.

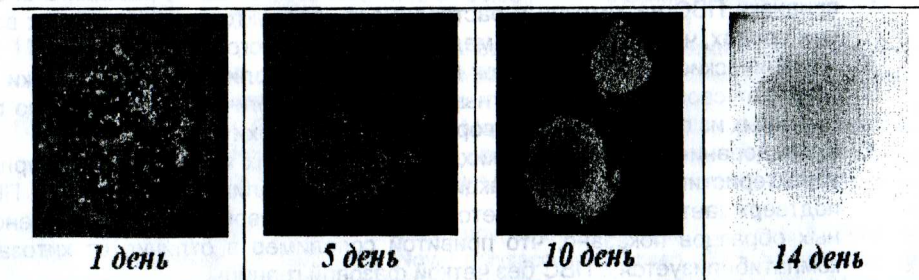


Рис. 6. Микрокапсулы на основе привитого сополимера хитозана с ПВС

ВЫВОДЫ

1. При твердотельном экструзионном синтезе хитозана в условиях, обеспечивающих сохранение передачи механической энергии на реагенты, щелочное дезацетилирование хитина контролируется химически, вследствие чего при одинаковом мольном соотношении хитина и щелочи NaOH менее активен, чем более основной KOH, а с LiOH, оказывающим антифрикционный эффект и нарушающим передачу механического усилия, реакция вообще не идет.

2. Показано, что из-за высокой активности функциональных групп хитозана – амино- и концевых альдегидных групп – твердотельный синтез полимера сопровождается разветвлением его цепей. Восстановление альдегидных групп полисахарида предотвращает процесс ветвления и приводит к падению ММ получаемого хитозана.
3. Предварительное измельчение хитина позволяет интенсифицировать процесс его твердотельного дезацетилирования, а протекающее при этом объемное пластическое деформирование частиц полимера и щелочи приводит к их аморфизации без изменения размера. Кристаллическая фаза хитозана формируется под воздействием влаги, сорбируемой реакционной массой, при ее выдерживании.
4. Предложен оригинальный способ очистки хитозана от избытка щелочи, практически исключающий использование воды, образование большого количества щелочных стоков и особенно эффективный при выделении хитозана от твердотельной и мелкодисперсной реакционной смеси. Получаемый таким способом хитозан характеризуется более аморфной структурой и высокой реакционной способностью.
5. Показано влияние молекулярной массы хитозана, типа аниона протонирующей кислоты и температуры испарения растворителя на возможность протекания фазового разделения и формирование пленок с пористой структурой.
6. Показано, что при совместно-последовательном твердотельном экструзионном дезацетилировании смеси хитина и поливинилацетата образуются привитые сополимеры хитозана и поливинилового спирта. Проведено фракционное разделение продуктов прививки и показана высокая степень прививки ПВС на хитозан и растворимость продуктов в нейтральных водных средах, что важно для их медико-биологического применения.
7. Механические свойства пленок из привитых сополимеров практически не уступают свойствам композитных пленок с аналогичным составом, но полученных из смешанного раствора ПВС и ацетата хитозана.
8. Исследование морфологических, теплофизических и рентгеноструктурных характеристик различных фракций привитых сополимеров хитозана и ПВС подтверждает их строение. Методом атомно-силовой микроскопии пленочных образцов показано, что привитой сополимер в отличие от хитозана компатибилизует с ПВС без четкой фазовой границы.

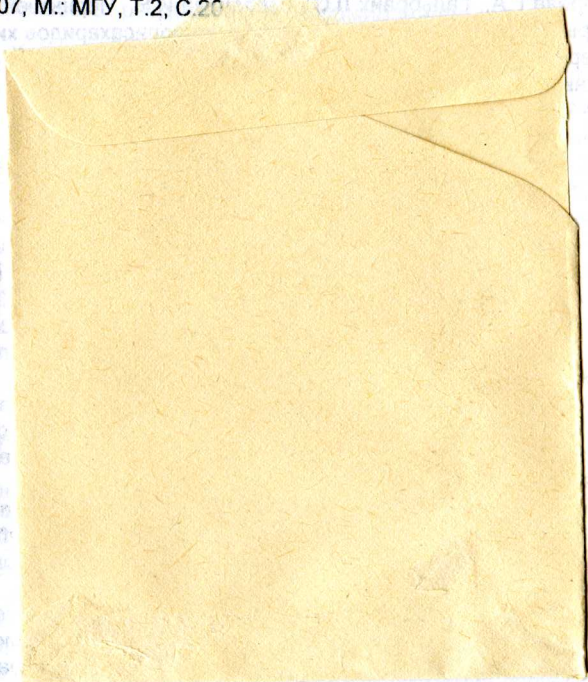
Основные результаты работы содержатся в следующих публикациях.

1. Чернышенко А.О., Аكوпова Т.А., Вихорева Г.А. Применение твердофазных процессов для дезацетилирования хитина // Тез. докл. межд. студ. конф. «Фундаментальные науки - специалисту нового века», Иваново: «Иваново», 2002, С.203-204.
2. Чернышенко А.О., Аكوпова Т.А., Вихорева Г.А., Роговина С.З., Оболонкова Е.С., Зеленецкий А.Н. Модифицирование полисахаридов в твердом состоянии // Тез. докл. II всеросс. науч. конф. с межд. участием «Физикохимия процессов переработки полимеров» Иваново: «Иваново», 2002, С.74.
3. Горбачева И.Н., Вихорева Г.А., Чернышенко А.О. Получение полимерных композиций на основе полисахаридов в условиях твердотельного модифицирования // Тез. докл. всеросс. научно-технич. конф. «Современные технологии и оборудование текстильной промышленности» (Текстиль 02), М.: МГТУ, 2003, С.128.

4. Вихорева Г.А., Чернышенко А.О., Аكوпова Т.А., Зеленецкий С.Н., Зеленецкий А.Н. Структурные и химические превращения хитина при экструзионной обработке и оптимизация условий получения хитозана // Химическая технология, 2003, №5, С.18-25.
5. Чернышенко А.О., Аكوпова Т.А., Вихорева Г.А., Зеленецкий С.Н., Зеленецкий А.Н. Роль стабилизаторов, восстановителей и природы основания при твердотельном дезацетилировании хитина // Мат. VII межд. конф. «Современные перспективы в исследовании и использовании хитина и хитозана» М.: ВНИРО, 2003, С.58-59.
6. Аكوпова Т.А., Чернышенко А.О., Зеленецкий С.Н., Зеленецкий А.Н., Вихорева Г.А. Влияние условий механического воздействия на молекулярную массу полисахаридов // Тез. докл. III всеросс. Каргинской конф. «Полимеры-2004», М.: МГУ, Т2, С.111.
7. Федоров М.Б., Чернышенко А.О., Вихорева Г.А. Разработка условий получения хитозановых пленок // Тез. докл. межд. научно-технич. конф. «Энергосберегающие технологии и оборудование, экологически безопасные производства», Иваново: «Иваново», 2004, Т.2, С.16.
8. Чернышенко А.О., Вихорева Г.А. Влияние молекулярной массы хитозана на структуру и свойства пленок, сформированных по сухому способу из растворов полимера в муравьиной и уксусной кислотах // Сб. асп. раб., М.: МГТУ, 2005, №9, С.110-115.
9. Вихорева Г.А., Гальбрайх Л.С., Горбачева И.Н., Чернышенко А.О. Разработки кафедры ТХВ в области модифицирования полисахаридов хитина и хитозана // Полимеры и полимерные материалы: синтез, строение, структура, свойства / Сб. научных трудов под ред. д.х.н. проф. Гальбрайха Л.С. М.: МГТУ, 2005, 332с., С.92-101.
10. Чернышенко А.О., Вихорева Г.А., Гальбрайх Л.С. Способ выделения очищенного хитозана // заявка № 2005113211/15 от 03.05.2005. Решение о выдаче патента РФ № 2286352 от 23.05.2006.
11. Чернышенко А.О., Аكوпова Т.А., Могилевская Е.Л., Зеленецкий С.Н., Вихорева Г.А., Зеленецкий А.Н. Реакционное смешение хитина и поливинилацетата в твердом агрегатном состоянии // Химическая технология, 2006, №2, С.20-24.
12. Т.А. Akopova, A.O. Chernyshenko, E.L. Mogilevskaya, A.N. Zelenetski, L.V. Vladimirov, A.N. Ozerin. Novel chitosan-based water-soluble graft-copolymers obtained by solid state synthesis // Abstr. 13th European Carbohydrate Symposium, Bratislava, Slovakia, 2005, OP.3.
13. Т. Akopova, A. Chernyshenko, L. Vladimirov, E. Mogilevskaya, A. Ozerin, S. Zelenetski, A. Zelenetski, G. Vikhoreva. Novel polysaccharide-based materials obtained by solidstate co-extrusion // Ext. abstr. European Polymer Congress 2005 (CD), Moscow, Russia. P5.2-2, Ref 3975.
14. Т. Akopova, E. Markvicheva, L. Vladimirov, V. Zhorin, A. Zelenetski, A. Chernyshenko, K. Stashevskaya, N. Novikova, L. Rumsh. Water-soluble grafted chitosan derivatives for biomedical applications // Ext. abstr. European Polymer Congress 2005 (CD), Moscow, Russia. P4.2-2, Ref 3496.
15. Аكوпова Т.А., Марквичева Е.А., Сташевская К.С., Чернышенко А.О., Жорин В.А., Румш Л.Д., Зеленецкий А.Н. Механохимический синтез систем с пролонгированным выделением терапевтических агентов для лечения ран // Мат. VII межд. научно-практической конф. "Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов", Щелково, 2005, С.502-506.
16. Озерин А.Н., Зеленецкий А.Н., Аكوпова Т.А., Зеленецкий С.Н., Владимиров Л.В., Жорин В.А., Могилевская Е.Л., Чернышенко А.О., Вихорева Г.А. Способ получения привитых сополимеров хитина и хитозана с синтетическими полимерами //

заявка № 2005128133 от 09.09.2005. Решение о выдаче патента РФ от 28.09.2006.

17. Аكوпова Т.А., Зеленецкий А.Н., Владимиров Л.В., Чернышенко А.О., Могилевская Е.Л., Жорин В.А., Зеленецкий С.Н., Марквичёва Е.А., Озерин А.Н. Реакционное смешение хитозана: новый подход к получению материалов биомедицинского применения // Мат. VIII межд. конф. «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана (РосХит 2006)», М.:ВНИРО, 2006, С.10-13.
18. Чернышенко А.О., Аكوпова Т.А., Семёнова Г.К., Кечежян А.С., Владимиров Л.В., Зеленецкий А.Н., Вихорева Г.А. Полимерные материалы на основе хитозана с улучшенными механическими свойствами // Мат. VIII межд. конф. «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана (РосХит 2006)», М.:ВНИРО, 2006, С.150-152.
19. Зайцева-Зотова Д.С., Хмелев Г.В., Чернышенко А.О., Аكوпова Т.А., Зеленецкий А.Н., Ерохина Т.Н., Марквичёва Е.А. Микрокапсулы на основе хитозана и его производных для получения мультиклеточных раковых сфероидов // Мат. VIII межд. конф. «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана (РосХит 2006)», М.:ВНИРО, 2006, С.200-204.
20. Аكوпова Т.А., Чернышенко А.О., Владимиров Л.В., Кузнецов А.А., Зеленецкий А.Н. Синтез бифункциональных систем на основе полисахаридов и полиэфигов при пластическом течении // Тез. докл. IV всерос. Каргинской конф. «Наука о полимерах 21-му веку», 2007, М.: МГУ, Т.2, С.20



Подписано в печать 26.04.07

Формат бумаги 60x84/16 Бумага множ.

Усл.печ.л. 1,0 Заказ 195 Тираж 80

МГТУ им. А.Н. Косыгина, 119071, Москва, ул. Малая Калужская, 1