ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ИНСТИТУТ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ИМ. Н.С.ЕНИКОЛОПОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

ПОПЫРИНА ТАТЬЯНА НИКОЛАЕВНА

МЕХАНОХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ГИДРОФОБИЗИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИТОЗАНА И ПОЛУЧЕНИЕ МАТЕРИАЛОВ НА ИХ ОСНОВЕ

1.4.7 – Высокомолекулярные соединения (химические науки)

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель: д.х.н. Демина Татьяна Сергеевна

Москва – 2024

оглавление

ОГЛАВЛЕНИЕ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	12
1.1 Механохимическое модифицирование полисахаридов	12
1.1.1 Общие закономерности механохимических превращений органических	
соединений	12
1.1.2 Виды оборудования для проведения механохимического модифицирования	15
1.1.3 Механохимические превращения полисахаридов	22
1.2 Хитозан и его модифицирование	26
1.2.1 Хитозан: получение, структура и свойства	26
1.2.2 Модифицирование хитозана	31
1.2.2.1 Виды производных хитозана	32
1.2.2.2 Механохимический синтез производных хитозана	38
1.3 Хитозансодержащие материалы: методы получения и применение	40
1.4 Обобщение литературного обзора и постановка задач исследования	49
ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	52
2.1 Основные характеристики исходных веществ	52
2.2 Оборудование для проведения механохимического модифицирования	52
2.3 Объекты исследования	53
2.3.1 Алкилированные производные хитозана	53
2.3.2 Ацилированное производное хитозана	54
2.3.3 Пленки на основе хитозана/гидрофобизированных производных	54
2.3.4 Наполненные гидрофобизированными производными хитозана материалы	55
2.3.5 Эмульсии масло/вода и полимерные микрочастицы	56
2.3.6 Трехмерные структуры на основе полимерных микрочастиц	57
2.4 Методы исследования	59
2.4.1 Вискозиметрический метод определения молекулярной массы	59
2.4.2 Потенциометрическое титрование	59
2.4.3 Фракционирование продуктов механохимического модифицирования	60
2.4.4 ИК-спектроскопия	61
2.4.5 Элементный анализ	62
2.4.6 Определение степени прививки	63
2.4.7 Динамическое лазерное светорассеяние	63
2.4.8 УФ-спектроскопия	64

2.4.9 Метод определения потери массы пленок	64
2.4.10 Весовой метод исследования набухания пленок	65
2.4.11 Механические испытания	65
2.4.12 Дифференциальная сканирующая калориметрия и термогравиметрический ан	нализ66
2.4.13 Показатель текучести расплава	67
2.4.14 Реологические исследования	67
2.4.15 Оптическая микроскопия	67
2.4.16 Стабильность эмульсий и механизм их разрушения	68
2.4.17 Сканирующая электронная микроскопия	68
2.4.18 Определение насыпной плотности микрочастиц	69
2.4.19 Определение удельной поверхности микрочастиц и их сорбционной способно	ости69
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	71
3.1 Механохимический синтез гидрофобизированных производных хитозана	71
3.1.1 Алкилированные производные	71
3.1.2 Ацилированное производное	79
3.2 Пленки на основе хитозана и его гидрофобизированных производных	
3.3 Материалы, наполненные гидрофобизированными производными хитозана	
3.4 Применение хитозана и его гидрофобизированных производных для стаб	билизации
эмульсий и получения материалов, сформированных из эмульсий	96
3.4.1 Эмульсии масло/вода, стабилизированные хитозаном и его производными	96
3.4.2 Характеристика полимерных микрочастиц, полученных методом испарения	
растворителя из эмульсий	106
3.4.3 Поверхностно-селективное лазерное спекание полимерных микрочастиц	110
выводы	113
БЛАГОДАРНОСТИ	114
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ	115
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	117

введение

Актуальность темы исследования.

Разработка экологически чистых подходов к синтезу и модифицированию полимеров, а также переход на природные материалы являются одними из основных направлений развития современной полимерной химии. Полимеры природного происхождения, в т.ч. полисахариды, обладают широким спектром физико-химических свойств, биосовместимостью и способностью к биодеградации, что обеспечивает материалам на их основе широкое применение во многих областях. Одним из наиболее распространенных и перспективных с практической точки зрения природных полимеров является хитозан – производное хитина – второго по распространенности в природе полисахарида после целлюлозы. Химическая структура хитозана, содержащая аминные и гидроксильные группы, позволяет получать на его основе производные, используя различные функциональные заместители (сульфо-, карбоксиметил-, аллил-, сукцинил- и другие группы). Модифицирование химической структуры хитозана открывает ряд новых возможностей как с точки зрения технологий, доступных для формования хитозансодержащих материалов, так и для достижения требуемых свойств.

Одним из перспективных способов модифицирования химической структуры хитозана является прививка на него гидрофобных фрагментов различной длины, что открывает возможности для синтеза его производных с амфифильными свойствами и повышенным сродством к гидрофобным синтетическим полимерам. Однако модифицирование хитозана при помощи растворных технологий требует нескольких этапов синтеза и сложной очистки вследствие применения катализаторов и токсичных растворителей. Также при проведении синтеза в растворе сложно обеспечить достаточную степень полимеризации привитых цепей и высокую производительность процессов. Механохимическое модифицирование химической структуры хитозана в условиях реакционного смешения компонентов под действием давления и сдвиговых напряжений в экструдере – это безопасная и экономически целесообразная альтернатива растворным технологиям. Механохимический подход отличается простотой проведения процесса и возможностью избежать применения растворителей и катализаторов, что благоприятно для экологии и безопасно для последующего применения материалов в медицине или пищевой промышленности. Кроме этого, механохимическая обработка позволяет достигать высокой степени замещения или прививки гидрофобных фрагментов на хитозан, а также изменять растворимость получаемых производных в разных средах благодаря оптимизации степени полимеризации привитой цепи.

Таким образом, изучение возможностей применения механохимического подхода к модифицированию химической структуры хитозана с целью получения гидрофобизированных производных, является актуальной задачей, успешное решение которой позволит получать

экологичные материалы широкого спектра применения с ценными практически важными свойствами.

Степень разработанности темы исследования.

На протяжении последних нескольких десятилетий по всему миру проводится множество исследований, направленных на механохимическое модифицирование как низко-, так и высокомолекулярных веществ, включая полисахариды. В Российской Федерации такие исследования в основном проводятся в научных институтах: ФИЦ ХФ РАН, ИХТТМ СО РАН и ИСПМ РАН. Рост интереса к данной теме также можно наблюдать по увеличению публикаций во всем мире. Большая часть таких публикаций фокусируется на механохимических процессах и их закономерностях, связанных с модификацией полимеров на лабораторных установках. Необходимость поиска новых методов для перехода химических технологий на экологически безопасный и более эффективный путь требует разработки фундаментальных основ использования механохимического подхода для изменения структуры природных полимеров и решения специфических задач в области материаловедения.

Данная диссертационная работа является продолжением ранее проведенных исследований, посвященных механохимической модификации полисахаридов, осуществляемых в ИСПМ РАН.

Цель и задачи.

Целью диссертационной работы является исследование закономерностей процесса синтеза гидрофобизированных производных хитозана путем механохимической обработки твердых смесей хитозана с глицидиловыми эфирами гексадекана и докозана, олиголактидом и коллагеном, а также исследование влияния химической структуры полученных производных на возможность формования, морфологию и свойства материалов различной формы.

Для достижения поставленной цели было необходимо решить следующие задачи:

- исследование закономерностей механохимического синтеза алкилированных производных хитозана путем его обработки с глицидиловыми эфирами различной длины;
- получение пленочных и микроволокнистых материалов на основе гидрофобизированных производных хитозана с применением различных технологий переработки, а также оценка влияния химической структуры производных на морфологию и свойства полученных материалов;
- выявление закономерностей стабилизации эмульсий масло/вода немодифицированным хитозаном и его гидрофобизированными производными, в т.ч. в процессе формирования микрочастиц из полилактида методом испарения растворителя из эмульсий масло/вода, а также оценка влияния химической структуры производных на выход, распределение микрочастиц по размерам, их морфологию поверхности и объема;

 оценка возможности применения полученных микрочастиц в качестве исходных компонентов в ходе формования на их основе трехмерных структур методом поверхностноселективного лазерного спекания.

Научная новизна диссертационной работы:

- Впервые в условиях механохимической обработки синтезированы гидрофобизированные производные хитозана при его взаимодействии с глицидиловыми эфирами гексадекана и докозана, а также выявлены условия, позволяющие получать N-замещенные производные с суммарным содержанием заместителей 5-12 на макромолекулу хитозана со степенью полимеризации 500-2000.
- Выявлена взаимосвязь химической структуры и растворимости производных хитозана, синтезированных путем его механохимического взаимодействия с алкилглицидиловыми эфирами.
- Впервые изучена способность полученных алкилпроизводных к формированию пленочных материалов и показана возможность использования их в качестве наполнителя для полиолефиновых пленок.
- Впервые выявлена взаимосвязь между химической структурой алкилированных производных хитозана, используемых в качестве эмульгаторов в дисперсионной среде, с характеристиками микрочастиц из полилактида, формируемых методом испарения растворителя из эмульсий масло/вода.
- 5. Впервые показана пригодность микрочастиц из полилактида, стабилизированных гидрофобизированными производными хитозана, для формирования на их основе трехмерных структур методом поверхностно-селективного лазерного спекания.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Теоретическая значимость работы заключается в выявлении основных закономерностей механохимического синтеза алкилированных производных хитозана. Установлены закономерности влияния химической структуры хитозана и его производных на химический состав, морфологию и свойства поверхности материалов на их основе.

Практическая значимость работы заключается в разработке методов получения амфифильных хитозансодержащих систем, которые можно перерабатывать в материалы по растворным или расплавным технологиям. Показана возможность применения гидрофобизированных производных для получения методом испарения растворителя из эмульсий масло/вода микрочастиц из полилактида, а также оценено дальнейшее применение полученных микрочастиц в качестве исходного материала для формирования на их основе трехмерных структур методом поверхностно-селективного лазерного спекания.

Методология и методы исследования.

база твердофазного Методологическая включает использование методики механохимического синтеза для создания гидрофобизированных производных хитозана с разной длиной привитых фрагментов. Химическую структуру полученных производных подтверждали помощью методов: потенциометрического с титрования, элементного анализа, ИК-спектроскопии. Материалы (пленки, микроволокнистые материалы, эмульсии, микрочастицы, трехмерные структуры) на основе немодифицированного хитозана и его синтезированных производных формовали при помощи методов, основанных на растворных, расплавных, межфазных и аддитивных технологиях: полив растворов полимеров на подложку с последующим испарением растворителя, совмещение компонентов в расплаве при помощи Брабендера, электроформование, смесителя эмульгирование, поверхностно-селективное лазерное спекание. Полученные в ходе работы материалы исследованы широким спектром физико-химических методов: УФ-спектроскопия, световая, флуоресцентная и сканирующая электронная микроскопии, ДЛС, методы определения механических свойств полимерных материалов, ДСК и ТГА.

Положения, выносимые на защиту:

- Механохимическая обработка хитозана с глицидиловыми эфирами гексадекана и докозана позволяет получать N-замещенные производные с суммарным содержанием заместителей 5-12 на макромолекулу хитозана; степень замещения алкилированных производных зависит от реакционной способности алкилирующего реагента, которая выше в случае модификатора с меньшей длиной цепи.
- Гидрофобизированные производные хитозана склонны к агрегированию в водных растворах с образованием ассоциатов с широким диапазоном размеров, который превышает размер ассоциатов, характерный для образцов немодифицированного хитозана.
- 3. Введение гидрофобных фрагментов в химическую структуру хитозана приводит к гетерогенности пленочных материалов на его основе и изменению их механических свойств. Использование алкилпроизводных приводит к увеличению пластичности пленок, а применение ацилированного производного, содержащего фрагменты аморфнокристаллического олиго(L,L-лактида) в качестве заместителя, наоборот, приводит к увеличению прочности пленок со снижением их пластичности.
- 4. Гидрофобизированные производные хитозана обладают амфифильными свойствами, за счет чего улучшается их эмульгирующая способность по сравнению с немодифицированным хитозаном, что позволяет получать эмульсии масло/вода с меньшим средним размером дисперсной фазы и повышенной устойчивостью к коалесценции.

5. Применение в дисперсионной среде алкилированных производных хитозана в процессе формирования полимерных микрочастиц из полилактида с помощью метода испарения растворителя из эмульсий способствует увеличению их выхода.

Личный вклад автора.

Автор диссертации принимал активное участие во всех этапах выполнения работы: от процесса выбора и формулирования темы исследования, постановки ее цели и задач, поиска и анализа литературы до интерпретации и обобщения результатов, которые отражены в подготовленных автором статьях и представлены на научных конференциях. Лично или с участием автора был проведен механохимический синтез на двухшнековом экструдере гидрофобизированных производных хитозана, охарактеризована их химическая структура, а также получен и исследован ряд материалов на их основе.

Работа выполнена автором в рамках проведения исследований, включенных в план ИСПМ РАН, грантов Российского фонда фундаментальных исследований (№ 19-53-45048) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2020-794, темы FFSM-2021-0006 и FRES-2024-0001).

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность полученных в рамках диссертационной работы результатов, обеспечивается и подтверждается использованием комплекса современных физико-химических методов анализа полимеров и сформованных на их основе материалов, а также сопоставлением и обобщением результатов, полученных с помощью различных методик. Уровень достоверности полученных результатов определяется фактом их опубликования в специализированных изданиях, обладающих строгими стандартами «слепого» рецензирования, проводимого как международными, так и отечественными специалистами.

Результаты работы апробировались на следующих международных и российских научных конференциях:

- Попырина Т.Н. Гидрофобизированные производные хитозана для стабилизации границы раздела фаз прямых эмульсий / Т.Н. Попырина, К.В. Емельянов // Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2024». – Москва, 2024. – С. 246.
- Попырина Т.Н. Материалы биомедицинского назначения на основе хитозана и его гидрофобизированных производных / Т.Н. Попырина, Т.С. Демина, Т.А. Акопова // IX Всероссийская Каргинская конференция «Полимеры – 2024». – Москва, 2024. – С. 167.
- 3. Попырина Т.Н. Механохимический синтез гидрофобизированных производных хитозана для получения полимерных микрочастиц / Т.Н. Попырина, Е.Д. Минаева, К.В. Емельянов,

Н.В. Минаев, Т.А. Акопова, Т.С. Демина // IX Всероссийская Каргинская конференция «Полимеры –2024». – Москва, 2024. – С. 83.

- 4. Попырина Т.Н. Хитозан и его гидрофобизированные производные для получения микрочастиц из полилактида методом испарения растворителя из эмульсии масло/вода / Т.Н. Попырина, Е.Д. Минаева, Н.В. Минаев, Т.С. Демина, Т.А. Акопова // Всероссийская конференция «Поверхностные явления в дисперсных системах». Москва, 2023. С. 104.
- Demina T.S. Mechanochemically modified polysaccharides as stabilizers for emulsions / T.S. Demina, T.N. Popyrina, T.A. Akopova // VI International Conference «Fundamental Bases of Mechanochemical Technologies». – Novosibirsk, 2022. – P. 22.
- Попырина Т.Н. Амфифильные алкилированные производные хитозана для стабилизации эмульсий масло/вода / Т.Н. Попырина, Т.С. Демина, Т.А. Акопова // Современные проблемы науки о полимерах 16-я Санкт-Петербургская конференция молодых ученых с международным участием. – Санкт-Петербург, 2022. – С. 222.
- Popyrina T.N. Alkyl derivatives of chitosan as fillers in polyolefine films / T.N. Popyrina, Yu.M. Evtushenko, Yu.A. Grigor`ev, I.O. Kuchkina, T.S. Demina, T.A. Akopova // VI International Conference «Fundamental Bases of Mechanochemical Technologies». - Novosibirsk, 2022. – P. 86.
- Попырина Т.Н. Материалы на основе производных хитозана с алкилглицидиловыми эфирами / Т.Н. Попырина // XLVIII Международная молодёжная научная конференция «Гагаринские чтения-2022». – Москва, 2022. – С. 541–542.
- Попырина Т.Н. Материалы для биомедицины на основе производных и сополимеров хитозана / Т.Н. Попырина, Т.С. Демина, Т.А. Акопова // V Национальный конгресс по регенеративной медицине. – Москва, 2022. – С. 188.
- 10. Ивановская Е.В. Природные полимеры как эмульгаторы для стабилизации границы раздела фаз масло/вода / Е.В. Ивановская, З.И. Хайбуллин, Т.Н. Попырина // XLVII Международная молодёжная научная конференция «Гагаринские чтения-2021». – Москва, 2021. – С. 1005.
- 11. Лунев И.В. Влияние термической обработки на структуру и свойства плёнок из хитозана и его сополимера с олиголактидом и коллагеном / И.В. Лунев, А.В. Бирдибекова, Т.Н. Попырина // XLVI Международная молодёжная научная конференция «Гагаринские чтения-2020». – Москва, 2020. – С. 1062.
- 12. Попырина Т.Н. Трехмерные материалы на основе амфифильного сополимера хитозана с олиголактидом и коллагеном / Т.Н. Попырина, Л.А. Киляшова, А.С. Курьянова, Е.В. Истранова, Т.С. Демина, П.С. Тимашев, Т.А. Акопова // Пятый междисциплинарный научный форум с международным участием «Новые материалы и перспективные технологии». Москва, 2019. С. 539–543.

- Киляшова Л.А. Регулирование структуры и морфологии биодеградируемых микрочастиц для регенеративной медицины / Л.А. Киляшова, Т.В. Черненок, Т.Н. Попырина, Ch. Grandfils, Т.С. Демина // IV Национальный конгресс по регенеративной медицине. – Москва, 2019. – С. 109.
- 14. Демина Т.С. Материалы на основе привитого сополимера хитозана с олиголактидами и коллагеном / Т.С. Демина, Т.Н. Попырина, А.С. Курьянова, С.Н. Чурбанов, Л.А. Киляшова, Е.В. Истранова, П.С. Тимашев, Т.А. Акопова // XV международная научно-практическая конференция «Новые полимерные композиционные материалы. Микитаевские чтения». Эльбрус, 2019. С.167–169.

По материалам диссертации опубликовано 9 статей и 1 принята в печать в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК и индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science:

- Popyrina T.N. Morphology and physical-chemical properties of composite materials based on polyolefins and chitosan / T.N. Popyrina, M.A. Khavpachev, P.L. Ivanov, K.Z. Monakhova, I.O. Kuchkina, Yu.M. Evtushenko, G.P. Goncharuk, A.N. Zelenetskii // Polymer Science. Series C. – 2024. Принято к публикации.
- Popyrina T.N. Polysaccharide-based films: from packaging materials to functional food / T.N. Popyrina, T.S. Demina, T.A. Akopova // Journal of Food Science and Technology. – 2023. – V. 60. – P. 2736–2747.
- Tolstova T. Preparation and in vitro evaluation of chitosan-g-oligolactide based films and macroporous hydrogels for tissue engineering / T. Tolstova, M. Drozdova, T. Popyrina, D. Matveeva, T. Demina, T. Akopova, E. Andreeva, E. Markvicheva // Polymers. – 2023. – V.15. – P. 907.
- Akopova T.A. Mechanochemical Transformations of Polysaccharides: A Systematic Review / T.A. Akopova, T.N. Popyrina, T.S. Demina // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – V. 23. – P.10458.
- Demina T.S. Polylactide microparticles stabilized by chitosan graft-copolymer as building blocks for scaffold fabrication via surface-selective laser sintering / T.S. Demina, T.N. Popyrina, E.D. Minaeva, A.A. Dulyasova, S.A. Minaeva, R. Tilkin, V.I. Yusupov, C. Grandfils, T.A. Akopova, N.V. Minaev, P.S. Timashev // Journal of Materials Research. – 2022. – V. 37. – P. 933–942.
- Demina T.S. Polysaccharides as stabilizers for polymeric microcarriers fabrication/ T.S. Demina, L.A. Kilyashova, T.N. Popyrina, E.A. Svidchenko, S. Bhuniya, T.A. Akopova, Ch. Grandfils // Polymers. – 2021. – V. 13. – P. 3045.
- 7. Попырина Т.Н. Влияние химической структуры сополимеров хитозана с олиголактидами на морфологию и свойства макропористых гидрогелей на их основе / Т.Н. Попырина, Е.А.

Свидченко, Т.С. Демина, Т.А. Акопова, А.Н. Зеленецкий // Высокомолекулярные соединения Серия Б. – 2021. – Т. 6. – №5. – С. 345–353.

- Akopova T.A. Hydrophobic modification of chitosan via reactive solvent-free extrusion / T.A. Akopova, T.S. Demina, M.A. Khavpachev, T.N. Popyrina, A.V. Grachev, P.L. Ivanov, A.N. Zelenetskii // Polymers. – 2021. – V.13. – P. 2807.
- Demina T.S. Materials based on protein-contained chitosan-g-oligo-/polylactide copolymers synthesized through mechanochemical approach / T.S. Demina, T.N. Popyrina, A.S. Kuryanova, E.V. Istranova, C. Grandfils, P.S. Timashev, T.A. Akopova // Materials Today: Proceedings. – 2020. – V. 25. – P. 490–492.
- Demina T.S. Chitosan-g-oligo/polylactide copolymer non-woven fibrous mats containing protein: from solid-state synthesis to electrospinning / T.S. Demina, A.S. Kuryanova, N.A. Aksenova, A.G. Shubnyy, T.N. Popyrina, Y.V. Sokovikov, E.V. Istranova, P.L. Ivanov, P.S. Timashev, T.A. Akopova // RSC Advances. – 2019. – V. 9. – P. 37652–37659.

Объем и структура диссертации.

Диссертация общим объемом 129 страниц состоит из следующих структурных элементов: введение, литературный обзор, экспериментальная часть, результаты и их обсуждения, выводы, благодарности, список используемых сокращений и список литературы. Основная часть работы состоит из 3 глав:

- Глава 1 содержит в себе анализ результатов литературного поиска по теме данной диссертации. В первом и втором разделах настоящей главы рассматриваются ключевые закономерности механохимического модифицирования различных соединений, с особым акцентом на исследования, касающихся механохимических преобразований полисахаридов, в частности хитозана. В третьем разделе главы рассмотрены технологии получения различных форм материалов на основе хитозана и приведен обзор основных областей их применения. Четвертый раздел является обобщением всей главы.
- Глава 2 состоит из двух разделов, содержащих в себе описание основных объектов исследования, способов их получения и методов исследования.
- Глава 3 состоит из 4 разделов, в которых представлены и обсуждены полученные в ходе экспериментальной работы результаты исследования.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Механохимическое модифицирование полисахаридов

1.1.1 Общие закономерности механохимических превращений органических соединений

Основной целью механохимии, как науки, берущей свое начало в 1935 году, является изучение механизмов механической активации твердых тел для последующего их химического взаимодействия, а также осуществление синтеза под действием температуры, давления и сдвига [1–2]. За десятилетия существования механохимии были определены и сформулированы закономерности, управляющие реакциями как в неорганических, так и в органических соединениях [3–9]. Однако, несмотря на прогресс во внедрении механосинтеза в промышленность для создания неорганических материалов и металлических смесей, ученые сталкиваются с трудностями, когда дело доходит до применения механохимии в органическом синтезе. Обусловлено это тем, что органические соединения более чувствительны к высоким температурам, которые могут возникнуть при механических воздействиях, в результате чего может произойти их термическое разложение. Кроме этого, процессы релаксации, то есть возвращения молекул в исходное состояние после воздействия, в органических соединениях занимают значительно больше времени, чем в неорганических. В результате, все вышеперечисленные факторы препятствуют эффективному использованию механохимии для синтеза органических соединений [2]. Несмотря на это, в последние десятилетия интерес к изучению реакций в органических соединениях под воздействием механических сил заметно возрос [10].

Известно, что в органических соединениях (низко- и высокомолекулярных) имеются два вида связей: прочные внутримолекулярные (ковалентные) связи и относительно слабые межмолекулярные связи (ван-дер-ваальсовы, водородные и прочие). При воздействии механических нагрузок логичным является первоочередное разрушение менее прочных межмолекулярных связей, что, в свою очередь, приводит к дезорганизации и разрушению структуры органических веществ [11].

При измельчении частиц низкомолекулярного вещества, после того как они достигают определенного размера, наблюдается прекращение формирования новой поверхности и начинается пластическое течение материала. При этом, дальнейшее измельчение в некоторых случаях может приводить к агрегации частиц. Зачастую, исходные органические кристаллы до механического воздействия обладают удельной поверхностью (S_{ya}) в диапазоне 0.1 – 1 м²/г⁻¹. После измельчения эти значения увеличиваются в несколько раз в зависимости от количества подаваемой механической энергии, структуры самого вещества, присутствия в нем влаги, либо

примесей и т.д. В некоторых случаях удавалось достигать необычно высоких значений S_{уд} вплоть до 130 м²/г⁻¹ и 400 м²/г⁻¹ при измельчении кортизона ацетата и сапониновой кислоты, соответственно [11]. Эти результаты, очевидно, указывают на значительное разупорядочение структуры данных веществ в ходе механохимического воздействия.

Процесс измельчения зачастую приводит к снижению степени кристалличности веществ, а в некоторых случаях — даже к их полной аморфизации, что подтверждается результатами рентгеновских дифрактограмм и ИК-спектров, полученных в ходе исследования различных органических кристаллов, таких как: тригидрат ампициллина, дигоксин, сульфат прастерона натрия, сульфаниламиды, фталазол, сульфатиазол и другие [11]. По результатам анализа полученных дифрактограмм сульфамонометоксина в работе [12] было установлено, что ширина дифракционных линий может увеличиваться как вследствие сокращения размеров кристаллитов (до размера ~ 100 °A), так и в результате возрастания вдвое микроискажений в кристаллической решетке. Аморфизация веществ приводит к различным изменениям, таким как: повышение скорости растворения и растворимости органических веществ [11, 12], снижение температуры и теплоты плавления их кристаллов, а также расширение температурного интервала плавления [11].

Для ряда исследованных органических соединений трансформация кристаллической структуры может происходить вследствие изменения межмолекулярных водородных связей, что находит подтверждение в анализе полученных в ходе исследований ИК-спектров [11, 12]. В некоторых органических кристаллах при измельчении обнаружено изменение типа кристаллической решетки, что подтверждено результатами рентгеноструктурного, калориметрического и спектрального анализа [11, 13]. Например, сульфатиазол при измельчении совершает полиморфный переход из стабильной в метастабильную форму [13]. Также установлено, что фуллерен С₆₀ под воздействием анизотропных сил сжатия превращается в различные фазы углерода (алмаз, графит), а также в разнообразные метастабильные кристаллические и аморфные модификации [14]. Таким образом, можно заключить, что полиморфные превращения под действием механических сил в органических веществах осуществляются через разупорядоченное некристаллическое состояние, а не из одной формы в другую. Более того, продолжительное механическое воздействие способствует аморфизации новой фазы [11,13].

Если при воздействии механических сил на низкомолекулярные соединения происходит их аморфизация и изменение структуры, то в случае высокомолекулярных соединений наблюдаются конформационные превращения, сопровождающиеся разрывом как внутримолекулярных, так и межмолекулярных связей. Поскольку такие связи возникают вдоль

всей длины полимерных цепей, общая энергия, необходимая для их разрыва, становится сопоставимой с энергией разрыва валентных связей [15].

Изучение воздействия механических сил на высокомолекулярные соединения началось с исследования закономерностей механодеструкции различных полимеров - процесса их разрушения под действием механических напряжений. В результате проведенных исследований выявлено, что при механическом измельчении высокомолекулярных соединений происходит разрушение слабых межмолекулярных связей и разрыв валентных связей основных полимерных цепей. Разрушение межмолекулярных связей приводит к разупорядочению и разрыхлению структуры. После разрыва валентных связей появляются свободные радикалы, способствующие образованию низкомолекулярных продуктов. Скорость разрыва связей определяется, прежде всего, жесткостью структуры. Она увеличивается при переходе от гибкоцепных полимеров к более жестким, особенно к полипептидам, для которых характерны пептидные связи основной цепи и густая сеть водородных связей [15].

Однако, применение механохимического воздействия в органических соединениях не ограничивается только деструкцией исходных веществ. Была подтверждена возможность применения данного подхода для синтеза полимеров из различных классов органических веществ (таблица. 1.1.1.1) [15].

Тип связи	Пример	
Одна связь С=С	углеводороды (этилен, стирол, [¤] -метилстирол и др.), сложные эфиры (алкилакрилаты, алкилметакрилаты), кислоты (акриловая, метакриловая, кротоновая), ангидриды, амиды, имиды, нитрилы кислот, хлорсодержащие соединения (дихлор- и трихлор-пропен)	
Сопряженные двойные связи	бутадиен, циклопентадиен	
Тройная связь	производные ацетилена, диацетилена, нитрилы	
Гетероциклические соединения	триоксан, гексаметил-трисилоксан, тиофен, пиридин	
Ароматические соединения	бензол, нафталин, антрацен и др.	

Таблица 1.1.1.1 – Соединения, пригодные для механохимического синтеза [15]

Таким образом, можно сделать вывод, что механохимическим методом могут быть проведены многие реакции органического синтеза, такие как реакции синтеза солей органических кислот [16], ацилирования [17], реакции обмена атомами галогенов [18] и ионов металлов [19], реакции дегалогенирования [20], реакции этерификации [16].

1.1.2 Виды оборудования для проведения механохимического модифицирования

Механохимическое модифицирование органических соединений в твердом теле зачастую осуществляется на практике при помощи трех основных видов обработки [4]:

- *циклических ударных нагрузок*, которые подразумевают применение периодических механических воздействий на обрабатываемый материал. Такой вид обработки способствует созданию микротрещин и дефектов в кристаллической решетке, что, в свою очередь, приводит к увеличению реакционной способности органических соединений. Данный вид обработки может быть реализован с помощью различных типов мельниц, включая дисковые и шаровые, которые обеспечивают необходимую энергию для процесса;

- *импульсного воздействия*, которое характеризуется кратковременными, но интенсивными механическими ударами. Этот вид воздействия позволяет добиться значительных изменений в структуре вещества за короткий промежуток времени. Вибрационные мельницы и планетарные мельницы часто используются для достижения таких результатов. Они создают высокочастотные колебания, которые способствуют эффективному измельчению и активации молекул, что делает их более реакционноспособными;

- продолжительного деформирования под давлением, которое представляет собой обработку материала, при котором он подвергается постоянному механическому воздействию. Подобное может быть осуществлено с помощью наковален Бриджмена или экструдеров, которые позволяют прикладывать высокие давления и температуры, способствующие химическим реакциям и изменению свойств материалов. Такой подход особенно эффективен для обработки полимеров и композитов, где необходимо добиться однородности и улучшенных механических свойств [4].

Дисковые мельницы

Дисковые мельницы – один из самым древних типов измельчающего оборудования, принцип действия которых заключается в следующем: материал проходит между двумя вращающимися дисками, вызывая трение частиц о диски и их последующее измельчение. Для повышения эффективности измельчения в настоящее время используются мельницы с переменным зазором между дисками и диски с насечками разной геометрии (рисунок 1.1.2.1) [21].



Рисунок 1.1.2.1 – Схематическое изображение дисковой мельницы [21]

Значительным преимуществом дисковых мельниц является возможность получения частиц с узким распределением по размерам, которое зависит от зазора между дисками. Основным же недостатком данного типа мельниц является то, что они имеют небольшой рабочий объем, поскольку исходное сырье обрабатывается в тонком зазоре между дисками.

Шаровые мельницы

Шаровая мельница – следующий тип механохимического оборудования, являющийся наиболее простым и распространенным в настоящее время и использующийся во многих исследованиях в качестве стандарта [22].

Принцип действия шаровой мельницы заключается в следующем: большое количество мелющих тел и измельчаемый материал помещаются внутри цилиндра, вращающегося вокруг своей центральной оси. Из-за сил трения между стенками цилиндра и измельчающими телами последние начинают двигаться и измельчать сырье. Иногда измельчающие тела не используются и частицы материала измельчаются сами. Этот процесс также известен, как «автоматическое измельчение».

Основной тип механического воздействия в шаровой мельнице зависит от скорости вращения (рис. 1.1.2.2).



Рисунок 1.1.2.2 – Типы движения мелющих тел в шаровой мельнице: а) — переворот; б) — падение; (в) — перекатывание [21]

При малых скоростях вращения измельчающие тела переворачиваются, в связи с чем основным механизмом механического воздействия является истирание вещества (рис. 1.1.2.2a). С последующим увеличением скорости вращения измельчающие тела отделяются от

стенки в самой высокой точке траектории и падают, обеспечивая тем самым эффект удара (рис. 1.1.2.26). При дальнейшем росте скорости вращения измельчающие тела распределяются вдоль стенок и перекатываются, в результате чего сырье снова подвергается истиранию, но с меньшей эффективностью (рис. 1.1.2.2в) [22].

Измельчители всех типов хорошо подходят для лабораторных исследований. Даже если условия обработки неэффективны, материал все равно будет измельчен, хотя для достижения желаемых результатов может потребоваться несколько десятков или даже сотен часов. В общем случае в качестве мелющих тел рекомендуется использовать стальные шарики, в два раза превышающие исходный размер частиц сырья. Чтобы свести к минимуму неэффективные столкновения, объемы загружаемых мелющих тел и сырья должны составлять примерно 30% от общего объема загрузки мельницы [23].

Этот вид измельчителя обладает рядом недостатков, которые затрудняют его использование при проведении механохимической обработки. Один из основных недостатков – невысокая производительность по сравнению с другими измельчающими устройствами, который может быть решен путем увеличения геометрических размеров мельницы. Другим фактором, затрудняющим использование данного оборудования, является то, что шаровая мельница создает интенсивные механические колебания, направленные вертикально вниз [24]. Поэтому необходимо устанавливать такое оборудование на отдельном фундаменте, который не связан с основной конструкцией здания.

Планетарные мельницы

Планетарные мельницы представляют собой особый тип шаровых мельниц. В данном оборудовании емкости для измельчения закреплены на раме и вращаются вокруг общей оси, в то время как измельчающие элементы вращаются вокруг своих осей в противоположном направлении относительно вращения рамы (рис. 1.1.2.3).



Рисунок 1.1.2.3 – Технологическая схема планетарной мельницы [21]

Дезинтеграция вещества происходит в результате взаимодействия между исходным сырьем и измельчающими компонентами, которые активируются за счет центробежной силы,

силы Кориолиса и гравитационного воздействия. По сути, нет значительных отличий в движении мельчителей в планетарной мельнице и шаровой мельнице, которая обладает более простой конструкцией [25].

Одной из важных особенностей этого типа мельниц является заметное увеличение температуры в области, в которой происходит измельчение вещества. При ускорении измельчающих элементов до значений, превышающих 200 м/с², температура может возрасти на несколько сотен градусов [26]. Для растительного сырья такое повышение температуры может привести к разложению некоторых низкомолекулярных соединений, карбонизации полимеров и возникновению других нежелательных реакций. В связи с этим, в механохимии органических молекул и при измельчении растительного материала обычно применяются режимы, при которых ускорение измельчающихся элементов ограничивается диапазоном от 50 до 200 м²/с.

Производительность планетарной мельницы без потока ограничена 3 кг/ч, тогда как мельница с непрерывным потоком способна обрабатывать до 6 тонн/ч. Тем не менее, разнообразие коммерчески доступных планетарных мельниц непрерывного действия остается ограниченным, что связано с сложностями, возникающими при равномерной подаче сырья и удалении конечного продукта из зоны обработки [21].

Вибрационные мельницы

Вибрационные мельницы — это широко распространённый тип оборудования, применяемого для осуществления тонкого и ультратонкого измельчения, а также для проведения механохимических процессов [27]. Фундаментальное различие между вибрационными мельницами и шаровыми заключается в том, что вместо кругового движения реактор совершает вертикальные колебания (рис. 1.1.2.4). Следовательно, движение измельчающих тел в мельнице можно рассматривать как движение в переменном гравитационном поле, которое выраженное в виде ускорения, может достигать 200 м/с².



Рисунок 1.1.2.4 – Технологическая схема вибрационной мельницы: 1 — механохимический реактор; 2 — измельчающие тела [21]

Амплитуда колебаний реактора как правило не превышает 20 мм, что, в свою очередь, ограничивает траектории движения измельчающих элементов и способствует увеличению объема загружаемых в мельницу измельчающих шаров и исходных материалов (по сравнению с объемами, доступными в шаровых и планетарных мельницах).

Подобно шаровым мельницам промышленного масштаба, основным ограничением для промышленного использования вибрационных измельчителей является то, что их необходимо устанавливать на специальном фундаменте, не соединенном с фундаментом здания, вес которого в несколько раз превышает вес оборудования.

Наковальня Бриджмена

Классическим и наиболее простым примером оборудования, предназначенного для создания сдвиговых деформаций, являются наковальни Бриджмена (рис. 1.1.2.5). Они позволяют регулировать давление в диапазоне от 0.1 до 20 ГПа, что делает их незаменимыми аппаратами для измельчения или соединения веществ. Под воздействием высоких температур и давлений, создаваемых наковальнями Бриджмена, могут происходить реакции, которые невозможны при обычных условиях [7].



Рисунок 1.1.2.5 – Схематическое изображение наковальни Бриджмена: 1– наковальни, 2 – деформируемое вещество

В основе работы наковальни лежит несколько ключевых этапов, каждый из которых играет значительную роль в достижении оптимального результата [9].

Первый этап — это подготовка исходного вещества. Материал, который необходимо измельчить, помещается между двумя наковальнями. Это может быть порошковая форма твёрдого вещества или смесь различных реагентов. На этом этапе важно добиться оптимального размера частиц. Меньший размер частиц увеличивает их поверхность, что, в свою очередь, способствует более эффективному взаимодействию между ними. Это особенно актуально для

твердофазных реакций, где степень взаимодействия частиц критически важна для успеха реакции.

Следующий этап включает в себя сжатие материала. Под воздействием давления, создаваемого наковальнями, частицы материала начинают сближаться, что приводит к увеличению их контактной площади. На этом этапе важно контролировать уровень давления, так как слишком высокое давление может привести к нежелательным эффектам, таким как разрушение структуры частиц, в то время как слишком низкое давление может не обеспечить необходимого контакта между реагентами.

На третьем этапе одна из наковальней начинает вращение относительно другой. Этот вращательный момент создает условия для пластического течения материала, что позволяет частицам перемещаться и взаимодействовать друг с другом. Угол вращения определяет величину сдвиговой деформации, что является важным параметром для контроля механического воздействия на образец. Чем больше угол - тем сильнее сдвиговая деформация, что приводит к более активному взаимодействию между частицами.

Смешение реагентов — еще один критически важный этап. На этом этапе важно достичь однородности смеси, чтобы реакция проходила равномерно и эффективно. Однородная смесь обеспечивает максимальный контакт между частицами, что особенно актуально для твердых веществ, поскольку их реакционная способность в значительной степени зависит от площади контакта. Кроме того, однородность смеси помогает избежать образования «горячих точек» — участков, где реакция может протекать слишком быстро и приводить к нежелательным последствиям [9].

Экструдеры

Экструдеры относятся к одному из немногих классов оборудования, в котором механическая обработка не обязательно сопровождается измельчением. Шнек (обычно один или два) является основной рабочей частью экструдера (рис. 1.1.2.6). При вращении шнека он захватывает материал и прессует его вдоль зон обработки. Когда объем загружаемого сырья становится значительным, оно начинает интенсивно взаимодействовать со стенками экструдера, вызывая трение в процессе прессования, что приводит к существенной пластической деформации. В конце экструдера обычно располагается отверстие, диаметр которого выбран так, чтобы проходящий через него материал также претерпевал дополнительные значительные деформации [21].



Рисунок 1.1.2.6 – Схематический вид а) экструдера и б) шнеков [28]

Сегодня экструдеры широко используются в различных областях [29, 30]. В 2019 году Международный союз теоретической и прикладной химии (ИЮПАК) признал реактивную экструзию одной из десяти технологий, которые способны существенно способствовать очищению нашей планеты [31].

Одним из главных ограничений экструдеров является значительная механическая нагрузка на шнеки, что усложняет разработку оборудования с производительностью свыше 100 кг/ч. Однако, несмотря на это экструзия остается наиболее эффективным и перспективным инструментом для твердофазных процессов модификации полимеров благодаря ряду преимуществ, среди которых можно выделить возможность обработки материалов с высоким уровнем влажности и значительными размерами частиц сырья, достигающими нескольких десятков миллиметров, кроме этого, благодаря использованию экструдера возможно производить деформирование органических веществ с разными механическими свойствами [21].

Таким образом, механохимическое модифицирование органических соединений в твердом теле является сложным и многоступенчатым процессом, который требует тщательного выбора аппаратуры для обработки и контроля условий, чтобы достичь оптимальных результатов. Каждый из вышеперечисленных аппаратов имеет свои преимущества и недостатки, и выбор какого-то конкретного из них зависит от типа исходного материала, желаемых свойств конечного продукта и условий производства. Например, использование шаровых мельниц может быть более эффективным для твердых материалов, тогда как вибрационные мельницы лучше подходят для более хрупких соединений. Важно также учитывать, что механохимическое модифицирование может быть сочетано с другими методами, такими как термическая обработка или химическое взаимодействие, что открывает новые горизонты для создания уникальных материалов с заданными свойствами.

1.1.3 Механохимические превращения полисахаридов

Ранние работы (с 1960-х годов) по механохимической модификации полисахаридов были сосредоточены на разрушении древесины (т.е. целлюлозы) при механическом воздействии. Дальнейшие работы по механохимической обработке полисахаридов расширили круг используемых полимеров и сосредоточились в основном на трех направлениях (рис. 1.1.3.1) [2].



Рисунок 1.1.3.1 – Основные направления механохимической модификации полисахаридов [2]

В последние годы исследования в области создания гибридных композиционных материалов, особенно в контексте модификации полисахаридов и низкомолекулярных биологически активных веществ, продолжают активно развиваться. Большинство из этих исследований по-прежнему проводятся с использованием измельчающих аппаратов различного типа, что позволяет подвергать эффективной механической обработке исходные компоненты [32, 33]. В ходе подобных исследований было выявлено и подробно изучено явление агрегации твердых реагентов, которое возникает при механоактивации их смесей. Ученые утверждают, что именно способность исходных компонентов к агрегации играет ключевую роль в формировании потенциальных взаимодействий как во время механической обработки, так и после ее

завершения. Эти взаимодействия могут привести к значительным изменениям в растворимости веществ, что, в свою очередь, усиливает фармакологический эффект получаемых препаратов [2].

Кроме вышеперечисленного обнаружено, что при совместной механической обработке разных фармакологических препаратов и поли-, олигосахаридов формируются водорастворимые комплексы типа «хозяин-гость», включая мицеллоподобные дисперсии [34–40], а также твердые дисперсии, где биологически активные вещества существуют в аморфной форме или на молекулярном уровне, что увеличивает их биологическую активность в 2-10 раз и снижает частоту возникновения побочных эффектов [41–45].

Шаровой помол дипропионата бетулина с водорастворимым полисахаридом арабиногалактаном позволил увеличить скорость растворения по сравнению с исходным производным ботулина за счет разупорядочения кристаллических структур биологически активного вещества и образования молекулярных комплексов с полимером [46]. Изученные комплексы продемонстрировали целенаправленное избирательное (апоптоз раковых клеток, без затрагивания здоровых) противоопухолевое действие. Результаты экспериментов предполагают, что механизм действия этих образцов на рак схож с воздействием бетулиновой кислоты и связан с изменением функции митохондрий, что увеличивает их проницаемость для кислорода.

Несколько исследований сфокусировано получении на механокомпозитов противовирусного препарата римантадина и циклофосфамида с арабиногалактаном или его олигомерами [47–49]. По данным ИК и ЯМР-спектроскопий ¹³С, ¹⁵N и ³¹P, после длительного механохимического измельчения в шаровых мельницах препараты образовывали водородные связи с полимером (>4 часа). Кроме этого, продемонстрировано, что разупорядочение кристаллической структуры препарата происходит после обработки в вальцовой мельнице в течение 4-12 часов. Напротив, никаких изменений в структуре не было зафиксировано в условиях «мягкой» механохимической обработки (валковая мельница с диаметром шара 9 мм, продолжительность обработки 20 часов). Все спектральные данные оставались сопоставимыми с индикативными показателями исходного терпеноида, и авторы не обнаружили повышения его растворимости и биодоступности.

При помощи шаровой мельницы получен ряд средств для защиты растений [50, 51]. Выявлено улучшение проникновения пестицидов в семена для нанокомпозитов арабиногалактана: тебуконазола и имидаклоприда в 5 раз, имазалила и прохлораза более чем в 10 раз. Авторы предполагают, что влияние поли-/олигосахаридов на проникновение может быть связано с усилением растворимости и повышением сродства систем доставки к поверхности зерен [52]. В процессе механической обработки малорастворимых пестицидов, таких как хлорсульфурон, карбендазим и тирам, в присутствии арабиногалактана было установлено, что в полисахариде происходит разрушение полимерной цепи, расщепление боковых фрагментов и

образование новых функциональных групп, в частности карбоксильных, что было подтверждено ЯМР-, УФ- и ИК- спектроскопией. Деформация пестицидов под действием механического воздействия вызывает разупорядочение их кристаллической структуры и разрыв межмолекулярных водородных связей, что, в свою очередь, приводит к увеличению их растворимости в диапазоне от 1,5 до 5 раз. Исследование показало, что применение таких составов позволяет значительно сократить расход пестицидов [52].

В ходе механической обработки малорастворимых пестицидов (хлорсульфурон, карбендазим и тирам) с добавлением арабиногалактана исследователи выявили частичную деструкцию полисахарида, что привело к изменению его MMP, состава моносахаридов и степени разветвленности макромолекул [53]. В ходе токсикологического исследования измельченных образцов арабиногалактана, гидроксиэтилкрахмала, фиброгама и декстранов выявлена их малая токсичность [54]. При высоком давлении (20 МПа) и угле сдвига (540°), исследования, проводимые на наковальне Бриджмена, показали, что происходит образование значительного количества низкомолекулярных олигомеров, что объясняется обрывом цепей вблизи краевых зон кристаллитов. Обработанные образцы демонстрировали наличие свободных радикалов, зарегистрированных методом ЭПР-спектроскопии. Изменение окраски образцов от желтых до коричневых оттенков после механохимической обработки связывается с дегидратацией макромолекулярных радикалов и образованием двойных связей в их структуре [55].

При помощи ДСК было показано, что в диапазоне температур 20-200 °C в полисахаридах (целлюлоза, метилцеллюлоза, ди- и триацетаты целлюлозы, хитин, хитозан, крахмал и другие), у которых заметно увеличивается энтальпия после пластической деформации, протекает эндотермический процесс. Исследование целлюлозы наглядно демонстрирует, что этот процесс зависит от содержания воды в полимерах, а увеличение энтальпии после обработки давлением связано как с превращением целлюлозы I в целлюлозу II, так и с усилением межмолекулярных взаимодействий, вызванных образованием системы электрических зарядов в образцах [56].

Методы ДСК И термогравиметрии также использовались изучения ДЛЯ микрокристаллической целлюлозы, крахмала, метилцеллюлозы, хитина и их смесей с полиакриламидом. На термограммах, полученных в температурном диапазоне 20-200 °С, наблюдаются эндотермические пики, которые характеризуют разрыв водородных связей в полисахаридах. Этот процесс сопровождается потерей массы, что связано с десорбцией адсорбированной воды, играющей ключевую роль в формировании водородных связей. Обработка в аппарате высокого давления (наковальне) приводит к увеличению энтальпии эндотермических процессов в индивидуальных полимерах в 2.8 раз, в то время как в полимерных смесях наблюдается ее уменьшение. После обработки до 36 % микрокристаллической целлюлозы в смесях с полиакриламидом стали водорастворимыми [57].

В работах [58, 59] были получены смеси различных термопластичных полимеров с полисахаридами (крахмал, хитин, целлюлоза и её производные, арабиногалактан) с улучшенной биоразлагаемостью. Смеси полилактида с крахмалом в различных соотношениях получали в смесителе закрытого типа (Brabender). Термическое поведение полученных композитов изучали методом ДСК, а их кристалличность определяли с помощью рентгеновской дифракции. Анализ экспериментальных результатов показывает, что полилактид практически несовместим с крахмалом. Снижение температуры плавления полилактида в композитах при увеличении содержания крахмала указывает на образование большего количества дефектных мелких кристаллов из-за сложности процесса кристаллизации. На основе данных рентгеноструктурного анализа было показано, что общая степень кристалличности композитов увеличивается после выдержки в почве. По мнению авторов, это связано с вымыванием аморфной области полилактида под действием воды и микроорганизмов в почве. Было выявлено, что биодеградация полилактида при воздействии в почве протекает по механизму деполимеризации; в композитах этот процесс протекает более интенсивно [60]. Композиции резиновой крошки с крахмалом и целлюлозой также получены в смесителе Brabender. Механические характеристики этих композиций проявляли незначительные различия: с увеличением содержания полисахаридов в смесях наблюдается рост модуля упругости, однако прочность и удлинение при разрыве снижаются. Добавление полиэтиленгликоля не оказывало значительного влияния на механические свойства. Увеличение механических параметров наблюдали после воздействия образцов в почве, что, вероятно, связано с образованием сшивающих радикалов из резиновой крошки под воздействием окружающей среды [61].

Тройные порошковые смеси на основе полиэтилена низкой плотности, полимолочной кислоты и крахмала получены в роторном диспергаторе при температуре 130 °C [62]. Аппарат, основанный на одношнековом экструдере (диаметр шнека 32 мм, скорость вращения 45 об/мин), позволяет создать интенсивные сдвиговые деформации благодаря измельчающей головке, выполненной в виде кулачкового элемента, вращающегося внутри охлаждаемого цилиндра. Образование полимерных порошков в данном случае происходило благодаря оптимальному соотношению температуры и механических деформаций. В результате исследования обнаружено, что наличие двух полимеров растительного происхождения с общей массовой долей 60% способствует интенсивному биологическому разложению, изученному с помощью имитации условий окружающей среды и тестов на устойчивость к грибкам.

Таким образом, твердофазное реакционное смешение является одним из наиболее перспективных подходов к созданию высокомолекулярных систем на основе синтетических и природных полимеров, которые не смешиваются при стандартных условиях.

В настоящее время в ИСПМ РАН продолжает активно развиваться механохимический синтез при помощи реакционной экструзии с целью создания экологически безопасных методов химической модификации полисахаридов. Этот метод также позволяет получать гибридные нанокомпозиты из несмешивающихся полимеров и функциональных наполнителей благодаря механостимулированным химическим реакциям в их смесях. Механическая активация всех систем осуществляется без использования растворителей и разбавителей, при температурах ниже температур размягчения всех реагентов [2].

Основных результатов в данном направлении удалось достигнуть благодаря применению двухшнекового экструдера, произведенного компанией Berstorff из Германии, который был специально разработан для обработки высоковязких реакционных систем. Данный экструдер обеспечивает эффективное смешивание и переработку компонентов, что особенно важно для создания новых полимерных композиций. С помощью него можно не только производить опытные образцы, но и масштабировать процессы, что открывает новые возможности в промышленном производстве. Данное оборудование позволяет точно контролировать параметры процесса, такие как температура и давление, что является важным фактором для достижения желаемых свойств конечного продукта. Кроме того, использование двухшнекового экструдера способствует улучшению механических и термических характеристик биополимеров [2].

Изучение воздействия экструзионной обработки на твердые полисахариды и сырье, богатое полисахаридами, началось с исследования процессов делигнификации древесины и мерсеризации целлюлозы [6]. Установлено, что гидролитические процессы древесины березы в присутствии катализаторов (кислоты, щелочи, ферменты) заметно ускоряются в силовых полях экструдера с понижением рабочей температуры (по сравнению с термогидролизом) [63]. Авторы утверждают, что использование механохимического подхода позволяет снижать количество вредных побочных продуктов (фураноидов), возникающих при традиционных крафт-методах получения целлюлозы из древесины.

Другие механохимические превращения полисахаридов, в частности хитозана, непосредственно относящиеся к исследованиям, проводимым в настоящей работе, будут рассмотрены в следующей главе.

1.2 Хитозан и его модифицирование1.2.1 Хитозан: получение, структура и свойства

Хитозан представляет собой линейный аминополисахарид, состоящий из двух типов звеньев: 2-ацетамидо-2-дезокси-D-глюкопиранозы (или N-ацетил-D-глюкозамина) и 2-амино-2дезокси-D-глюкопиранозы (D-глюкозамина). Эти звенья соединены между собой β-1,4гликозидной связью, и их содержание может варьировать в широких пределах (рис.1.2.1.1).



Рисунок 1.2.1.1 – Структура макромолекулы хитозана

Хитозан является одним из самых многообещающих природных полимеров с практическим применением и представляет собой производное хитина, основным источниками которого являются экзоскелеты ракообразных, таких как: крабы, креветки, криль, раки, лангусты, омары и лобстеры, благодаря чему данный полисахарид занимает второе по распространению в природе место после целлюлозы [64].

Процесс получения хитозана из хитинсодержащего сырья включает несколько стадий, основной из которых является деацетилирование. Суть данного процесса заключается в отщеплении CH₃CO группы от молекулы хитина. В результате этого процесса происходит замещение ацетильной группы на атом водорода, что превращает хитин в хитозан. Для осуществления деацетилирования применяются щелочные растворы NaOH. Концентрация этого раствора может колебаться от 35% до 50%, что влияет на эффективность процесса. Температурные условия во время деацетилирования также имеют важное значение. Они могут варьироваться от 20°C до 140°C, что позволяет регулировать скорость реакции. Например, при более высоких температурах процесс проходит быстрее, но необходимо учитывать, что слишком высокая температура может привести к разрушению молекул хитина и снижению качества конечного продукта. Время обработки также является критическим параметром и может варьироваться от 0,5 часа до 10 суток. Более длительное время обработки обычно приводит к более полному деацетилированию, однако, это может также привести к нежелательным изменениям в структуре полимера [64-66]. Поэтому важно тщательно подбирать параметры процесса, чтобы получить хитозан с необходимыми характеристиками, такими как степень деацетилирования (СД) и молекулярная масса (ММ). Реакция получении хитозана из хитина представлена на рис.1.2.1.2.



Рисунок 1.2.1.2 – Химическая реакция получения хитозана из хитина

В результате данной реакции можно получить хитозан с уровнем деацетилирования, превышающим 0.5. СД является ключевым параметром, который характеризует соотношение между 2-амино-2-дезокси-D-глюкопиранозой и общим числом звеньев в полимерной цепи. Этот показатель важен для понимания структуры и свойств полимеров, так как он указывает на количество свободных аминогрупп в структуре полимера, которые могут участвовать в различных химических реакциях. Высокая степень деацетилирования свидетельствует о большем количестве активных аминогрупп, что может повысить реакционную способность полимера и его взаимодействие с другими веществами [67].

На СД и ММ, а также на распределении ацетамидных групп по цепи полимера оказывают сильное влияние условия деацетилирования хитина. Ацетамидные группы, которые присутствуют в структуре хитина, обладают высокой гидролитической устойчивостью. Это связано с образованием водородных связей между карбонильной группой С=О и амидной группой N-H соседних цепей, которые значительно укрепляют структуру хитина, делая его менее подверженным гидролизу в обычных условиях. В результате, для эффективного деацетилирования хитина требуется применение достаточно «жестких» условий, таких как высокая температура, повышенное давление или использование сильных химических реагентов. Процесс деацетилирования включает в себя не только освобождение ацетильных групп, но и разрушение гликозидных связей, которые соединяют мономеры хитина. Эти гликозидные связи представляют собой важные элементы полимерной структуры, и их разрушение приводит к деструкции полимерной цепи [68]. Как следствие, получаемый хитозан представляет собой полидисперсный полимер D-глюкозамина с существенно более низкой средней молекулярной массой по сравнению с исходным хитином [69]. Молекулярная масса хитозана составляет от 100 до 1200 кДа и кроме условий деацетилирования также сильно зависит от вида используемого сырья и способа выделения хитина [65]. Хитозан с ММ менее 200 кДа считается низкомолекулярным, более 200 кДа – высокомолекулярным.

Состав хитина и хитозана может варьироваться, поскольку они являются смесью полимерных молекул, различающихся по MM, а также распределению однотипных звеньев внутри молекулы. В зависимости от условий, в которых проходит реакция деацетилирования, можно получить сополимеры с различными типами распределения ацетамидных звеньев: микроблочного и статистического. Микроблочное распределение наблюдается в гетерогенных условиях, когда порошок хитина обрабатывается концентрированными щелочными растворами в твердом состоянии. В этом случае образуются участки, где находятся блоки ацетамидных звеньев, перемежающиеся с блоками глюкозамина. Статистическое распределение, напротив, возникает при более однородных условиях реакции, что приводит к равномерному распределению ацетамидных и глюкозаминов по всей молекуле [70].

Первый опыт получения хитозана был осуществлён путём сплавления хитина с твёрдой щелочью при температуре 180°С [68]. Этот метод позволял достигать высокой степени деацетилирования, которая составляла 0.95. Однако, несмотря на его эффективность, он имел серьёзный недостаток: значительно ухудшал молекулярную структуру получаемого полимера. Это приводило к тому, что хитозан, полученный таким образом, терял свои потенциальные полезные свойства, что ограничивало его применение в различных областях. С течением времени учёные разработали более щадящие методы получения хитозана, которые позволили сохранить его молекулярную целостность. В настоящее время одним из наиболее распространённых способов деацетилирования является использование щелочных растворов с концентрацией от 30% до 50% при температуре в диапазоне 110–130°С. В ходе реакции деацетилирования максимальная скорость достигается в течение первых 30 минут щелочной обработки, в течение которых хитин деацетилирования достигает 0.86. Использование водных растворов целочей в ступенчатом процессе может позволить достичь 100%-ной степени деацетилирования с минимальной деструкцией хитозана.

Исследования, проведенные в ИСПМ РАН по обработке твердых смесей хитина со щелочью в экструдере, позволили получить высокодеацетилированный хитозан (до 0.98) с низкой степенью полидисперсности макромолекул [71, 72]. Сравнительный анализ вязкостного поведения, ИК-спектров и ММР хитозана, полученного путем деацетилирования в твердом состоянии, с образцами, произведенными методом суспензирования, продемонстрировал полную идентичность их молекулярной структуры. Это открытие подтверждает, что химические реакции, происходящие в объеме твердых смесей, протекают равномерно и эффективно. Следует отметить, что процесс обработки хитина стал значительно эффективнее. Время, необходимое для деацетилирования, удалось сократить с нескольких часов до всего лишь нескольких минут. Это существенно упрощает процесс и делает его более экономичным. Кроме того, количество используемой щелочи удалось уменьшить вдвое. Это не только снижает затраты на сырье, но и способствует уменьшению образования отходов. При этом массовое соотношение NaOH к хитину не превышало 1, что также указывает на оптимизацию процесса. В рамках дальнейших исследований были выполнены рентгеноструктурные исследования структурных изменений, которые происходят в хитине под действием деформаций давления и сдвига в процессе механохимической обработки с использованием двухшнекового экструдера и наковальни Бриджмена [73]. Проведенные исследования показали, что деформация в условиях бессольвенного комнатной измельчения при температуре приводит К снижению кристалличности исходного хитина. Установлено, что добавление воды восстанавливает кристалличность до значений, характерных для исходного хитина. Таким образом, экструзия

хитина при комнатной температуре с добавлением воды сохраняет кристалличность и степень упорядоченности его кристаллической решетки, аналогично процессу без применения растворителей при высокой температуре (180 °C). Наивысшая степень аморфизации хитина наблюдается при его обработке на наковальне Бриджмена. Твердофазный синтез хитозана из хитина приводит к образованию продукта с более аморфной структурой по сравнению с хитозаном, полученным с использованием суспензионного метода.

Хитозан, благодаря своей природе и структуре обладает широким спектром свойств (таблица 1.2.1.1), что позволяет использовать его в различных областях.

Таблица 1.2.1.1 – Свойства хитозана [74, 75]

Фирина унучирания	Полиэлектролитные	
Физико-химические	свойства	Биологические свойства
своиства	(при низких значениях рН)	
- линейный полисахарид,	- катионный биополимер,	- биосовместимость и
содержащий в своей	обладающий значительной	биодеградируемость;
структуре большое	плотностью положительных	- нетоксичность;
количество азота;	зарядов;	- гипоаллергенность;
- высокая степень	- способность к флокуляции;	- антимикробная,
кристалличности;	- способность к	бактериальная и
- механическая прочность;	формированию комплексов с	антиоксидантная активность;
- слабое основание;	отрицательно заряженными	- противоопухолевые и
- депротонированная	молекулами;	противовоспалительные
аминогруппа выполняет	- высокая адсорбционная	свойства;
функцию нуклеофила;	способность;	- гемостатическая
- способность	- высокие пленко- и	активность;
к образовыванию	волокнообразующие свойства.	- мукоадгезивность.
межмолекулярных		
водородных связей;		
- высокая вязкость;		
- нерастворимость в воде и		
спиртах;		
- растворимость в		
разбавленных органических		
кислотах.		

На большинство вышеуказанных физико-химических и биологических свойств хитозана оказывают влияние его СД и ММ [68]. Так, чем ниже ММ и выше СД, тем легче хитозан растворяется в разбавленных органических кислотах. Увеличение СД снижает кристалличность и скорость биодеградации хитозана, при этом вязкость, биосовместимость, антимикробные, гемостатические свойства – увеличиваются.

Однако, несмотря на все эти положительные качества, хитозан имеет и свои недостатки. Одним из них является его низкая растворимость при значениях pH выше 6.5, что делает его менее эффективным в нейтральной или щелочной среде. Кроме того, хитозан не может набухать или растворяться в большинстве органических растворителей, что ограничивает его применение в тех областях, где требуются такие свойства. Чтобы преодолеть эти ограничения, исследователи активно занимаются проведением модификации химической структуры хитозана, добавляя к нему различные функциональные группы, что позволяет значительно улучшить его свойства. Например, введение гидрофильных групп может повысить его растворимость в нейтральных и щелочных средах. Кроме того, модификация может улучшить антимикробные и гемостатические свойства хитозана, что делает его более подходящим для медицинских приложений, таких как создание перевязочных материалов или систем для целенаправленной доставки лекарств [76].

Таким образом, хитозан представляет собой многообещающий природный полимер с широким спектром применения, однако для его эффективного использования необходимо учитывать его физико-химические свойства и проводить дальнейшие исследования по его модификации. Это позволит не только улучшить его растворимость и совместимость с другими веществами, но и расширить области его применения в различных отраслях, включая медицину и пищевую промышленность.

1.2.2 Модифицирование хитозана

Хитозан представляет собой полимер, который обладает значительным количеством реакционных групп (C₃-OH, C₆-OH, C₂-NH₂), что делает его перспективным кандидатом для получения на его основе различных производных. Также, в хитозане присутствуют ацетиламино- и гликозидные связи [77]. Однако, они характеризуются высокой стабильностью и устойчивостью к разрушению, что затрудняет получение производных с их участием. Реакция с гидроксильной группой C₃-OH, затрудняет изза наличия больших стерических препятствий изза чего при попытке модифицировать хитозан через эту группу могут возникать сложности, что ограничивает возможности его химической модификации. В связи с этим, наиболее перспективными группами для проведения химических реакций модификации хитозана являются C₆-OH и C₂-NH₂. Задействуя данные активные группы возможно проводить различные реакции, такие как ацилирование, карбоксилирование, сульфирование, сульфатирование и

фосфорилирование, что значительно расширяет спектр возможных производных хитозана [78]. На рисунке 1.2.2.1 показана схема возможных химических реакций с хитозаном.



Рисунок 1.2.2.1 – Схема модификации хитозана [78]

1.2.2.1 Виды производных хитозана

Ацилированные производные

Ацилирование является важным методом модификации хитозана, который позволяет значительно изменить его физико-химические свойства. Этот процесс включает использование органических кислот и их производных для введения алифатических или ароматических ацильных групп в структуру молекул хитозана. В результате ацилирования происходит разрушение как внутримолекулярных, так и межмолекулярных водородных связей, что ведет к снижению кристалличности хитозана, что, в свою очередь, способствует увеличению его растворимости в воде. Когда хитозан подвергается N-ацилированию с использованием C₂-NH₂ группы, образуются амиды. С другой стороны, O-ацилирование, которое происходит при взаимодействии с C₆-OH, приводит к образованию эфиров [78].

В исследовании Le Tien и др. [79] ацилировали хитозан галогенангидридами карбоновых кислот. На первом этапе получали водный раствор хитозана в низкоконцентрированной уксусной кислоте, после чего в него медленно вливали NaOH, чтобы отрегулировать pH до 7.2. Затем к системе добавляли ацилхлорид и полученную смесь разбавляли дистиллированной водой. Через

некоторое время смесь нейтрализовывали, осаждали ацетоном, промывали метанолом и высушивали.

В работе [80] был приготовлен ацилированный хитозан с использованием стеароил- и лауроилхлорида. Хитозан на первом этапе растворяли, непрерывно перемешивая при комнатной температуре в водном растворе уксусной кислоты с добавлением триэтиламина (R₃N) и ацилхлорида (рис.1.2.2.1.1) с последующей выдержкой раствора в течение 1ч. После этого полученную смесь осаждали, фильтровали, промывали этанолом и экстрагировали гексаном несвязанный ацилхлорид.



Рисунок 1.2.2.1.1 – Схема реакции ацилирования хитозана с ацилхлоридом [80]

Как было выяснено в работе [81] ангидриды также могут быть использованы для получения ацилированного хитозана (рис. 1.2.2.1.2). В процессе ацилирования хитозан растворяют в уксусной кислоте, затем медленно добавляют этанольный раствор ангидридов. После 4 часов перемешивания реакционную смесь нейтрализуют и промывают водой и этанолом, а затем сушат в вакууме.



Рисунок 1.2.2.1.2 – Схема реакции ацилирования хитозана с ангидридами [81]

Ванг и др. использовали каприновую кислоту для синтеза ацилированного хитозана [82]. Первоначально хитозан растворяли в водном растворе уксусной кислоты, обеспечивая полное растворение полисахарида путем тщательного перемешивания. В безводном этаноле растворяли каприновую кислоту, после чего в него вводили 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид гидрохлорид и N-гидроксисукцинимид, перемешивая их для активации карбоксильных групп кислоты. Далее полученный раствор каприновой кислоты при помощи капельного полива добавляли в раствор хитозана при постоянном перемешивании. По завершении реакции в смесь вводился безводный этанол, что способствовало осаждению конечного продукта, который отделяли центрифугированием промывали и сушили.

Растворимость N-ацилированного хитозана зависит от степени замещения (C3) и длины боковой цепи. Исследования показали, что с ростом C3 увеличивается растворимость, а с увеличением длины боковой цепи происходит увеличение кристалличности и понижение

растворимости [78]. Полученный N-ацилированный хитозан находит применение в качестве лекарственного носителя, а также для создания волокнистых или 3D-матриксов для тканевой инженерии на его основе [78, 79].

Карбоксилированные производные хитозана

Карбоксилирование хитозана (образованию карбоксильной группы) проводят при взаимодействии глиоксиловой или хлоралкановой кислоты с группами C₆-OH или C₂-NH₂ хитозана [78].

Большинство исследований карбоксилированного хитозана касались реакций карбоксиметилирования. Эффект стерических препятствий для группы С₃-ОН хитозана затрудняет карбоксиметилирование группы С3-ОН, поэтому реакция в основном происходит с С₆-ОН группой. Ее активность на молекулярном уровне в щелочных условиях выше, чем активность группы C₂-NH₂. Поэтому, когда C3 меньше 1, продуктом является C₆-Oкарбоксиметил (1.2.2.1.3А). Когда СЗ больше или равна 1, замещение карбоксиметила происходит одновременно C₆-OH C_2 -NH₂ группам образованием N.O-ПО И с карбоксиметилхитозана (1.2.2.1.3Б) [78].



Рисунок 1.2.2.1.3 – Схема реакций А) О-карбоксиметилирование, Б) N,О-карбоксиметилирование [78]

Карбоксилированный хитозан обладает хорошими загущающими свойствами и демонстрирует высокую растворимость в воде, а также может быть растворен в щелочных растворах. Благодаря своим усовершенствованным свойствам карбоксилированный хитозан нашел широкое применение в различных областях, включая промышленность, сельское хозяйство, биомедицину и фармацевтику [78].

Серосодержащие производные хитозана

В исследовании [83] сообщили о получении N-сульфопропильного производного хитозана через реакцию кольцевого раскрытия с использованием 1,3-пропансультона в качестве сульфонирующего реагента и водного раствора уксусной кислоты (2 масс.%) в качестве растворителя, в атмосфере азота и при 30 °C. Схема реакции показана на рисунке 1.2.2.1.4. Несмотря на то, что 1,3-пропановый сультон известен как сильный канцероген, он широко используется для получения сульфопропиловых производных хитозана. Таким образом, чтобы удалить непрореагировавший сультон, реакция должна быть завершена и за ней должны последовать дополнительные этапы очистки. Полученное производное имело высокую антибактериальную и противогрибковую активность.



Рисунок 1.2.2.1.4 – Схема реакций сульфонирования хитозана [83]

Сульфированный хитозан может использоваться в качестве альтернативы антикоагулянтам благодаря структурному сходству с гепарином [83].

Фосфорилированные производные хитозана

В работе [84] описаны различные способы синтеза фосфорилированных производных хитозана. Так, путем нагревания хитозана с ортофосфорной кислотой и мочевиной в диметилформамиде, был получен фосфорилированный хитозан (Р-хитозан) (рис. 1.2.2.1.5). Другой способ получения Р-хитозана включал реакцию полимера с пентоксидом фосфора в метансульфоновой кислоте, которая привела к образованию Р-хитозана с низкой СЗ, растворимого в воде при комнатных условиях.



Рисунок 1.2.2.1.5 – Схема реакции фосфорилирования [84]

Также с использованием хитозана, большого избытка фосфорной кислоты и формальдегида при 70 °C была разработана простая методика получения нового производного - N-лаурил-N-метиленфосфонового хитозана, которое включает в себя N-метиленфосфоновые группы в качестве гидрофильных молекул и лауриловые группы в качестве гидрофобных (рис. 1.2.2.1.6). Полученное производное оказалось растворимым в нейтральных и кислых водных растворах [84].



Рисунок 1.2.2.1.6 – Схема реакции фосфорилирования [84]

Алкилированные производные хитозана

Успешное проведение реакции алкилирования и получение алкилпроизводного обеспечивается путем присоединения алкильной группы к C₂-NH₂ (N-алкилирование) или C₃-OH/C₆-OH (O-алкилирование) группе хитозана. При этом, группа C₂-NH₂ имеет сильные нуклеофильные электроны одиночной пары, и, таким образом, более вероятно протекание N-алкилирования [78].

Метод синтеза алкилированных производных описывается в работе [85], где были получены образцы хитозана, алкилированного каприловым альдегидом с различной степенью замещения (10 и 15%). Первичные аминогруппы хитозана подвергаются реакции Шиффа с альдегидами, давая соответствующие альдимины, которые превращаются в алкильное производное путем восстановления с помощью цианоборогидрида натрия - NaBH₃CN. Алкилпроизводные хитозана были получены путем его растворения в 0.2M CH₃COOH. После чего к раствору добавляли этанол, чтобы альдегид, используемый для алкилирования, находился в сольватирующей среде. После полного растворения pH корректировали до 5,1, чтобы избежать осаждения макромолекул (оптимальный диапазон pH реакции составляет от 4 до 8). Раствор альдегида в этаноле добавляли в соответствующем соотношении до избытка NaBH₃CN. Смесь
перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре, после чего алкил хитозан был осажден с помощью спирта. На рисунке 1.2.2.1.7 показана схема получения алкилированного производного хитозана данным методом.



Рисунок 1.2.2.1.7 – Схема реакции алкилирования [85]

В работе [86] хитозан также подвергли N-алкилированию через образование основания Шиффа с дальнейшим восстановлением борогидридом натрия. Реакцию проводили при комнатной температуре, в гомогенной водной среде, используя в качестве источника алкильной группы эфирное масло (*Eucalyptus staigeriana*), содержащее ненасыщенный альдегид (3,7диметилокта-2,6-диеналь). Схема реакции показана на рисунке 1.2.2.1.8. В результате была получена гидрофобизированное производное, обладающее ненасыщенными связями, амфифильными свойствами и антибактерицидным действием против грамположительных штаммов.



Рисунок 1.2.2.1.8 – Схема реакции алкилирования [86]

В еще одной работе [87] было сообщено о методе синтеза алкилированного хитозана с использованием 1-бутил-3-метилимидазолия гидроксида [Bmim]OH в качестве щелочного реагента. Хитозан добавляли в 2-пропанол при комнатной температуре, после чего производили тщательное перемешивание смеси. Затем добавлялся [Bmim]OH, после чего смесь нагревалась до 40 °C и подщелачивалась на протяжении 1 часа с постоянным перемешиванием перед добавлением галоалканов (бромэтана, 1-хлорбутана, бромдодекана или бромгексадекана) (рис. 1.2.2.1.9). Далее смесь продолжала нагреваться до 80-100 °C, и реакция проводилась при этой температуре в течение 8-10 часов. После завершения реакции реактивы фильтровались, остатки на фильтре промывались попеременно этанолом и дихлорметаном и затем сушились при 50 °C. Изучалось влияние подщелачивающих агентов, таких как NaOH, [Bmim]OH и [Bmim]Cl, на C3 хитозана. При использовании [Bmim]OH в роли подщелачивающего реагента была достигнута наибольшая C3 додецил-хитозана (58,4%), тогда как при применении NaOH C3 составила 48,5%, а с использованием [Bmim]Cl – всего 15,9%.

Рисунок 1.2.2.1.9 – Схема реакции алкилирования [87]

Алкилированный хитозан может служить исходным компонентом для создания биомедицинских материалов, благодаря своим широким биологическим свойствам. Кроме того, благодаря положительному заряду он способен поглощать анионные поверхностно-активные вещества, что делает его эффективным сорбентом для очистки воды [78].

1.2.2.2 Механохимический синтез производных хитозана

Получение модифицированного хитозана можно проводить несколькими способами: синтез в растворе и механохимическое модифицирование. Синтез в расплаве невозможен, так как температура деструкции хитозана находится ниже его температуры плавления. Поскольку хитозан растворим только в кислых водных средах и нерастворим в органических растворителях, возможности его модификации с использованием водо- и органорастворимых веществ ограничены. Кроме этого, модификация с использованием растворных технологий требует нескольких синтетических этапов и сложной очистки вследствие применения катализаторов и токсичных растворителей [88], как это было описано в разделе 1.2.2.1. В связи с вышеперечисленным, механохимическая безрастворная обработка является наиболее перспективным методом получения производных хитозана.

В ИСПМ РАН имени Н.С. Ениколопова был разработан механохимический метод принудительного диспергирования твердых реагентов в процессе экструзии. В процессе твердофазного синтеза ацилированных и карбоксиметилированных производных хитина, хитозана и целлюлозы в экструдере [89, 90], а также при взаимодействии целлюлозы с хитином (хитозаном), включая модификации с помощью сшивающего агента [91], были достигнуты выдающиеся степени превращения реагентов. Исследования показали, что при образовании солей твердых органических кислот и хитозана степень протонизации хитозана коррелирует с силой кислоты, что указывает на отсутствие диффузионных ограничений для реакции в твердом состоянии. Реакции N-, О-ацилирования и карбоксиметилирования хитозана зависят от соотношения реагентов, температурных условий и реакционной способности функциональных групп полимера, что свидетельствует о химическом контроле этих процессов в твердом состоянии [2]. Сравнительный анализ средневязкостного молекулярно-массового распределения и гранулометрического состава хитозана, полученного путем деацетилирования в экструдере, с аналогичными характеристиками промышленного хитозана, подвергнутого аналогичной механической обработке, выявил, что вклад механической деструкции в снижение молекулярной массы полимера минимален, особенно в условиях повышенных температур. Это указывает на то, что уменьшение молекулярной массы при деацетилировании и карбоксиметилировании в твердом состоянии главным образом обусловлено термическим окислением полисахаридов в присутствии сильных оснований [2].

Также был осуществлен безрастворный синтез аллилзамещенных производных хитозана посредством реактивной со-экструзии порошка хитозана с бромистым аллилом под действием сдвиговой деформации [92]. В процессе экспериментов было установлено общее содержание аллильных заместителей, колеблющееся от 5 до 50 на 100 звеньев хитозана, в зависимости от соотношения компонентов в реакционных смесях. Реакция без добавок позволила получить преимущественно N-алкилированные производные, тогда как с добавлением щелочи образовались эфиры хитозана. Полученные результаты показывают, что предложенный метод обеспечивает более высокий выход продуктов и требует меньших затрат реагентов по сравнению с жидким синтезом в органической среде. Синтезированные ненасыщенные производные впоследствии использовались в качестве светочувствительных компонентов в лазерной стереолитографии для создания трехмерных биосовместимых структур с четко проработанной архитектоникой [93].

Кроме того, была проведена модельная реакция твердофазной модификации хитозана малеиновым ангидридом, в результате которой были идентифицированы продукты реакции и предложен механизм прививки полиэтилена к хитозану через промежуточное образование хитозана и производных малеинового ангидрида [94].

Также производные хитозана-лактида были получены путем совместной экструзии хитозана с алифатическими полиэфирами. В этом контексте был предложен механизм прививки, связанный с реакциями аминолиза сложноэфирных связей полимеров и реакциями концевых карбоксильных групп с аминогруппами хитозана [95]. Получены данные о релаксационных переходах, динамике кристаллизации и механических свойствах таких производных, подтверждающие их высокие механические характеристики. Также установлено, что модификация сохраняет важные биохимические свойства хитозана, что способствует увеличению сорбционной емкости и биосовместимости материалов.

Синтезированные производные использовались для формования широкого спектра материалов в области биомедицины, биосовместимость и биоразлагаемость которых были подтверждены в ходе экспериментов *in vitro* и *in vivo* [88, 96, 97].

Таким образом, было показано, что производные хитозана можно успешно синтезировать в твёрдой фазе методом механической активации исходных компонентов в двухшнековом экструдере. Процесс имеет ряд преимуществ (высокая скорость, меньший расход реагентов, больший выход продуктов реакции) и приводит к высокой степени преобразования функциональных групп реагентов. Модификация хитозана чаще всего приводит к амфифильным свойствам его производных, что ведет к улучшению их механических, химических и биологических свойств и позволяет расширить как области их применения, так и виды получаемых на их основе материалов.

1.3 Хитозансодержащие материалы: методы получения и применение

Пленки

Пленки – тонкий слой связанного конденсированного вещества, толщина которого соизмерима с расстоянием действия поверхностных сил. В настоящее время пленки, изготовленные на основе полимеров, особенно полисахаридов, вызывают значительный интерес у исследователей благодаря своим уникальным свойствам. К числу этих свойств относится, прежде всего, структурная неоднородность, которую можно контролировать изменением параметров компонентов пленки и условий ее изготовления. Кроме того, они легко формуются и могут служить основой для создания смесевых и наполненных образцов.

Характеристики пленок варьируются в зависимости от технологии их производства, что влияет на качество покрытия, его толщину, однородность и стабильность, а также на практическое применение этих материалов. Среди самых распространенных в данное время методов получения пленок можно выделить: полив на подложку с последующим испарением растворителя, центрифугирование, ножевой метод, метод подачи раствора, метод погружения

подложки в раствор полимера [98]. Самым простым и наиболее часто применяемым лабораторным методом получения пленок среди вышеперечисленных является метод полива на подложку с последующим испарением растворителя, сущность которого заключается в следующем: растворенное вещество наносится на горизонтальную поверхность (подложку) и высушивается (рис. 1.3.1).



Рисунок 1.3.1 – Схема получения пленок при помощи метода полива на подложку с последующим испарением растворителя

В идеальном случае материал подложки не взаимодействует с пленкой, но обеспечивает ее механическую жесткость и необходимую адгезию. Материал, геометрические размеры и состояние поверхности подложки оказывают заметное влияние на характеристики получаемых пленок и их поверхность и их выбор зависит от используемого исходного вещества, растворителя, а также целей дальнейшего использования полученных пленочных материалов. В случае хитозана и его производных для получения пленок часто используют полистирольные чашки Петри разного диаметра (30-120 мм), т.к. традиционным растворителем для полисахарида является слабоконцетрированный раствор уксусной кислоты.

Данный метод получения пленок на основе полисахаридов является простым и быстрым, не требующим специального оборудования, однако он имеет ограничение в виде сложности в контроле толщины получаемых образцов и ее неоднородности, которую возможно контролировать, используя ровную поверхность во время формования образцов.

Получаемые пленки на основе полисахаридов и хитозана находят применения в таких сферах, как пищевая и упаковочная промышленности [75], тканевая инженерия и биомедицина [88, 99, 100]. В пищевой и упаковочной промышленности полисахаридные пленки широко используются для консервирования различных пищевых продуктов, а также для формования съедобных упаковочных материалов с функциональными добавками в своем составе. Комбинация нескольких полисахаридов позволяет улучшить ряд свойств получаемых пленок, таких как механические, барьерные и антимикробные, чаще всего за счет добавления хитозана. Также высокая сорбционная и хелатирующая способность последнего обеспечивает возможность включения различных активных компонентов в структуру пленок на его основе. Чаще всего для этой цели используются наночастицы различной природы, эфирные масла и полифенолы. Такие наполнители могут как улучшать физико-химические и механические свойства материалов, так и играть роль функциональных антимикробных и антиоксидантных агентов. Совмещение наполнителей различной природы в одной матрице позволяет оптимизировать потребительские свойства съедобных упаковочных материалов. Такие материалы могли бы не только защищать продукты от патогенных организмов и отрицательного влияния внешней среды, но и служить функциональным питанием для удовлетворения потребностей человека в белках, жирах и углеводах, а также повышать иммунитет и улучшать функцию внутренних органов, способствуя снижению массы тела [75].

Область биомедицины также представляет большой интерес для использования биополимерных пленок. Их природное происхождение обеспечивает низкую токсичность, хорошую биосовместимость с клетками организма и биоразлагаемость. Одним из наиболее перспективных направлений применения тонких пленок на основе хитозана является тканевая инженерия. Поскольку естественная регенерация тканей ограничена небольшими дефектами, для восстановления более крупных участков требуется использование специализированных инженерных каркасов, в т.ч. в виде пленок, для роста на них клеток [99].

Таким образом, пленки на основе хитозана являются простым в формовании материалом, имеющим широкие перспективы применения.

Наполненные хитосансодержащие материалы

Еще одним перспективным в настоящее время вариантом применения хитозана и широкого спектра его производных, в частности гидрофобизированных, является использование их в качестве наполнителей в материалах на основе различных синтетических полимеров.

Одним из многообещающих типов наполненных материалов являются упаковочные материалы из полиолефинов разной геометрии. Подтверждено, что наполнение хитозаном улучшает механические и термические свойства полимерных композиционных материалов на основе полиэтилена и придает им антимикробные свойства [101]. Введение хитозана в полиэтиленовую матрицу перспективно также для получения сорбционных материалов с широким спектром применения, например, для удаления красителей или ионов металлов [102–104].

Однако, введение природных компонентов в термопласты является сложной с технологической точки зрения задачей, которая требует или использования дополнительных агентов-компатибилизаторов или предварительного модифицирования химической структуры природного полимера. Второй вариант обеспечивает больший диапазон возможностей для расширения доступных технологий формования, в том числе из неводных растворов, а также

предполагает разработку полимерных материалов с требуемыми функциональными свойствами. Для улучшения совместимости полимерной матрицы и хитозана предложено также модифицирование структуры полиолефинов, например, с помощью малеинового ангидрида (МА), или использование компатибилизирующих добавок в ходе реакционной экструзии [105 -107]. Было показало, что введение добавок увеличивает межфазное взаимодействие между хитозаном и полиолефиновой матрицей, результатом чего является увеличение прочности при разрыве и модуля Юнга, а также термической стабильности композитов. При этом наблюдали уменьшение пластичности и водопоглощения материалов за счет увеличения кристалличности полиолефинов. способов, Одним ИЗ позволяющих преодолеть термодинамическую несовместимость компонентов, является безрастворная реакционная экструзия, осуществляемая выше или ниже температуры плавления синтетического термопластичного полимера. В ходе исследования по проведению реакции ацилирования хитозана с помощью малеинового ангидрида в присутствии полиэтилена низкой плотности (ПЭНП) удалось получить композиционные материалы, отличающиеся от немодифицированных смесей по физикомеханическим свойствам.

Еше одним хитозансодержащих наполненных материалов типом являются микро/нанонаполненные волокнистые каркасы на основе полилактида для тканевой инженерии, обладающие высокой пористостью и структурным сходством с морфологией естественных живых тканей [97, 108, 109]. Эти материалы выделяются благодаря высокой площади поверхности при низком весе материала, что обеспечивает их высокую проницаемость при имплантации. Кроме того, они позволяют контролировать направление роста клеток, зависящее от ориентации волокон в каркасе. Следует также отметить, что диаметр волокон и фибрилл некоторых тканей и внеклеточного матрикса примерно одинаков, следовательно, волокна могут последний. С точки зрения механических свойств полилактид заменять является привлекательным исходным компонентом для создания таких матриксов. Однако отсутствие у него функциональных групп, способствующих прикреплению клеток, ограничивает их использование в биоинженерии. Природные же полимеры, в частности хитозан, обладают разнообразным набором функций в их естественной среде и широко используются в фармацевтике и медицине, в основном благодаря их способности к биологическому разложению и хорошей клеточной адгезии [97]. Системы на основе полилактида, содержащие природные полимеры, привлекают множество исследователей как многообещающие исходные компоненты для создания «идеального» каркаса.

Технология капиллярного электроформования (ЭФ) представляет собой один из наиболее эффективных методов получения волокнистых материалов, позволяющий производить волокна произвольной длины с диаметром от десятков нанометров до нескольких микрон. Этот метод

активно используется в различных отраслях, включая медицину, текстильную промышленность и производство композитных материалов. В процессе капиллярного ЭФ применяются различные биосовместимые полимеры, среди которых можно выделить полисахариды, белки, полимеры и сополимеры лактида, а также их производные и смеси [97]. Это разнообразие материалов позволяет получать волокна с уникальными свойствами, что делает их востребованными в биомедицинских приложениях, таких как создание искусственных тканей и систем доставки лекарств. Принцип работы технологии ЭФ основывается на процессе «сверху вниз», что подразумевает формирование наноразмерных объектов в результате макроскопических процессов [110]. Этот подход позволяет не только получать волокна, но и создавать сложные наноструктуры, которые могут быть использованы в различных нанотехнологиях. Процесс получения волокон из полимерных растворов и расплавов происходит под воздействием электрического поля высокой напряженности, что является ключевым аспектом данной технологии. Типичная установка для капиллярного электроформования состоит из трех основных компонентов: источника высокого напряжения, формующего электрода с системой подачи прядильного раствора и собирающего электрода. В процессе работы к раствору или расплаву полимера, который подается через капилляр с помощью дозатора, прикладывается электрическое напряжение, обычно в диапазоне от 10 до 60 кВ, хотя в некоторых случаях оно может достигать 100 кВ. Высокое напряжение приводит к образованию одноименных электрических зарядов в полимерном растворе, что вызывает вытягивание раствора в тонкую струю. Это вытягивание происходит за счет кулоновского электростатического взаимодействия, которое создает силы, вытягивающие полимерный раствор. Во время электростатического вытягивания струя может подвергаться последовательным расщеплениям на более тонкие струи. Этот процесс зависит от соотношения вязкости, поверхностного натяжения и плотности электрических зарядов в растворе, а также от напряженности электростатического поля. В результате этого взаимодействия образуются тонкие струи, которые затем отверждаются. Отверждение может происходить различными способами, включая испарение растворителя или охлаждение, что приводит к образованию волокон. Ключевым аспектом технологии капиллярного ЭФ является возможность контроля параметров процесса, что позволяет получать волокна с заданными характеристиками. Например, изменение напряжения, скорости подачи раствора и температуры может значительно повлиять на диаметр и структуру получаемых волокон. Это открывает широкие перспективы для разработки новых материалов с уникальными свойствами, такими как повышенная прочность, гибкость или биосовместимость [111].



Рисунок 1.3.2 – Схема установки для капиллярного ЭФ [111]

Этот метод обладает рядом преимуществ, включая относительную простоту и гибкость производственного процесса, низкие затраты и возможность получать непрерывные ультратонкие волокна из практически любых растворимых полимеров [110].

Важным фактором для формирования наполненных микро-/наноразмерных волокон методом ЭФ является то, что гибридные полимерные материалы должны обладать способностью к диспергированию по крайней мере на коллоидном уровне в подходящих растворителях. Так, для получения гомогенных растворов смеси хитозан/полилактид, как известно, используют токсичные растворители, такие как трифторуксусная кислота. В связи с этим, в дальнейшем, очевидно, для получения подобных материалов необходимо использовать производные хитозана, в частности гидрофобизированные, для повышения сродства последнего к более безопасным видам растворителей.

Таким образом, наполнение хитозаном синтетических полимеров приводит к получению материалов с улучшенными свойствами для разных областей применения.

Эмульсии и полимерные микрочастицы, получаемые методом испарения растворителя из эмульсий

Эмульсия представляет собой дисперсную систему, состоящую из мельчайших капель жидкости (дисперсной фазы), распределенных в другой жидкости (дисперсионной среде). Они широко используются в различных отраслях: в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности, при производстве лаков, красок, бумаги, фотографических эмульсий и др. Эмульсии могут быть образованы двумя любыми несмешивающимися жидкостями. Однако, в большинстве случаев одной из фаз эмульсий является вода, а другой - вещество, состоящее из слабополярных молекул (например, жидкие углеводороды или жиры) [112].

Эмульсии делятся на следующие виды: масло/вода; вода/масло; масло/вода/масло; вода/масло/вода (рис. 1.3.3) [112].



Рисунок 1.3.3 – Типы эмульсий: а) эмульсия масло/вода;

б) эмульсия вода/масло; в, г) множественные эмульсии масло/вода/масло (в) и вода/масло/вода
 (г), заштрихованная фаза - масло [112]

Для эмульсий характерна агрегативная неустойчивость, так как они обладают слабым молекулярным взаимодействием между дисперсной средой и дисперсионной фазой, поэтому при их получении резко возрастает поверхность раздела масло/вода и удельная межфазная свободная энергия. В связи с тем, что эмульсии являются термодинамически нестабильными системами, они имеют тенденцию к слиянию фаз для минимизации площади межфазного контакта и свободной энергии. Это проявляется в различных механизмах дестабилизации: флокуляции, коалесценции, созревании Оствальда и последующем расслоении (седиментации) (рис. 1.3.4) [113].



Рисунок 1.3.4 – Механизмы дестабилизации эмульсий [113]

В связи с этим основной задачей в ходе получения эмульсий является их стабилизация, для которой используют различные поверхностно-активные вещества – эмульгаторы, в роли которых могут выступать различные высокомолекулярные соединения, в том числе хитозан и производные на его основе [114–117]. При их использовании на поверхности капли масла создается вязкий слой или структурированная прочная пленка, предотвращающая сближение и разрушение капель дисперсной фазы в процессе эмульгирования.

Эмульгирование – процесс образования эмульсий, который заключается в диспергировании одной несмешивающейся жидкости в другой, путем создания границы раздела фаз. Эмульгирование представляет собой динамический и самопроизвольный процесс, и для образования капель требуется значительное количество энергии, чтобы диспергировать одну из жидкостей в сплошной фазе. Для дробления капли на более мелкие размеры необходимо изменить форму капли, и эта деформация происходит при сдвиге или перемешивании эмульсии [112]. Метод эмульгирования обычно выбирается в зависимости от требуемого типа эмульсии и размера их капель для дальнейшего применения. Наиболее простым и доступным на данный момент является метод перемешивания на мешалках магнитного или роторного типа.

Более сложным эмульсионным процессом является получение из эмульсий масло/вода полимерных микрочастиц – частиц полимеров произвольной формы, чаще всего сферической, с эквивалентным диаметром от 0.1 до сотен микрон.

Наряду с другими методами формования микрочастиц (распылительная сушка, коацервация и др.) метод испарения растворителя из эмульсии является одним из наиболее распространенных подходов к получению микрочастиц различного назначения [118]. Этот метод не требует высоких температур, введения дополнительных компонентов и при правильной реализации он обеспечивает низкое содержание остаточного растворителя в микрочастицах. Схема метода испарения растворителя из эмульсии масло/вода представлена на рис. 1.3.5.



Рисунок 1.3.5 – Формирование микрочастиц методом испарения растворителя из эмульсии масло/вода [119]

Испарение в контексте полимерных эмульсий представляет собой процесс, при котором растворитель из дисперсной фазы диффундирует через дисперсионную среду [119]. Этот процесс приводит к трансформации эмульсии в суспензию твердых микрочастиц различных размеров и формы. После формирования микрочастиц, их подвергают дальнейшим процессам, таким как промывание, фильтрация и фракционирование. Эти этапы необходимы для удаления остатков растворителя и эмульгаторов, а также для разделения микрочастиц по размеру. Эмульгатор, который был изначально растворен в дисперсионной среде, играет важную роль в стабилизации границы раздела между фазами масло/вода. Он помогает предотвратить агрегацию микрочастиц и обеспечивает их равномерное распределение в суспензии [120]. В процессе испарения растворителя эмульгатор может оставаться на поверхности микрочастиц, формируя «оболочку» вокруг так называемого полимерного «ядра» [118].

Таким образом, весь процесс от испарения растворителя до получения стабильной суспензии твердых микрочастиц требует тщательного контроля условий, чтобы достичь желаемых характеристик получаемых микрочастиц, которые представляют собой один из самых многообещающих материалов в области биомедицины и фармацевтики. В частности, они активно используются для пролонгированного высвобождения лекарственных веществ, что позволяет обеспечить стабильную и контролируемую терапию на протяжении длительного времени [120]. Такой подход значительно улучшает эффективность лечения, снижает частоту приема препаратов и минимизирует побочные эффекты. Кроме того, микрочастицы могут быть применены для доставки клеток в поврежденные участки тканей, что открывает новые горизонты в регенеративной медицине [121]. Например, их можно использовать в инъекционных матрицах, которые помогают восстановить поврежденные органы и ткани, обеспечивая необходимую поддержку для роста и дифференцировки клеток. Это особенно актуально в случаях травм, ожогов или хронических заболеваний, когда естественные механизмы восстановления организма оказываются недостаточными. Клетки, предназначенные для восстановления специфических тканей, проходят важный этап подготовки перед их введением в организм. Сначала эти клетки культивируют в лабораторных условиях на поверхности микрочастиц. Этот процесс *in vitro* позволяет клеткам адаптироваться и размножаться, что способствует их жизнеспособности и эффективности в дальнейшем. Процесс введения клеток в поврежденную область осуществляется с помощью шприца, что позволяет точно доставить клетки в нужное место, минимизируя повреждение окружающих тканей. Важно отметить, что такие методы регенерации тканей активно исследуются и развиваются, и их применение может значительно улучшить результаты лечения различных заболеваний, связанных с повреждением хрящевой ткани, таких как остеоартрит или травмы суставов [122].

Также сферические микрочастицы на основе термопластичных биодеградируемых полимеров, у которых на поверхности присутствует гигроскопичное покрытие биополимерного материала, имеют перспективы применения в качестве исходных компонентов в формовании объемных структур для тканевой инженерии при помощи одного из методов аддитивных технологий - поверхностно-селективного лазерного спекания (ПСЛС) [121].

Таким образом, использование хитозана и его производных при получении различных форм материалов не только расширяет способы их формирования, но и позволяет получать материалы с улучшенными характеристиками или новыми свойствами.

1.4 Обобщение литературного обзора и постановка задач исследования

В данном литературном обзоре рассматриваются различные аспекты механохимического модифицирования высокомолекулярных соединений, с особым акцентом на хитозан — один из наиболее перспективных природных полимеров, получаемых из хитина. В обзоре рассмотрены современные технологии и оборудование, используемое для механохимического синтеза, а также возможные методы получения производных хитозана. Механохимический подход к модифицированию полисахаридов, таких как хитозан, представляет собой перспективный метод синтеза и переработки полимеров. Этот метод позволяет осуществлять химические реакции под воздействием механических сил, таких как давление и сдвиговые деформации, что приводит к активизации молекул и улучшению их реакционной способности. В отличие от традиционных подходов, механохимический синтез позволяет исключить использование растворителей и катализаторов, что значительно упрощает процесс и делает его более экологически чистым. Одним из ключевых преимуществ механохимического синтеза является его высокая экономическая эффективность. Отсутствие растворителей снижает затраты на производство и минимизирует образование отходов, что особенно важно в условиях современных экологических стандартов. Более того, полученные продукты не содержат токсичных реагентов, что делает их безопасными для использования в различных отраслях.

Литературный поиск показал, что одним из наиболее перспективных направлений в области модификации хитозана является его гидрофобизация – процесс прививки гидрофобных фрагментов на полисахарид, который позволяет значительно улучшить его свойства. Однако, несмотря на высокий потенциал данного процесса, синтез гидрофобизированных производных хитозана по традиционным (жидкофазным и расплавным) технологиям сталкивается с рядом серьезных проблем. Во-первых, жидкофазный процесс требует многостадийного подхода, что усложняет его реализацию и увеличивает затраты. Во-вторых, использование высокотоксичных реагентов создает дополнительные риски во время производства и для окружающей среды. В-третьих, жидкофазная технология зачастую не обеспечивает достаточной длины привитых цепей,

что ограничивает улучшение прочностных характеристик конечного продукта. Отдельной проблемой является термодинамическая несовместимость исходных компонентов при получении гидрофобизированных производных хитозана в расплаве. B связи с вышеперечисленным исследование потенциала механохимического синтеза становится особенно актуальным. Этот метод может предложить альтернативный подход к получению производных хитозана, содержащих гидрофобные фрагменты различной длины в своей структуре, что, в свою очередь, может значительно улучшить их свойства. Механохимический синтез, основанный на использовании механических воздействий, таких как измельчение или перемешивание, может позволить избежать многих недостатков традиционных методов. Он может обеспечить более равномерное распределение реагентов и улучшить взаимодействие между ними, что способствует образованию более длинных и стабильных привитых фрагментов на хитозане. Кроме этого, гидрофобизация хитозана позволяет задействовать новые технологии (растворные, расплавные, межфазные, аддитивные) для формирования материалов на основе получаемых производных, что приводит к созданию инновационных материалов с уникальными свойствами. Эти материалы могут найти широкое применение в различных отраслях, что еще раз подчеркивает актуальность и значимость изучения процессов механохимической модификации хитозана в современном научном контексте.

В связи с вышеперечисленным, **цель** данной работы заключалась в исследовании закономерностей процесса синтеза гидрофобизированных производных хитозана путем механохимической обработки твердых смесей хитозана с глицидиловыми эфирами гексадекана и докозана, олиголактидом и коллагеном, а также исследование влияния химической структуры полученных производных на возможность формования, морфологию и свойства материалов различной формы.

В качестве модельного гидрофобного компонента для изучения возможностей механохимического синтеза при алкилировании хитозана использованы глицидиловые эфиры гексадекана и докозана, различающимися длиной основной цепи (С16 и С22). Данные алкилглицидиловые эфиры представляют класс высокогидрофобных мономеров для синтеза с раскрытием эпоксидного кольца, в результате чего получают нетоксичные неполярные алифатические полиэфиры. Введение в химическую структуру гидрофильного хитозана алкильных неполярных фрагментов позволит контролировать гидрофильный/липофильный баланс получаемых производных. Благодаря этому, значительно расширяется спектр методов формования разных форм материалов на их основе. Литературный анализ показал, что попытки подобного механохимического модифицирования ранее не проводились.

Для исследования возможностей механохимического синтеза в получении ацилированного производного с биоактивным компонентом в составе в качестве модельных

компонентов выбраны олиголактид и коллаген. Данный выбор обусловлен тем, что ранее механохимически был синтезирован ряд привитых сополимеров хитозана, содержащих фрагменты олиго/полилактида различной длины, и пригодных для формования материалов биомедицинского назначения [123]. В настоящей работе с помощью механохимического подхода было получено ацилированное олиголактидом производное хитозана, дополнительно обогащенное коллагеном. Введение фрагментов гидрофобного олиголактида должно придать хитозану амфифильные свойства, а наличие в системе коллагена – дополнительную биосовместимость [97].

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Основные характеристики исходных веществ

Хитин из панциря краба (ММ 650 кДа, влажность 4.3%, содержание золы 1.8%) приобретен у Xiamen Fine Chemical Import & Export CO., LTD (Китай).

Хитозан X80 (ММ 80 кДа; степень ацетилирования (СА) 0.13) и X140 (ММ 140 кДа; СА 0.07) получены механохимическим щелочным деацетилированием вышеуказанного хитина в соответствии с опубликованной ранее методикой [71].

Хитозан Х350 (ММ 350 кДА; СА 0.20) приобретен у фирмы «СОНАТ» (Россия).

Глицидиловый эфир С16 (2-[(гексадецилокси)-метил]-оксиран, С₁₉H₃₈O₂, MM 298 Да, T_{пл} = 28-31 °C, CAS-No 15965-99-8) и *глицидиловый эфир С22* ([(докозилокси)-метил]-оксиран, C₂₅H₅₀O₂, MM 382 Да, T_{пл} = 55-65 °C, CAS-No 20920-10-9) приобретены у SACHEM Europe B.V. (Нидерланды) и использованы без дополнительной очистки.

Полукристаллический олиго(L,L-лактид) (ММ 5 кДа) синтезирован из соответствующей молочной кислоты (Panreac, Испания) с использованием 0.001% SnCl₂ в качестве катализатора.

Поли(L,L-лактид) (MM 160 кДа, $T_{nn} = 165^{\circ}$ С) приобретен у фирмы Sigma-Aldrich.

Коллаген (ММ 300 кДа) выделен из дермы крупного рогатого скота в Первом Московском государственном медицинском университете имени И.М. Сеченова по методике описанной в [124].

Полиэтилен низкого давления (ПЭНД, ПТР^{2,16}190 = 6,3 г/10 мин) марки Stamylan HD фирмы DSM (Нидерланды) использован без дополнительной подготовки.

Подсолнечное масло фирмы «Олейна».

Растворители марки ХЧ приобретены у фирмы «Химмед» (Россия) и использовались без дополнительной очистки.

Вода дистиллированная, ГОСТ 24902 – 81.

2.2 Оборудование для проведения механохимического модифицирования

Механохимический синтез проводился в опытно-промышленном двухшнековом экструдере «Berstorff ZE40» (Германия). Данный экструдер имеет диаметр шнеков 40 мм, что позволяет эффективно смешивать и обрабатывать различные компоненты. Важной особенностью данного оборудования является система контролируемого нагрева зон, что обеспечивает точное регулирование температуры в процессе синтеза. Это критически важно, так как температура может значительно влиять на реакционные процессы и свойства конечного продукта.

При синтезе шнеки экструдера вращались в однонаправленном режиме, что способствовало равномерному распределению компонентов и их более эффективному взаимодействию. Элементы шнека экструдера, использованные при подготовке образцов, и их количество представлены в таблице 2.2.1.

Обозначение элемента	Количество
Транспортирующие элементы	
30/15	4
40/20	3
60/30	2
Месительные (кулачковые) элементы	
EAZ-KB 50/45	9
EAZ-KB 50/90	2

Таблица 2.2.1 – Набор элементов шнека экструдера* [125]

*Перед обозначением элемента стоит их количество в наборе. Дробям: 60/30, 40/20 и 30/15 - соответствуют двузаходные транспортирующие элементы общей длиной 60, 40 и 30 мм и шагом витка 30, 20 и 15 мм. Зона рабочих элементов - КД содержит смесительные элементы 50/45 и 50/90 состоящие из 5 кулачков общей длиной 50 мм и сдвигом относительно друг друга 45° и 90° соответственно.

Элементы располагали в следующем порядке: 3х40/20; 3хЕАZ-КВ 50/45; 1х ЕАZ-КВ 50/90; 6хЕАZ-КВ 50/45; 1хЕАZ-КВ 50/90; 2х30/15; 2х60/30; 2х30/15. Процесс осуществляли путем ручной загрузки материала при работе питающего шнека-дозатора. Скорость подачи смесей исходных компонентов контролировалась так, чтобы поддерживать заданный уровень нагрузки на шнеках (10-К25А). Скорость вращения шнеков устанавливалась на панели управления в диапазоне от 40 до 100 об/мин. Нагрузка на шнеки регулировалась до заданных значений, которые измерялись с помощью амперметра по потребляемому двигателем току. Переработка материала при постоянных уровнях температуры в зонах экструдера, которая поддерживалась системой охлаждения или нагрева [125].

2.3 Объекты исследования

2.3.1 Алкилированные производные хитозана

В качестве модельного объекта для изучения возможностей твердофазного синтеза при алкилировании хитозана получены следующим образом смеси хитозана с глицидиловыми эфирами гексадекана и докозана, различающимися длиной основной цепи (C16 и C22): рассчитанное количество алкилирующих реагентов растворяли в ацетоне (1/4 массы/объем), после чего хитозан замачивали в полученных растворах реагентов при заданных соотношениях компонентов и комнатной температуре в течение 5 мин. После этого, полученную смесь сушили в вакуумной печи без нагревания в течение 1 ч.

Механохимическую обработку реакционных смесей проводили в двухшнековом экструдере, охарактеризованном в 2.2. Предварительно смешанные реагенты подавали вручную

со скоростью вращения шнека 60 об/мин. Температура обработки 40°С и 50°С для глицидиловых эфиров гексадекана и докозана, соответственно, была установлена во всех зонах нагрева. Время прохождения реакционной массы по длине экструдера составляло 3-5 мин, число циклов обработки – 3.

Полученные продукты со-экструдирования промаркированы как образцы X80-C16-3, X140-C22-3, X140-C22-10, X350-C16-5, где сначала указывается исходный тип хитозана, затем тип модификатора и его массовая доля в обрабатываемой смеси. В таблице 2.3.1.1 приведены данные об условиях синтеза образцов и их основных характеристиках.

1	Габлица 2.3.1.1	_ У	′словия п	олучения	образцов і	и их ха	ракте	ристики
				-				4

Образец	Модификатор, масс. %	Температура обработки*, ° С
X80	-	-
X140	-	-
X350	-	-
X80-C16-3	3	40–60
X140-C22-3	3	50–60
X140-C22-10	10	50–70
X350-C16-5	5	40–60

* Верхнее значение интервала зафиксировано во второй зоне, где расположены силовые (месильные) элементы шнеков.

2.3.2 Ацилированное производное хитозана

В качестве системы сравнения для алкилированных производных было синтезировано ацилированное олиго(L,L-лактидом) производное хитозана, содержащее белок коллаген.

Полученный образец также синтезирован механохимическим методом в полупромышленном двухшнековом экструдере, охарактеризованном в 2.2, и промаркирован как Х350-ОЛ-К. Основные условия его получения приведены в таблице 2.3.2.1.

Таблица 2.3.2.1 – Основные условия синтеза ацилированного производного хитозана

Маркировка	Компоненты	Соотношение компонентов, масс.%	Температура обработки, °С
Х350-ОЛ-К	Хитозан-350/ олиго(L,L-лактид)/коллаген	50/46.5/3.5	55

2.3.3 Пленки на основе хитозана/гидрофобизированных производных

Для формования пленок из растворимых фракций образцов немодифицированного хитозана и их гидрофобизированных производных использовали метод полива на подложку с последующим испарением растворителя. Для этого получали 1 масс.% водные растворы полимеров в 2% СН₃СООН (навески полимеров брались с учетом дальнейшего отделения

нерастворимой части и сохранения 1 масс.% в растворимой части), которые подвергали механическому перемешиванию на верхнеприводной мешалке IKA (модель R50D) при 700 об/мин в течение 4 часов. После чего растворы центрифугировали дважды по 30 минут для отделения друг от друга растворимой и нерастворимой фракций. Растворимую фракцию использовали для приготовления пленок: отливали на полистирольные чашки Петри диаметром 9 см и помещали в беспылевой шкаф при комнатной температуре до полного испарения растворителя. Толщина пленок составляла 90-120 мкм. Пленки на основе хитозана X350 и его ацилированного производного X350-ОЛ-К также переводили в нерастворимую форму путем термопрогрева при 150°C в течение 5 ч и отмывали от несшитых фрагментов дистиллированной водой.

2.3.4 Наполненные гидрофобизированными производными хитозана материалы

Алкилированное производное X140-C22 использовали в качестве бионаполнителя для полиэтилена, введение которого в количестве 10, 20, 40 и 70 масс.% в полиолефиновую матрицу производили традиционным расплавным способом в смесителе экструдерного типа (Смеситель Брабендер марки МРЧ-83 М1, завод Редуктор). Автор благодарит д.х.н., с.н.с. лаборатории структуры полимерных материалов ИСПМ РАН Евтушенко Ю.М. за помощь в проведении эксперимента расплавным способом. В качестве образца сравнения использовали механохимический способ смешения в условиях сдвиговых деформаций в двухшнековом экструдере «Berstorff» (Германия) (образец с наполнением 10 масс.%). Время обработки в смесителе роторного типа при температуре 195°С составляло 5 минут, время прохождения реакционной массы по длине экструдера составляло 5 мин при температуре обработки 90°С.

Пленки толщиной 100-120 мкм формировались из полученных смесей методом горячего прессования при температуре 150°С и давлении 15-17 МПа, после чего происходило их охлаждение на воздухе в пресс-форме. Из полученных пленок вырубали образцы в виде лопаток с размерами рабочей части 20×3 мм для проведения механических испытаний. Автор благодарит м.н.с. лаборатории структуры полимерных материалов ИСПМ РАН к.х.н. Мягкову К.З. за формование пленок методом горячего прессования.

Наполненные ацилированным производным хитозана микроволокнистые материалы на основе полилактида были изготовлены в ПМГМУ им. И.М. Сеченова из смеси Х350-ОЛ-К и полилактида в соотношении 9.5/0.5 масс.% в дихлорметане с использованием технологии электроформования на лабораторной установке, оснащенной высоковольтным источником питания (ВИДН-30, «ОСТ», Россия). Автор благодарит м.н.с. ПМГМУ им. И.М. Сеченова Курьянову А.С. за помощь в формовании нетканого материала.

2.3.5 Эмульсии масло/вода и полимерные микрочастицы

Прямые эмульсии масло/вода были получены при помощи добавления подсолнечного масла к 1% растворам образцов немодифицированного хитозана и его гидрофобизированных производных в водном растворе 2% CH₃COOH в соотношении 1:10 с последующим перемешиванием фаз на магнитной мешалке в течение 5 минут.

Полимерные микрочастицы на основе полилактида формовали при помощи метода испарения растворителя из эмульсии масло/вода (рисунок 2.3.5.1) [120]. Образцы немодифицированного хитозана с разными СД и ММ, а также их гидрофобизированные производные использовали в качестве эмульгаторов в дисперсионной среде (1% растворы в 2% CH₃COOH), дисперсная фаза состояла из 6 масс.% раствора поли(L,L-лактида) в смеси растворителей (C₃H₆O/CH₂Cl₂ в соотношении 1:9). Смешение фаз проводили с использованием четырехлопастной пропеллерной мешалки IKA (модель R50D) со скоростью вращения 500 об/мин в течение 3 часов до полного испарения растворителей из системы. Дисперсную среду, после добавления в нее раствора полилактида, выдерживали в водяной бане («Labtex», Россия) при 15°C в течение первых 15 мин, затем температуру повышали до 30°C на оставшееся время для испарения растворителя из масляной фазы в течение не менее 3 часов. После выпаривания смеси органических растворителей полученные микрочастицы последовательно фракционировали на ситах с размерами 400, 315, 200 и 100 мкм, несколько раз промывали дистиллированной водой, замораживали и сушили лиофильно.



Рисунок 2.3.5.1 – Схема получения микрочастиц методом испарения растворителя из эмульсии по типу масло/вода

Выход микрочастиц в масс.% и их распределение по размерам рассчитывались на основе гравиметрического анализа, принимая за 100% массу полилактида, растворенного в дисперсной фазе, а средний размер микрочастиц рассчитывался при помощи анализа оптических микрофотографий.

2.3.6 Трехмерные структуры на основе полимерных микрочастиц

Трехмерные структуры на основе полимерных микрочастиц из полилактида, стабилизированных образцами немодифицированного хитозана и их гидрофобизированных производных получены при помощи метода аддитивных технологий - ПСЛС, который наравне с селективным лазерным спеканием (СЛС) в последние годы становятся все более актуальными в различных областях науки и промышленности. Эти методы позволяют создавать трехмерные структуры из мелкодисперсных порошков полимеров, что открывает новые горизонты в производстве и дизайне материалов. Данные методы основаны на послойном спекании микрочастиц путем их лазерного нагрева и плавления. Однако, принципиальным отличием ПСЛС от СЛС является наличие сенсибилизатора, например воды, которая обеспечивает им более эффективное поглощение лазерного излучения в ИК-диапазоне и более высокую температуру нагрева их поверхности по сравнению с объемом. Благодаря этому, спекание происходит за счет плавления только поверхностного слоя микрочастиц, не затрагивая их объема. Подобное, в отличие от СЛС, позволяет включать в получаемые 3D-материалы термочувствительные биологически активные вещества, что открывает перспективы применения их в биомедицине, имплантологии и тканевой инженерии [126–129].

Реализация ПСЛС микрочастиц из полилактида проводилась в лаборатории лазерной наноинженерии Института фотонных технологий Курчатовского комплекса «Кристаллография и Фотоника» м.н.с. Минаевой Е.Д. и заведующим лабораторией к.ф.-м.н. Минаевым Н.В. на оригинальной установке, в основе которой лежит одномодовый тулиевый волоконный инфракрасный лазер TLM-3 (НТО «ИРЭ-полюс») (рисунок 2.3.6.1) [121]. Установка включает в себя систему увлажнения обрабатываемого материала: вода была выбрана в качестве компонента, воспринимающего в процессе спекания лазерную энергию волоконного ИК-лазера. Длина волны самого лазера равнялась 1,9 мкм. При такой длине волны коэффициент поглощения лазерной энергии водой (≈130 см⁻¹) намного больше в сравнении с таковым для полилактида (≈0,3 см⁻¹) [121]. Увлажнение слоёв микрочастиц проводилось с использованием ультразвукового модуля ОЕМ ХАОО65 (Китай) мощностью 18 Вт, помещённого в резервуар с водой. По трубке диаметром 16 мм с соплом конце струя пара подавалась вентилятором со скоростью 10 мг/сек. Доза лазерного излучения во случаях составила 46,6 Дж/см².



Рисунок 2.3.6.1 – Фотография (а) и схема (б) установки ПСЛС, разработанной в Институте фотонных технологий: 1 – волоконный лазер, 2 –гальваносканирующая система управления лазерным излучением, 3 – системы послойного нанесения порошка, 4 – разравнивающий нож, 5 – контроллер приводов, 6 – система увлажнения обрабатываемого материала [121]

Процесс спекания микрочастиц начинался со стандартной проверки параметров лазерного излучения (скорости перемещения лазерного пятна, плотности линий, мощности лазерного излучения) для определения оптимальных режимов спекания, которые должны позволить расплавить только поверхностный слой микрочастиц, не затрагивая их объема. Слой микрочастиц толщиной 500 мкм выравнивали и облучали с использованием различных параметров лазерного пятна. Микрочастицы, покрытые немодифицированным хитозаном, были спечены с использованием полной мощности лазера (3 Вт), плотности линий 15 линий/мм и скорости перемещения лазера 50 мм/с для достижения оптимальных условий обработки. Обработка микрочастиц, покрытых производными, требовала тех же параметров, за исключением скорости лазерного излучения, которая составляла 25 мм/с для достижения наилучших результатов. Процесс проводили следующим образом: готовили один слой (высота слоя 500 мкм) микрочастиц разного фракционного состава, по заданной программе проводили обработку лазерным излучением, наносили следующих слой микрочастиц и повторяли процедуру.

2.4 Методы исследования

2.4.1 Вискозиметрический метод определения молекулярной массы

Вискозиметрический метод является одним из самых простых и доступных способов определения молекулярных масс полимеров в широком диапазоне значений. Этот косвенный метод требует установления констант в уравнении, связывающем вязкость с молекулярными массами. Для измерения вязкости раствора полимера определяют время истечения равных объемов растворителя и полимерного раствора через капилляр вискозиметра при постоянной температуре.

В работе растворы с исходной концентрацией 0.5 г/дл готовили растворением навески порошка хитозана в ацетатном буфере (0.33 М CH₃COOH + 0.2 М CH₃COONa) в течение суток. Измерения вязкости проводили при 25°C в вискозиметре Уббелоде, с диаметром капилляра равным 0.54 мм. Перед измерениями в вискозиметре растворитель и растворы фильтровали через шприцевой фильтр с размерами пор 16-40 мкм. После измерения вязкости хитозана рассчитывали ММ при помощи уравнения Марка – Куна – Хаувинка [130]:

$$[\eta] = K \times M^{\alpha}$$
, где: (1)
 $K = 1.38 \times 10^{-4}$ и $\alpha = 0.85$.

К и α - константы для данной системы полимер-растворитель при определенной температуре. Обычно величина α, определяет степень свернутости макромолекулы. Характеристическая вязкость [η] – предельное значение отношения η_{уд}/С (или ln η_{отн}/С) при бесконечно малой концентрации раствора. Она определяется путем графической экстраполяции значений η_{уд}/С (или ln η_{отн}/С) к нулевой концентрации.

2.4.2 Потенциометрическое титрование

Метод, основанный на потенциометрическом титровании хлористого водорода, связанного с аминогруппами в макромолекулах хитозана. Определение проводили при помощи иономера Экотест-120 (НПП «Инфраспак-Аналит», Россия) с комбинированным электродом. Точность измерения pH составляет ± 0.1. Перед началом работы прибор калибровался по стандартным буферным растворам.

Навеска хитозана массой 0.2 г, определенная с точностью 0.0002 г, растворялась в 20 мл 0.1 М раствора соляной кислоты на магнитной мешалке в течение 2 часов. Титрование полученного раствора проводили при постоянном перемешивании, добавляя порциями 0.1 М раствор NaOH и фиксируя объем титранта и pH. На основе данных строилась кривая потенциометрического титрования. Разность объемов второго и первого перегибов на кривой использовалась для определения объема щелочи, затраченной на титрование кислоты, связанной с аминогруппами хитозана.

Расчет СД хитозана осуществляли по формуле [131]:

$$C \square = \frac{203 \times m}{G + 42 \times m} \times 100\%$$
, где: (2)

m – число молей аминосодержащих звеньев в навеске хитозана ($m = V \times T$); V – объем раствора NaOH, соответствующий нейтрализации протонированной формы аминогрупп хитозана, мл;

Т – титр раствора NaOH в моль/мл, определяемый в холостом титровании 0.1 М раствора HCl; *G* – навеска хитозана, г.

Погрешность измерения степени деацетилирования составляла ±2,5%.

2.4.3 Фракционирование продуктов механохимического модифицирования

Сразу после получения продукты механохимического со-экструдирования хитозана как с алкилглицилиловыми эфирами, так с олиголактилом И коллагеном очишали от непрореагировавших фрагментов в ацетоне с последующим фракционированием в кислой среде. Для этого навеску образца ~1 г погружали в 75 мл 2% CH₃COOH. После перемешивания в течение 24 часов растворимые фракции отделяли от нерастворимых путем центрифугирования при 9500 об/мин в течение 30 мин. Нерастворимые фракции алкилированных продуктов (обозначенные «н») собирались после центрифугирования и фильтрации, промывались дистиллированной водой до достижения нейтрального рН, сушились лиофильно и взвешивались на аналитических весах с погрешностью 0.0001 г. Растворимые фракции (обозначенные «р» в качестве суффикса) осаждались 1M NaOH, затем отделялись центрифугированием, промывались водой до нейтрального pH, сушились лиофильно и взвешивались.

Фракционирование ацилированного производного Х350-ОЛ-К в хлорсодержащем растворителе было проведено следующим образом: образец (~1 г) растворялся в 50 мл CH₂Cl₂ при постоянном перемешивании на магнитной мешалке в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем раствор был оставлен в неподвижном состоянии на 48 ч, после чего отобраны стабильные коллоидные фракции. Цикл повторялся несколько раз с новой порцией органического растворителя до достижения оптической прозрачности раствора. Стабильные фракции, отобранные на протяжении всех циклов, а также оставшаяся часть сополимера, сушились под вакуумом и измерялись.

2.4.4 ИК-спектроскопия

В качестве одного из основных методов структурного анализа продуктов реакционного смешения использовалась инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье — метод анализа, который широко используется для изучения структуры отдельных молекул и состава молекулярных смесей. Для изучения образца в ИК-Фурье спектроскопии используется модулированное излучение среднего инфракрасного диапазона, которое поглощается на определенных частотах, связанных с колебательными энергиями связей функциональных групп, присутствующих в молекуле. В результате образуется характерный рисунок полос - колебательный спектр молекул. Положение и интенсивность этих спектральных полос уникальным образом характеризует молекулярную структуру вещества.

ИК-анализ исходных компонентов и алкилглицидиловых эфиров проводили с помощью спектрофотометра Bruker Vertex 70 (США). Все спектры были первоначально собраны в режиме НПВО с разрешением 4 см⁻¹ с использованием НПВО Gladi с моноотражением НПВО (Pike Technologies, Мэдисон, Висконсин, США). Полученные спектры НПВО были переведены в режим ИК-поглощения. Спектры, представленные в данной работе, регистрировались и обрабатывались с помощью набора программ Bruker Opus (версия 6.1).

ИК-анализ исходных компонентов и ацилированного производного проводили с помощью спектрофотометра Spectrum Two FT-IR Spectrometer (PerkinElmer, CША) в режиме МНПВО. Этот спектрометр включает в себя высокопроизводительный детектор LiTaO₃ MIR, работающий при комнатной температуре, и стандартную оптическую систему с окнами KBr для сбора данных в спектральном диапазоне 8300-350 см⁻¹ при разрешении 0.5 см⁻¹. Спектры первоначально собраны в режиме ATR и преобразованы в режим ИК-пропускания [97]. Все спектры нормировались с использованием составной полосы валентных колебаний С – О пиранозного цикла при 1075 см⁻¹ в качестве стандарта. Автор благодарит за проведение ИК-анализа с.н.с. ПМГМУ им. И.М. Сеченова к.х.н. Аксенову Н.А.

Химическая структура хитозана и распределение основных полос полисахарида приведены на рисунке 2.2.4.1 и в таблице 2.4.4.1. Распределение полос было выполнено в соответствии с [132–135].



Рисунок 2.4.4.1 – Химическая структура хитозана

Волновое число, см - 1	ло, см ⁻¹ Интерпретация [132–135]	
3480	3480 vOH в водородных связях групп (C6) H2OH	
3450	vOH в водородных связях между атомами O3 и O2	
3370	vHH асимметричный	
3295	vNH симметричный	
3265	vNH (полоса Amid II)	
3100	комбинированный диапазон vNH	
2950	vCH ₃ асимметричный	
2930	vCH ₂ асимметричный	
2890–2880	vCH3,vCH2 симметричный,vCH в ринге	
3000–2840	vCH в алкильных заместителях	
1660	vC = O (полоса амид I) в водородных связях C = O HN	
1630	vC = O (полоса амид I) в водородных связях с O3	
1600	δΝΗ2	
1560	δNH (полоса Amid II),vCN	
1475–1450	δCH2 в алкильных заместителях	
1470–1430	δCH3 в алкильных заместителях	
1430–1420	δСН,δСН2,δСН3 в хитине и хитозане	
1395–1365	δCH3 в алкильных заместителях	
1390	νCH, δCH симметричный	
1380	δСН3 симметричный	
1375	νCN, δCH2	
1320	δNH, δCH2 симметричный	
1310	δNH (полоса Amid III),δCH2 симметричный	
1260-1200	в группах (СЗ) НОН	
1155	vCO асимметричный ацетальной связи	
1110	vKO несимметричный в кольце	
1070–1030	vCO в кольце, в группах (C3) НОН и (C6) Н2ОН	
975	C-CH3	
895	νКО асимметричный, δСН	
770–720	δCH2 в алкильных заместителях	

Таблица 2.4.4.1 – Интерпретация ИК-спектров

2.4.5 Элементный анализ

Элементный анализ, основанный на предварительном разложении образца в атмосфере кислорода до конечных продуктов, позволяет установить состав полимера. При сжигании образца, состоящего из атомов углерода, водорода и кислорода, образуются только CO₂ и H₂O. Однако в случае присутствия других атомов, таких как азот, в продуктах сгорания могут

появляться оксиды азота. Таким образом, элементный анализ дает возможность определить содержание различных атомов в образце и рассчитать соотношение звеньев в сополимерах на основе их относительного содержания [136].

Содержание углерода, азота и водорода в полученных продуктах со-экструдирования определяли с помощью анализатора органических элементов FLASH-2000 (Thermo Fisher Scientific, Лафборо, Великобритания).

C3 синтезированных алкилированных производных хитозана рассчитывали по данным элементного анализа на основе разницы в молярных соотношениях C/N в продукте и в исходном хитозане, отнесенных к числу атомов углерода в заместителе.

2.4.6 Определение степени прививки

Процентное содержание олиголактида, связанного с хитозаном, рассчитывали по разнице в массе, наблюдаемой между ацилированным производным после его очистки ацетоном и олиголактидом, первоначально взятым для синтеза. Очистку образца проводили следующим образом: образец (около 0,7 г) диспергировали в 25 мл ацетона в течение 2 ч при комнатной температуре и перемешивании на лабораторной магнитной мешалке. После растворения непрореагировавшего олиголактида нерастворимую фракцию собирали фильтрованием, несколько раз промывали на бумажных фильтрах ацетоном и сушили в вакуумной печи (Labtex, Россия).

Степень прививки рассчитывали, как:

$$\%_{\text{прив.}} = \frac{m_c - m_x}{m_0} \times 100\%$$
, где: (3)

m_c - масса продукта после очистки от непрореагировавшего олиголактида,

m_x – масса хитозана в образце;

m_о - масса олиголактида первоначально взятого для синтеза.

2.4.7 Динамическое лазерное светорассеяние

В методе динамического лазерного светорассеяния (ДЛС) источником когерентного монохроматического излучения является лазерный диод с длиной волны 780 нм. Рассеяние излучения частицами фиксируется под различными углами с помощью высокочувствительного многоэлементного кремниевого детектора — фотодиодной матрицы. При рассеянии происходит изменение частоты излучения из-за движения частиц, что соответствует эффекту Доплера. Далее проводится расчет автокорреляционной функции для опорного и рассеянного сигналов. С использованием обратного преобразования Фурье получают интенсивности рассеянного

излучения, которые пропорциональны размерам частиц. Конструктивно анализатор состоит из одного блока, включающего оптико-аналитическую систему и измерительную кювету.

Измерения методом ДЛС 0.2 масс.% растворов исходного хитозана и растворимых фракций всех используемых полимеров в 2% CH₃COOH, а также ацилированного производного в дихлорметане проводили с помощью анализатора размера частиц Zetatrac (Microtrac, Inc., Montgomeryville and York, CША) с использованием ПО Microtrac V 10.5.3 (таблица 2.4.7.1.). Растворы перед анализом фильтровали через шприц-фильтр 0,45 мкм (Carl Roth, Karlsruhe, Германия).

2.4.8 УФ-спектроскопия

УФ-спектроскопия – спектральный метод анализа, при помощи которого изучают электронную структуру молекул и связь ее с типом первичной (химической) структуры, а также стереохимические особенности сопряженных систем.

Спектры поглощения (кривые зависимости оптической плотности от длины волны λ) пленок на основе хитозана и его ацилированного производного до и после термообработки регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV 2501 PC (Shimadzu, Япония). Автор благодарит н.с. лаборатории функциональных материалов для органической электроники и фотоники ИСПМ РАН Свидченко Е.А. за проведение исследования.

2.4.9 Метод определения потери массы пленок

Потери массы пленок на основе хитозана и его ацилированного производного после их перевода в нерастворимую форму и отмывки от несшитых фрагментов происходят за счет испарения лишней влаги, а также изменении внутренней структуры образцов.

Методика определения потери массы заключается в следующем:

- предварительно подготавливали и взвешивали чистую и сухую чашку Петри, на которую помещали образец материала;
- взвешивали чашку Петри вместе с самим образцом и вычисляли его массу путем вычитания из полученного значения массы пустой чашки Петри;
- образец нагревали в термошкафу (для преобразования в нерастворимую форму) и взвешивали, а затем промывали дистиллированной водой (для очистки от несшитых фрагментов) и сушили лиофильно в течение определенного времени, по истечение которого образец вновь взвешивали;

4) потерю в массе пленок после нагрева рассчитывали по формуле:

$$L_{\text{нагрев}} = \frac{W_i - W_h}{W_i} \times 100\%$$
, где: (4)

 $W_i W_h$ – масса губок до и после нагрева, соответственно.

5) потерю в массе пленок после очистки от несшитых фрагментов рассчитывали по формуле:

$$L_{\text{очистка}} = \frac{W_h - W_p}{W_h} \times 100\%, \, \text{где:}$$
(5)

 $W_h W_p$ - масса губок после нагрева и после очистки, соответственно.

Эксперимент проводили в 3-5 повторах, данные рассчитывали, как среднее плюс/минус стандартное отклонение.

2.4.10 Весовой метод исследования набухания пленок

Исследование степени набухания пленок на основе хитозана и его ацилированного производного проводили при помощи весового метода следующим образом: образцы инкубировали в дистиллированной воде в течение 3 часов, после чего избыток воды удаляли, а образцы взвешивали.

Степень набухания α (%) рассчитывали по формуле:

$$\alpha = \frac{m - m_o}{m_o} \times 100\%$$
, где: (6)

т – навеска полимера после набухания/влагопоглощения;

m₀ – навеска полимера до набухания/влагопоглощения.

Эксперимент проводили в 3-5 повторах, данные рассчитывали, как среднее плюс/минус стандартное отклонение.

2.4.11 Механические испытания

Физико-механические характеристики пленок исследовались путем приложения нагрузки до разрушения образцов. Перед испытаниями пленки, изготовленные из растворимых фракций хитозана и его производных, выдерживались в эксикаторе с влажностью 81% над насыщенным раствором (NH₄)₂SO₄ в течение недели. Механические исследования образцов данных пленок в виде полосок шириной 10 мм и толщиной 4,2 мм проводили на универсальной испытательной машине AGS-H (Shimadzu, Япония) при скорости 5 мм/мин в соответствии с рекомендациями ASTM D3039 / D3039M-08 «Стандартный метод испытаний свойств при растяжении композиционных материалов с полимерной матрицей». Механические характеристики пленок: прочность на разрыв, модуль упругости и удлинение при разрыве, были рассчитаны как среднее значение пяти измерений образца пленки с учетом его толщины с использованием программного обеспечения прибора. Автор благодарит к.х.н., с.н.с. лаборатории структуры полимерных материалов ИСПМ РАН Гончарук Г.П. за помощь в проведении экспериментов.

Исследование деформационно-прочностных свойств наполненных пленок на основе ПЭНД проводили на универсальной разрывной машине Hounsfield H1K-S (Великобритания). Пленки толщиной 100–120 мкм были одноосно деформированы на воздухе при комнатной температуре (20-22 °C, относительная влажность около 50%) при скорости растяжения 5 мм/мин. Были построены зависимости напряжения (σ , МПа) от степени деформации (ε ,%), из которых определяли предел прочности при растяжении (σ_p , МПа) и разрывное удлинение (ε_p , %). Полученные значения механических параметров усредняли, относительная погрешность их величин не превышала 10-15%. Автор благодарит м.н.с. лаборатории структуры полимерных материалов ИСПМ РАН к.х.н. Мягкову К.З. за помощь в проведении исследования.

2.4.12 Дифференциальная сканирующая калориметрия и термогравиметрический анализ

Метод динамической сканирующей калориметрии (ДСК) позволяет получать количественную информацию о величине тепловых эффектов, связанных с химическими и фазовыми переходами в системе, и с высокой точностью определять зависимость теплоёмкости системы от температуры. В ДСК тепло определяется через тепловой поток, который является производной тепла во времени. Тепловые потоки измеряются по разнице температур в двух точках измерительной системы одновременно.

Термогравиметрия (ТГА) представляет собой метод исследования, основанный на регистрации изменения массы образца в зависимости от температуры в условиях программируемого изменения температуры. ТГ-анализ широко используется для определения температуры деградации полимеров, влажности материалов, содержания органических и неорганических компонентов, а также для выявления точки разложения взрывчатых веществ и сухого остатка растворенных веществ.

Термогравиметрический анализ и дифференциальную сканирующую калориметрию исходных образцов для формования полиэтиленовых пленок и полученных после их смешения образцов проводили на приборе синхронного термического анализа STA 449 F3 фирмы NETSCH. Измерения проводили в герметичных тиглях (Al₂O₃) при скорости нагревания 10 град/мин в диапазоне температур 40–700 °C в атмосфере воздуха при скорости потока 30 мл/мин. Массу образцов в разных экспериментах варьировали от 6 до 9 мг. Для взвешивания использовали систему термонановесов прибора. Процесс был описан через температурную зависимость тепловых эффектов с погрешностями измерения $\pm 1,5$ °C и $\pm 2\%$, соответственно. Автор

благодарит с.н.с. лаборатории структуры полимерных материалов ИСПМ РАН Кучкину И.О. за помощь в проведении исследования.

2.4.13 Показатель текучести расплава

Показатель текучести расплава (ПТР) полиэтилена отражает его вязкость. Этот показатель определяет количество полиэтилена, которое может быть выдавлено через тонкий капилляр за десять минут при заданном давлении и температуре. Чем выше этот показатель, тем менее вязким и более текучим является полиэтилен, что имеет значение при выборе способа его переработки.

В работе ПТР определяли по стандартной процедуре на автоматическом капиллярном вискозиметре ИИРТ-5М при температуре 190 °C для ПЭНД при нагрузке 2,16 кг.

Вычисления проводили по формуле:

$$\Pi TP = (m_{cp.} \times \tau_o) / \tau, \, \Gamma дe:$$
(7)

τ_о –стандартное время испытаний для полиолефина;

т – время истечения расплава в эксперименте;

тер. – средняя масса из пяти измерений.

2.4.14 Реологические исследования

Реологические свойства наполненных пленок из полиэтилена исследовали на реометре MCR 92 (Anton Paar) во вращательном режиме с использованием измерительной системы плоскость-плоскость PP-25 диаметром 25 мм при температуре T=195°C. Автор благодарит к.х.н., с.н.с. лаборатории термостойких термопластов ИСПМ РАН Пискарева М.С. за помощь в проведении исследования.

2.4.15 Оптическая микроскопия

Оптическая микроскопия – общее название методов наблюдения объектов с использованием оптического микроскопа — типа микроскопа, который использует видимый свет и систему линз для увеличения изображений небольших объектов.

Исследования материалов в работе проводились при помощи оптических микроскопов, работающих как в световом, так и во флуоресцентном режимах.

Диспергирование алкилированного хитозана в полиэтиленовых пленках исследовали при помощи оптического микроскопа Leica (Leica Microsystems, Германия).

Пленки на основе растворимых фракций полимеров, эмульсий масло/вода, а также процесс формования микрочастиц и получение их микрофотографий для последующего анализа с целью расчёта среднего размера проводили с помощью оптического микроскопа Levenhuk D320 L (Levenhuk, Россия). Образцы помещали на приборное стекло и фиксировали изображения на компьютере с программным обеспечением S-eye.

Флуоресцентный анализ микроволокнистых наполненных материалов и поверхности микрочастиц был произведен при помощи методики флуоресцентного мечения: образцы были инкубированы в 1 мл 0.09 М боратного буферного раствора (pH 8.3), содержащего 10 мкл 0.2 масс.% раствора флуоресцентного красителя, способного к селективному взаимодействию с аминогруппами – флуоресцеин изотиоционата (Sigma-Aldrich), в диметилсульфоксиде при комнатной температуре в темноте в течение 24 ч. После чего образцы извлекали, тщательно промывали дистиллированной водой и исследовали с помощью микроскопа Leica DFC450C (Leica Microsystems, Германия) во флуоресцентном режиме.

2.4.16 Стабильность эмульсий и механизм их разрушения

Исследование стабильности эмульсий масло/вода производили при помощи визуальной оценки скорости разделения фаз во времени, а также по изменению их мутности, поскольку последняя зависит от концентрации и размера ее капель. Для этого все образцы эмульсий масло/вода помещали в лабораторные пробирки на ³⁄4 их объема (~10 мл) и оставляли в состоянии покоя на 48 часов, периодически делая их фотографии, которые впоследствии анализировали и строили график в MS Excel, отражающий расслоение фаз эмульсий (отделение масляной фазы в %) во времени.

Для определения механизма разрушения эмульсий масло/вода (флокуляция, коалесценция, расслоение (седиментация) и созревание Оствальда) определяли форму разделения фаз в слое как под оптическим микроскопом, так и визуально в пробирках.

2.4.17 Сканирующая электронная микроскопия

Метод сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) основан на зондировании поверхности образца электронным пучком. Этот метод включает облучение поверхности образца тонко сфокусированным пучком электронов, который перемещается по линии, вдоль которой исследуется выбранный участок поверхности.

Исследование морфологии поверхности пленок из растворимых фракций полимеров и сферических микрочастиц, а также их внутренней структуры до и после ПСЛС, проводили с

помощью сканирующей электронной микроскопии при ускоряющем напряжении 10-15 кВ на микроскопе PhenomProX (Thermo Fisher Scientific, США) в лаборатории лазерной наноинженерии Института фотонных технологий Курчатовского комплекса «Кристаллография и Фотоника» Минаевой Е.Д. Поперечные срезы микрочастиц для исследования внутренней структуры получали после их заливки UHU Plus Endfest 300 (UHU GmbH & Co. KG, Баден, Германия) и резкой полученных образцов на ультрамикротоме Leica EM UC7 (Leica Microsystems, Вецлар, Германия).

2.4.18 Определение насыпной плотности микрочастиц

Насыпная плотность – это отношение массы микрочастиц при их свободной насыпке к занимаемому ими объёму. Насыпная плотность является одним из важных параметров микрочастиц для их последующего спекания, который зависит от плотности исходного материала микрочастиц, их размера и формы, гранулометрического состава, а также свойств их поверхности.

Насыпную плотность микрочастиц определяли при помощи насыпки их в калибровочную пробирку по формуле:

$$\rho_{\rm H} = \frac{m}{V},$$
где: (8)

т – масса микрочастиц;

V – заполненный микрочастицами объем.

2.4.19 Определение удельной поверхности микрочастиц и их сорбционной способности

Удельную поверхность микрочастиц определяли следующим образом:

1) Путем анализа микрофотографий рассчитывали средний размер микрочастиц.

2) Предполагая, что общее количество микрочастиц равняется отношению общей массы микрочастиц к массе одной микрочастицы, вычисляемой с использованием среднего размера микрочастиц d_{cp} , плотности полилактида ρ (\approx 1,24 г/см³) и плотности хитозана (\approx 3,91 г/см³), рассчитывали удельную поверхность микрочастиц по следующей формуле:

$$S_{\rm yg} = \frac{6}{\rho \times d_{\rm cp}} \tag{9}$$

Сорбционную способность микрочастиц оценивали по следующей методике:

Навеску микрочастиц предварительно высушивали в эксикаторе над P₂O₅ до достижения постоянной массы.

2) Высушенные образцы выдерживали в эксикаторе над насыщенным водным раствором сернокислого аммония (NH₄)₂SO₄ в течение нескольких суток и периодически взвешивали микрочастицы. Исследование проводили до тех пор, пока масса микрочастиц не стабилизировалась.

3) Рассчитывали сорбционную способность по следующей формуле:

$$\Gamma = \frac{m - m_{\text{исх}}}{S_{\text{уд}}},$$
 где: (10)

m – масса микрочастиц после сорбции; $m_{\rm исx}$ – масса микрочастиц после сушки; $S_{\rm yg}$ – удельная поверхность микрочастиц.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Механохимический синтез гидрофобизированных производных хитозана 3.1.1 Алкилированные производные

Первое направление работы связано с исследованием возможностей механохимического синтеза в двухшнековом экструдере при алкилировании хитозана глицидиловыми эфирами докозана и гексадекана, различающимися длиной основной цепи. Литературный обзор продемонстрировал, что модификация полимеров с использованием жидкофазных технологий включает несколько стадий, которые требуют применения токсичных реагентов, что значительно усложняет их использование в промышленности и научных исследованиях. В данной работе исследуется возможность использования альтернативного подхода к синтезу алкилированных производных хитозана, заключающаяся в проведении реакций между хитозаном и алкилглицидиловыми эфирами в твердофазном состоянии, что позволяет избежать использования токсичных растворителей и катализаторов. Этот метод не только снижает экологическую нагрузку, но и упрощает процесс получения конечных продуктов. Таким образом, задача заключается в оценке эффективности реакции алкилирования функциональных групп полисахарида при взаимодействии с 2-[(гексадецилокси)-метил]-оксираном и [(докозилокси)-метил]-оксираном в условиях механохимического синтеза (схемы предполагаемого процесса представлены на рисунке 3.1.1.1).



Рисунок 3.1.1.1 – Схемы взаимодействия хитозана с 2-[(гексадецилокси)-метил]-оксираном (а) и [(докозилокси)-метил]-оксираном (b)

Раскрытие эпоксидного кольца в глицидиловых эфирах при взаимодействии с аминами происходит в соответствии с правилом Красуского, которое гласит, что при открытии

оксиранового кольца гидроксильная группа образуется у наименее гидрогенизированного атома углерода, то есть на том, который несет меньший заместитель. В процессе реакции нуклеофильный реагент, в данном случае амин, атакует крайний углеродный атом оксиранового кольца, который характеризуется большим дефицитом электронной плотности, что делает его более уязвимым для нуклеофильной атаки. Следовательно, амин, как нуклеофил, может легко присоединиться к этому углероду, что приводит к разрыву эпоксидного кольца и образованию нового соединения [137]:

$$\mathbf{R} - \mathbf{O} - \mathbf{CH}_{2} - \mathbf{CH} - \mathbf{CH}_{2} , \ \delta'^{+} > \delta^{+}$$

Последний подвергается влиянию электронных эффектов со стороны двух соседних групп и поэтому δ+ частично погашается. Детальный механизм данной реакции приведен на рисунке 3.1.1.2.



Рисунок 3.1.1.2 – Детальный механизм реакции взаимодействия аминогрупп хитозана с алкилглицидиловыми эфирами

После проведенной механохимической обработки компонентов, все полученные продукты были очищены от непрореагировавших компонентов ацетоном. Далее в качестве первого этапа подтверждения успешной прививки гидрофобных фрагментов на хитозан образцы расфракционировали в водном растворе уксусной кислоты. Немодифицированные образцы хитозана легко растворялись в 2% СН₃СООН (таблица 3.1.1.1). Прививка гидрофобных
фрагментов привела к снижению их растворимости по сравнению с образцами немодифицированного хитозана.

Таблица	3.1.1.1 -	Результаты	оценки	растворимости	образцов	хитозана	и их	производных	В
2% CH ₃ C	СООН								

	Нерастворимая часть,	Растворимая часть,	MM*,	СД*,
Ооразец	масс. %	масс. %	кДа	%
X80	6	94	80	87
X140	8	92	140	93
X350	5	95	350	80
X80-C16-3	24	76	-	-
X140-C22-3	25	75	-	-
X140-C22-10	43	57	-	_
X350-C16-5	28	72	-	-

*по данным вискозиметрии и потенциометрического титрования.

В результате определения C3 синтезированных производных (таблица 3.1.1.2), было выявлено, что для растворимых фракций продуктов она варьировалась от 0.006 до 0.016, что соответствует 5-12 заместителям на макромолекулу хитозана со степенью полимеризации 500-2000. По результатам фракционирования установлено, что значительная часть продуктов (20-30 масс.%) теряет способность к растворению в кислых водных средах, что, очевидно, связано с достаточно большой длиной алкильных заместителей. СЗ в таких фракциях закономерно выше – от 0.085 до 0.19 [138].

Образец	% C	%Н	%N	C/N	C3*, %
X350	43.74±0.14	6.79±0.11	7.82 ± 0.02	6.53	-
X80	43.62±0.12	6.67±0.12	7.93 ± 0.02	6.42	-
X140	43.03±0.21	6.82 ± 0.04	8.17±0.03	6.23	-
X80-C16-3(p)	40.85±0.10	7.85 ± 0.08	7.21±0.01	6.61	0.012
Х80-С16-З(н)	43.56±0.01	7.05 ± 0.01	5.33±0.01	9.53	0.19
X350-C16-5(p)	40.85±0.10	7.70±0.10	7.20±0.01	6.62	0.006
Х350-С16-5(н)	43.56±0.01	7.05 ± 0.01	5.32±0.01	9.55	0.19
X140-C22-3(p)	40.72±0.09	7.30±0.10	7.21±0.02	6.59	-
Х140-С22-З(н)	45.90±0.10	8.31±0.08	5.6±0.01	9.56	0.085
X140-C22-10(p)	40.72±0.09	7.30±0.10	7.21±0.02	6.59	0.016
Х140-С22-10(н)	45.90±0.10	8.31±0.08	5.6±0.01	9.56	0.15

Таблица 3.1.1.2 – Результаты элементного анализа

*разность мольных соотношений углерода и азота в продукте и в исходном хитозане, отнесенная к числу атомов углерода в заместителе; p – растворимые фракции; н – нерастворимые фракции.

Полученные результаты свидетельствуют также о существенно большей реакционной способности алкилирующего реагента с меньшей длиной углеродной цепи под механическим воздействием. Так, при содержании глицидилового эфира докозана 3 масс.% в реакционных смесях, растворимая в водной среде фракция не содержала алкильных заместителей вовсе, а их

содержание в нерастворимой фракции не превышало 5-6 заместителей (C3 0.085) на макромолекулу хитозана [138].

Методом ИК-спектроскопии были получены спектры исходных реагентов алкилирования, непрореагировавшего модификатора и продуктов реакции. На рисунке 3.1.1.3 приведены ИКспектры исходных алкилирующих реагентов и непрореагировавшего модификатора, экстрагированного из образца X140-C22-10 ацетоном. Все приведенные спектры содержат интенсивный дублет полос асимметричных и симметричных валентных колебаний метиленовых групп алкильной цепи при 2916 и 2848 см⁻¹, соответственно, а также соответствующие полосы их деформационных колебаний в низкочастотной области спектра. Дублет деформационных колебаний алкильных групп модификатора C16 при 1472 и 1462 см⁻¹ представляет собой огибающую полосу из-за большего вклада групп –C(H)– и –CH₃ в относительно короткой алкильной цепи. Полосы валентных колебаний –С–О– связей глицидильной группы присутствуют в спектрах при 1120 и 907 см⁻¹. Спектр непрореагировавшего модификатора содержит следы ацетона (не более 1-2%), в остальном он свидетельствует о незначительном вкладе побочной реакции гидролиза глицидиловой группы в ходе механохимической обработки [138].



Рисунок 3.1.1.3 – ИК-спектры (снизу вверх): исходные реагенты C16, C22 и непрореагировавший C22

Спектры образцов исходного хитозана (X80 и X140) и водорастворимой фракции X80-C16-3(p), представлены на рисунке 3.1.1.4. Высокочастотная область спектра (3700–2500 см⁻¹) включает в себя широкую полосу валентных колебаний H – О групп, дублет перекрывающихся полос H–C групп (с максимумом 2871 см⁻¹), а также дублет полос асимметричных и симметричных валентных колебаний NH₂-групп, которые проявляются в спектре в виде слабых полос при 3361 и 3294 см⁻¹ на фоне полосы валентных колебаний гидроксильных групп [138].

В спектрах исходных образцов хитозана (X80 и X140) относительная интенсивность полос дублета деформационных колебаний NH₂-групп при 1590 см⁻¹ и валентных колебаний C = O в амидной группе (Амид I) при 1650 см⁻¹ указывают на меньшую степень ацетилирования, что согласуется с полученными данными потенциометрического титрования [138].



Рисунок 3.1.1.4 – ИК-спектры образцов (снизу вверх): хитозан X140; хитозан X80; фракция X80-C16-3(р)

На рисунке 3.1.1.5 представлены спектры немодифицированного высокомолекулярного хитозана X350 и растворимой и нерастворимой фракции его производного (X350-C16-5(н) и X350-C16-5(р), соответственно), а на рисунке 3.1.1.6 - спектры нерастворимых фракции производных низкомолекулярных хитозанов X80-C16-3(н), X140-C22-10(н) [138].



Рисунок 3.1.1.5 – ИК-спектры образцов (снизу вверх): хитозан X350; фракция X350-C16-5(р); фракция X350-C16-5(н)



Рисунок 3.1.1.6 – ИК-спектры образцов, нерастворимых в кислой водной среде: фракция X80-С16-3(н) (внизу); фракция X140-С22-10(н) (вверху)

76

В высокочастотной области спектра (3700–2500 см⁻¹) спектры водорастворимых фракций (рис.3.1.1.4 – 3.1.1.6) содержат дополнительную полосу поглощения (в виде плеча) валентных колебаний метиленовых групп при 2915 см⁻¹, который относится к алкильным заместителям в структуре хитозана. В спектрах нерастворимых фракций образцов также присутствует дополнительная полоса поглощения валентных колебаний метиленовых групп, которая проявляется при 2918–2921 см⁻¹ (рис. 3.1.1.5 и 3.1.1.6). Более того, эти полосы проявлены намного лучше. Интенсивный дублет полос асимметричных и симметричных валентных колебаний метиленовых групп алкильной цепи при 2918 и 2850 см⁻¹ присутствующих в спектрах нерастворимых фракций образцов хитозана X80 (рис. 3.1.1.4), практически повторяет форму и интенсивность полос поглощения в исходных реагентах. Все вышесказанное указывает на более высокое содержание функциональных групп хитозана по алкильным заместителям в этих фракциях. Данные элементного анализа также подтвердили это наблюдение (см. Таблицу 3.1.1.2, доли «н» против «р»). Причем СЗ нерастворимых фракций примерно одинакова во всех образцах, несмотря на большую разницу в содержании модификаторов в исходных смесях [138].

Поглощение в области 1650–1500 см⁻¹ определяется величиной δNH₂. Из спектров видно, что CA у коммерческого образца X350, представленного на рисунке 3.1.1.6, выше, чем у образцов хитозана, полученных механохимическим деацетилированием. Изменение относительной интенсивности полос деформационных колебаний групп NH₂ за счет реакции алкилирования практически незаметно, так как для вторичных аминов эта полоса (в области 1600–1500 см⁻¹) обычно слабая. Кроме того, одновременное присутствие групп OH в молекулах амина затрудняет идентификацию полос поглощения аминогруппы. В то же время, детальное изучение этой области в ИК-спектрах образцов на основе относительно низкомолекулярного хитозана (рис.3.1.1.6) показывает наличие интенсивной полосы при 1557 см⁻¹, которую следует отнести к поглощению вторичного амина. Эта полоса значительно смещена в сторону более низких частот из-за присутствия рядом с ней гидроксильной группы в структуре продуктов. В спектрах исходного хитозана эта полоса выражена слабо и относится к колебаниям связей δNH и vCN в амидной группе (Амид-II) [138].

Из анализа ИК-спектров можно сделать следующие выводы:

1. Модификатор практически не подвергается побочной реакции гидролиза глицидильной группы в ходе механохимической обработки, как свидетельствует спектр образца, полученного экстрагированием непрореагировавших низкомолекулярных веществ.

2. Длина углеродной цепи алкильного заместителя существенно влияет на его реакционную способность в выбранных условиях механохимического синтеза. Так, C3 образцов практически одинакова при содержании в исходных смесях модификатора C22 10% и модификатора C16 3%.

77

3. Гидрофобные заместители в структуре полученных образцов приводят к потере растворимости в водных средах, и СЗ в них достаточно высока. Так, полосы поглощения алкильных заместителей и вторичного амина хорошо разрешены в спектрах нерастворимых фракций образцов.

Влияние введения алкильных заместителей в структуру хитозана на его поведение в растворе оценивалось с помощью ДЛС. В случае хитозана, из-за его полиэлектролитной природы, свойства водных растворов сильно зависят от молекулярных характеристик исходного полимера, таких как ММ и СД [139]. Как следует из данных на рис.3.1.1.7, гидродинамический диаметр немодифицированных образцов хитозана увеличивается с увеличением их молекулярной массы. Средний размер ассоциатов X80 составлял 250 нм, тогда как для двух других образцов наблюдался средний размер ассоциатов в диапазоне 400-600 нм. Гидрофобизация макромолекул хитозана привела к увеличению гидродинамического объема, что указывает на преобладание процесса межмолекулярного связывания в водной системе. Размер макромолекулярных ассоциатов гидрофобных производных также был больше в случае использования исходного полимера с более высокой ММ, т.е. X350-C16-5(p) –> X140-C22-10(p) –> X80-C16-3(p) (pис.3.1.1.7) [138].



Размер ассоциатов, нм

Рисунок 3.1.1.7 – Среднечисловое распределение по размерам макромолекулярных ассоциатов 0.2 масс.% образцов хитозана и его алкилированных производных в водных растворах уксусной кислоты

Таким образом, в ходе работы была подтверждена эффективность механохимического подхода к алкилированию хитозана глицидиловыми эфирами разной длины. Полученные

производные в дальнейшем имеют перспективы применения для создания различных форм материалов на их основе.

3.1.2 Ацилированное производное

В качестве системы сравнения для полученных алкилированных производных и проверки возможности одновременной иммобилизации на хитозан биологически активных компонентов при помощи механохимической обработки было принято решение о синтезе ацилированного трехкомпонентного производного хитозана с биоразлагаемым полимером олиго(L,L-лактидом) и белком коллагеном. Ранее в научной литературе уже был описан успешный синтез ацилированных производных хитозана с олиго(L,L-лактидом) и олиго(L,D-лактидом) в различных соотношениях [123, 125].

После проведенного твердофазного реакционного смешения трех вышеуказанных полимеров в рамках данной работы продукт со-экструдирования был отмыт от непрореагировавших фрагментов исходных компонентов, а также была определена степень его прививки. Со-экструдированный продукт, состоит из гидрофильных и гидрофобных цепей, что придает ему амфифильные свойства, которые позволяют ему эффективно растворяться как в протонных, так и в апротонных хлорсодержащих растворителях. По сравнению с алкилированными производными, ацилированный образец демонстрировал особое поведение при растворении в традиционных олиго/полилактидных растворителях, таких как хлороформ или дихлорметан: образец не просто растворялся, а происходило его набухание, что привело к образованию ультратонких и стабильных дисперсий (рис. 3.1.2.1). Эти дисперсии могут быть использованы в дальнейшем в различных технологических процессах для создания наноматериалов.



Рисунок 3.1.2.1 – Фотография 10 масс.% дисперсии продукта со-экструдирования в CH₂Cl₂ через 3 дня после растворения

В результате расчёта степени прививки образца было выяснено, что она составляет 39.2 масс.%, что превосходит ранее полученные значения у аналогичных производных хитозана с привитыми олигоL,L- и олиго(L,D-фрагментами) [88, 123]. Подобный результат может быть объяснен использованием высокомолекулярного хитозана (ММ 350 кДа) и его высокой реакционной способностью.

Принимая во внимание функциональность всех исходных компонентов, существует несколько путей реакции прививки [95]. Наиболее вероятным вариантом служит аминолиз сложноэфирных связей олиголактида аминогруппами природных полимеров из-за их относительно большой нуклеофильности по сравнению с гидроксильными группами полисахарида (рис. 3.1.2.2).



Рисунок 3.1.2.2 – Схема реакции аминолиза сложноэфирных связей олиголактида аминогруппами хитозана

Концевые карбоксильные группы олиголактида также могут быть вовлечены в реакцию амидирования. Статистический характер всех этих реакций предопределяет широкое распределение макромолекул с точки зрения их химической структуры, такой как количество и длина привитых цепей. Последнее, несомненно, также должно оказывать влияние на растворимость продукта со-экструдирования в традиционном для хитозана растворителе – уксусной кислоте. Данные по растворимости продукта со-экструдирования после его фракционирования приведены в таблице 3.1.2.1.

Таблица 3.1.2.1 – Фракционный анализ продукта со-экструдирования и исходных компонентов в уксусной кислоте

	Водный растворитель (2% CH ₃ COOH)				
Образец					
	Растворимая фракция, масс.%	Нерастворимая фракция, масс.%			
X350	95	5			
Коллаген	100	0			
Х350-ОЛ-К	63	37			

Как видно, немодифицированный хитозан и белок легко растворялись в 2% CH₃COOH. Прививка же гидрофобных олиголактидных фрагментов привела к частичной нерастворимости

полученного продукта в кислой среде. Каждая из фракций характеризует часть макромолекул, обогащенных либо гидрофобными олиголактидными фрагментами, либо гидрофильными фрагментами биополимеров. Полученный продукт не дает истинного раствора в CH₃COOH, аналогично алкилированным производным.

Растворимость хитозана и продукта со-экструдирования в 2% CH₃COOH была более подробно проанализирована при помощи ДЛС. Полученные результаты подтверждают данные растворимости (рис. 3.1.2.3). Хитозан в 2% CH₃COOH образует лишь частицы с субмикронным уровнем распределения, в отличие от продукта со-экструдирования, который образует более крупные агрегаты, что позволяет сделать вывод о проведении успешной прививки гидрофобных фрагментов олиголактида на биополимер.



Рисунок 3.1.2.3 – Распределение по размерам 0.2 масс. % дисперсий немодифицированного хитозана и X350-OЛ-К в 2% CH₃COOH

Поскольку амфифильная природа ацилированного производного оказала значительное влияние на его сродство к апротонным растворителям, что было выявлено на этапе очистки продукта механохимической обработки от непрореагировавших фрагментов исходных компонентов было принято решение провести дополнительное фракционирование образца в хлорсодержащем растворителе. Растворимая в дихлорметане фракция составила 26.4 масс.%, нерастворимая - 73.6 масс.%. Таким образом, еще раз была подтверждена прививка гидрофобных олиголактидных фрагментов на хитозан, которая привела к диспергируемости образца в органическом хлорированном растворителе, в котором немодифицированный хитозан и коллаген не растворяются. Полученные данные были подтверждены результатами ДЛС (рис. 3.1.2.4), по которым видно, что продукт со-экструдирования в дихлорметане образовывал большое количество (\approx 90%) агрегатов со средним размером \approx 150 нм и небольшую часть частиц с субмикронным уровнем распределения. Подобная бимодальная функция распределения по размерам может быть вызвана как внутри- или межмолекулярным взаимодействием, так и кинетикой образования ассоциатов макромолекул.





Рисунок 3.1.2.4 – Распределение по размерам 0.2 масс. % дисперсии X350-OЛ-К в CH₂Cl₂

Поскольку полученный продукт со-экструдирования образует коллоидные растворы как в водных, так и в органических растворителях, детальное изучение макромолекулярной структуры отдельных фракций с использованием классических аналитических методов достаточно затруднительно. В связи с этим для конечного подтверждения прививки на хитозан гидрофобных фрагментов олиголактида, а также наличия в продукте коллагена, была проведена ИК-спектроскопия исходных компонентов и полученного продукта со-экструдирования (рис.3.1.2.5). Спектры исходных компонентов показали все ожидаемые характеристические полосы. В спектре хитозана представлены полосы деформационных колебаний NH₂-групп при 1588 см⁻¹ и Амида I при 1650 см⁻¹, интенсивности которых хорошо коррелируют со степенью ацетилирования. Спектр олиголактида содержит полосу C=O в сложноэфирной группе (1748 см⁻¹), несимметричный C-O-C (1181 см⁻¹) и симметричный CH₃ (1083 см⁻¹).

Спектр продукта со-экструдирования содержит полный набор типичных характеристических полос хитозана, олиголактида и коллагена. Основные полосы поглощения последнего, а именно Амид I (1630 см⁻¹), Амид II (1530; 1449 и 1391 см⁻¹) и Амид III (широкая полоса при 600 см⁻¹) четко очерчены. Основные изменения наблюдались в амино-амидных областях (от 1650 до 1530 см⁻¹). Полоса первичных аминогрупп (1588 см⁻¹), достаточно интенсивная по сравнению с Амидом I в спектре исходного хитозана, становится слабой в спектре продукта, что подтверждает расход аминогрупп на реакции с олиголактидом. Как было замечено в предыдущем исследовании ацилированных олиголактидом производных хитозана, этот диапазон частот также перекрывается валентными колебаниями карбоксилат-ионов (около 1580 см⁻¹) из-за частичного образования солевых связей [97].



Рисунок 3.1.2.5 – ИК-спектры исходных компонентов и продукта со-экструдирования

Таким образом, использование механохимического подхода позволило получить ацилированное производное хитозана с биоактивным компонентом в составе, которое можно использовать в дальнейшем для формования материалов биомедицинского назначения, а его амфифильная природа позволяет значительно расширить используемые методы их формования.

3.2. Пленки на основе хитозана и его гидрофобизированных производных

Одним ИЗ основных типов материалов, полученных на основе образцов немодифицированного хитозана и их производных, стали пленки из водорастворимых фракций образцов. На рисунках 3.2.1-3.2.2 приведены оптические и СЭМ-микрофотографии поверхности пленок из образцов немодифицированного хитозана X80 и X350 и их гидрофобизированных производных. Образцы на основе исходных образцов хитозана имеют гомогенную структуру, в то время как пленки из алкилпроизводных Х80-С16-3 и Х350-С16-5, а также ацилированного образца Х350-ОЛ-К обладают ярко выраженной гетерогенностью, что хорошо заметно на оптических микрофотографиях (рис.3.2.1) и, вероятно, связано с ассоциацией гидрофобных фрагментов и образованием крупных доменов при испарении растворителя, что коррелирует с данными светорассеяния и растворимости и доказывает влияние химической структуры производных на морфологию материала. Введение дополнительного компонента – коллагена – также увеличивает неоднородность пленочных материалов.



Рисунок 3.2.1 – Оптические микрофотографии пленок на основе растворимых фракций полимеров. Масштабная линейка 75 мкм



Рисунок 3.2.2 – СЭМ-микрофотографии пленок на основе растворимых фракций полимеров. Масштабная линейка 20 мкм

Механические испытания (таблица 3.2.1) полученных пленок показали, что модификация нарушает способность макромолекул к упаковке, что приводит к увеличению пластичности и падению модуля упругости пленок из алкилированных производных хитозана. Эти изменения способствуют улучшению свойств материалов на основе хитозана в ряде областей их дальнейшего применения, в частности в качестве биополимерных повязок и покрытий. В случае пленки на основе ацилированного производного присутствие фрагментов аморфнокристаллического олиго(L,L-лактида) увеличивало прочность образца со снижением пластичности.

Таблица 3.2.1 – Механические свойства пленок на основе исходного и модифицированного хитозана

Образец	Предел прочности при растяжении, МПа	Удлинение при разрыве, %	Модуль упругости, МПа
X80	37 ± 1.3	4 ± 3.3	1623 ± 32
X80-C16-3	30 ± 1.1	8 ± 2.1	877 ± 16
X350	71 ± 2.3	19 ± 2.1	1650 ± 35
X350-C16-5	65 ± 1.5	23 ± 1.4	750 ± 18
Х350-ОЛ-К	86 ± 7.2	3.6 ± 2.2	4586 ± 593

Несмотря на то, что все пленки продемонстрировали удовлетворительные механические характеристики, в рамках работы было принято решение о дополнительном исследовании образцов Х350 и Х350-ОЛ-К для оценки возможности их дальнейшего использования в качестве подложек для культивирования животных клеток, ввиду наличия в составе Х350-ОЛ-К исключительно биоразлагаемых компонентов. Кроме этого, ранее пленки на основе X80 и ряда его ацилированных производных уже продемонстрировали способность поддерживать пролиферацию И дифференцировку клеток in vitro В ходе исследование ИХ цитосовместимости [99].

Для оценки цитосовместимости пленок необходимо перевести их в нерастворимую в воде форму, так как после испарения растворителя пленки находятся в солевой форме и растворяются в культуральной среде. Для их перевода в нерастворимую в воде форму было принято решение подвергнуть их термосшивке, без добавления каких-либо сшивающих реагентов, чтобы не нарушать химическую структуру. Термическая обработка пленочных образцов для их перевода в нерастворимую в воде форму привела к изменению морфологии поверхностей пленок, которые стали более гомогенные (рис. 3.2.3)



Рисунок 3.2.3 – СЭМ поверхности пленок после термической обработки. Масштабная линейка 20 мкм

Согласно авторам работы [140], потеря растворимости солевых пленок хитозана после термической обработки может обуславливаться несколькими процессами: разложение солей, ацилирование аминогрупп выделяющимися кислотами, изменение степени кристалличности образцов, а также образование сшитых структур в ходе термоокислительной деструкции полимерных цепей. Авторы этой работы показали, что образование амидов хитозана является основной причиной сшивки хитозана в солевой форме при прогреве.

На рисунке 3.2.4 приведены спектры электронного поглощения пленки из хитозана X-350 и его производного X350-OЛ-K до и после термической обработки. Пленка образца X350-OЛ-K до прогрева демонстрирует более интенсивное рассеяние света, по сравнению с пленкой из X-350, что согласуется с данными по морфологии образцов, приведенными на микрофотографиях (рис. 3.2.1 и 3.2.2). В спектрах обеих пленок наблюдаются широкие слабые полосы поглощения в области 250-400 нм, которые обычно присутствуют в хитозане [123]. После прогрева обе пленки становятся оптически более однородными. В диапазоне длин волн 600-800 нм интегральный показатель рассеяния хорошо описывается зависимостью $1/_{\lambda^p}$, где p=4. В области длины волны менее 600 нм оптическая плотность возрастает в обеих пленках, что указывает на появление новых хромофорных групп. Характер образующихся хромофорных групп в образцах X-350 и X350-ОЛ-К одинаков. Вероятнее всего, образующиеся хромофорные группы связаны с термоокислением и появлением системы сопряженных связей [88].



Рисунок 3.2.4 – Спектры электронного поглощения пленки из хитозана X-350 и его ацилированного производного X350-ОЛ-К до (1, 2) и после (3, 4) прогрева

Термическая обработка привела к потере массы пленок после обработки: образец на основе хитозана потерял 8.6 ± 1.4 масс.%, а образец на основе производного – 10.5 ± 1.1 масс.% (рис.3.2.5). Показатели нерастворимых в воде фракций образцов (рис.3.2.6) на основе хитозана и производного равны 95.9 ± 0.8 и 92 ± 0.6 , соответственно. Подобные значения можно объяснить наличием в структуре производного олиго(L,L-лактидных) фрагментов и их стереохимическим составом, придающих образцу гетерогенную аморфно-кристаллические структуру.







Рисунок 3.2.6 – Нерастворимые в воде фракции пленок на основе хитозана и ацилированного производного

Так как в дальнейшем данные пленки имеют перспективу применения в качестве клеточных матриксов, то они должны впитывать в себя необходимые вещества для питания тканей или роста клеток. В связи с этим пленки были исследованы на набухание. В результате выяснено, что образец на основе немодифицированного хитозана набухает значительно меньше, чем образец на основе производного: степени набухания равны 713.5 ± 1.9 масс.% и 959.1 ± 2.1 масс.%, соответственно.

Таким образом, использование для формования пленок гидрофобизированных производных позволяет получать образцы с гетерогенной поверхностью и оптимальными свойствами для дальнейшего применения в качестве материалов биомедицинского назначения и клеточных матриксов.

3.3. Материалы, наполненные гидрофобизированными производными хитозана

Полученные в работе гидрофобизированные производные могут быть использованы непосредственно как для формирования материалов на их основе, так и в качестве наполнителей для синтетических полимеров, в частности – сложных полиэфиров и полиолефинов. Благодаря прививке на хитозан гидрофобных фрагментов возможно обеспечение повышенной совместимости производных с синтетическими полимерами по сравнению с образцами немодифицированного хитозана.

В связи с этим, принято решение об оценке возможности использовании алкилированного производного X140-C22 (ввиду его большей длины гидрофобной цепи по сравнению с производными X80-C16 и X350-C16) в качестве наполнителя для ПЭНД. Полиэтилен на протяжении долгих лет активно используется в качестве упаковочного материала благодаря своим механическим свойствам и низкой стоимости. Известно, что наполнение термопластичных полимеров природными компонентами приводит к появлению микропластика, что не решает проблему безопасной утилизации. Несмотря на это, использование хитозана оправдано, поскольку приводит к получению материалов с новыми полезными свойствами [101 – 104]. При этом совмещение компонентов возможно проводить, используя как расплавную технологию в смесителях экструдерного типа, так и используя твердофазный механохимический подход, предполагающий проведение процесса смешения ниже температуры плавления полимераосновы.

С учетом введения алкилпроизводного хитозана в ПЭНД с использованием в том числе традиционного расплавного способа, исходные компоненты и производные хитозана были исследованы калориметрическими методами. По данным ДСК пик плавления алкилирующего агента – глицидилового эфира докозана (С22), использованного для получения гидрофобно

88

модифицированного хитозана, обнаружен при температуре 58.4 °C (рис. 3.3.1*a*). Тепловыделение для образца модификатора при повышении температуры носит пульсирующий характер (рис. 3.3.1a), а остаточная масса при 700 °C по данным ТГА (рис. 3.3.1b) составляет 3.3%. Эти особенности характерны для образцов, на поверхности которых в ходе эксперимента образуются термостойкие пленки, обладающие низкой теплопроводностью. Осцилляция пиков на кривой ДСК отвечает частичной деструкции образующихся пленок и образованию более термостойких. Наиболее вероятным является образование карбонизированных слоев на поверхности образца [141].



Рисунок 3.3.1 – Кривые ДСК (a) и ТГА (б) для C22, X140 и X140-C22

На рис. 3.3.1 представлены результаты термического анализа в виде кривых ДСК и ТГА для исходного X140 (атмосфера – воздух), полученного методом твердофазного механохимического синтеза из хитина (СА 7%, ММ 140 кДа). Из представленных данных видно, что картина термического разложения образца соответствует литературным данным. Термическое разложение частично N-ацетилированного хитозана (СА 15-25%) с молекулярной массой в интервале 200-350 кДа начинается при температуре около 300 °C (экзотермический процесс) [142]. Вес материала стабилен вплоть до температуры около 250 °C, за исключением потерь, обусловленных выделением физически сорбированной воды в районе 100-150 °C, содержание которой обычно не превышает 5-7%. Далее в работе наблюдали резкое снижение веса при 334 °C, а при 350 °C - изменение наклона кривой термограммы, свидетельствующее о протекании второго процесса, более медленного, чем предыдущий. Соответствующая производная кривая имела длинный хвост, достигавший нулевого значения около 750 °C без явных отчетливых флуктуаций. ИК-Фурье анализ выделившегося газа показал, что при разложении хитозана

выделяется сложная газообразная смесь, состоящая в основном из H₂O (3566 см⁻¹), NH₃ (965 см⁻¹), CO (2185 см⁻¹), CO₂ (2359 см⁻¹), CH₃COOH (от ацетилированных звеньев, 1179 см⁻¹) и CH₄ (3016 см⁻¹). Отслеживая эволюцию образца в температурно-временной шкале, ИК-Фурье анализ выявил сложную картину деградации, характеризующуюся частично перекрывающимися этапами. Основной процесс с выделением воды, аммиака, угарного газа, диоксида углерода и уксусной кислоты наблюдался в интервале температур 250-450 °С и вызывал потерю массы 54 масс.%. Этот процесс был отнесен к пиролитической деградации хитозана, также описанной в литературе [143]. Высвобождение аммиака начиналось при более низкой температуре, чем для других газов (наибольшей скорости оно достигало при 325 °C), что свидетельствует о том, что для образования NH₃ требуется низкая энергия активации. После этого в интервале 450-750 °C происходил второй процесс, характеризующийся выделением метана (наибольшая скорость около 590 °C) и вызывающий небольшую потерю массы (9 масс.%). Этот процесс свидетельствует о том, что дальнейшая модификация материала происходит, когда структура почти полностью восстанавливается, вызывая образование метана и последующее образование графитоподобной структуры посредством механизма дегидрирования, как это предлагается в литературе [141].

Следует отметить, что на кривой ДСК для алкилированного хитозана X140-C22 (рис. 3.3.1*a*) отсутствует пик плавления модификатора C22, что может быть следствием присоединения глицидилового эфира к аминогруппам хитозана. Из рис. 3.3.1*б* видно, что экзотермическая реакция термодеструкции X140-C22 достаточно полно протекает при температуре 300-400 °C. Потеря массы образца, как и в случае исходного хитозана, происходит в два этапа, различающихся по скорости, с сохранением остаточной массы при 700 °C [141].

Таким образом, данные термических испытаний свидетельствуют о наличии аддуктов, образующихся за счет механохимической обработки смеси хитозана и моноглицидилового эфира докозана, и о возможности использования выбранного модификатора в качестве компатибилизатора смешения хитозана с полиолефинами в ходе реакционной экструзии.

Данные ТГА образцов полиолефинов с разным содержанием наполнителя (10-70%), полученных смешением в расплаве с использованием смесителя Брабендера, представлены в таблице 3.3.1. Из данных таблицы 3.3.1 следует, что введение до 20% алкилированного хитозана в ПЭНД незначительно влияет на температуру плавления композитов. В отличие от алкилирующего агента C22 и продукта его взаимодействия с хитозаном (X140-C22), 5 и 15%-ная потеря массы ПЭНД наблюдается выше 400 °C (таблица 3.3.1) [141].

90

Образец	Тепловые эффекты				Температура потери массы, °С			Остаток при	
	Пик °С	Начало °С	Конец °С	ΔН, Дж/г	Δm, %	5	15	30	700 °C, %
C22	58.4	54.1	65.4	-153.0	92.6	261	304	327	3.3
X140	306.8	239.4	397.6	3602.0	88.7				11.3
X140-C22	304.7	242.6	400.6	2847.0	91.1	246	278	464	8.9
ПЭНД	136.4	127.4	144.0	-202.3	100	421	443	457	0
	138.8	127.3	147.3	-206.1					
ПЭНД/	253.6	243.3	268.0	67.5	05 1	304	371	137	4.0
X140-C22 90/10	384.3	377.5	390.9	-36.5	95.1	304	571	437	4.9
	506.1	487.3	520.4	1455.0					
	138.7	128.3	146.3	-170.8					
ПЭНД/ X140-C22 80/20	250.0	241.8	248.5	34.1	94.4	280	332	402	5.6
	492.6	476.7	509.9	937.3					
	134.8	125.8	142.6	-120.5					
ПЭНД/	259.0	239.4	279.2	240.1	05 /	266	305	401	16
X140-C22 60/40	407.7	374.2	442.6	798.3	. 93.4	200	305	401	4.0
	513.9	484.5	563.7	2604.0					
	135.8	126.1	145.2	-78.2					
ПЭНД/ X140-C22 30/70	245.9	233.0	261.5	139.5	98.7	256	286	333	1.3
	440.4	411.4	476.2	406.3					

Таблица 3.3.1 – Данные ТГА и ДСК прекурсоров и композитов (атмосфера – воздух)

Наиболее чувствительными к концентрации наполнителя являются эндоэффекты плавления композитов, величина которых снижается по мере увеличения доли наполнителя (рис. 3.3.2) [141].



Рисунок 3.3.2 – Зависимость энтальпии плавления (ΔH_{nn}) композитов на основе X140-C22 и ПЭНД

Хорошо видно, что введение в ПЭНД 10% алкилированного хитозана несколько повышает ΔH_{пл}, однако при 20%-ном содержании наполнителя эта величина существенно снижается (рис. 3.3.2). Пересчет ΔH_{пл} с учетом содержания ПЭНД показал, что степень кристалличности образца ПЭНД/Х140-С22 90/10 увеличивается на 13%, а затем с увеличением массовой доли наполнителя постепенно уменьшается [141].

На рис. 3.3.3 представлены зависимости показателя текучести расплава $\Pi TP^{2.16}_{190}$ (*a*), температуры пика плавления (*б*) композитов от массовой доли X140-C22 в образцах ПЭНД. Повышение температуры плавления и снижение вязкости расплава наблюдаются при массовой доле наполнителя 10-20%, что может быть вызвано пластификацией полиолефиновой матрицы под влиянием родственных ПЭНД цепей докозана, присоединенных ковалентно к аминогруппам полисахарида. По мере увеличения массовой доли алкилированного хитозана в смеси данный эффект пластификации, вероятно, подавляется (увеличивается массовая доля немодифицированной части хитозана по отношению к ПЭНД), что, как следствие, вызывает увеличение вязкости композиции [141].



Рисунок 3.3.3 – Зависимость ПТР¹⁹⁰ (*a*), пика температуры плавления (б) и энтальпии плавления (*b*) композитов от массовой доли (*w*, %) X140-C22 в матрице ПЭНД

Исходя из результатов исследования реологических свойств композитов, представленных на рисунке 3.3.4, выяснено, что полученные композиты могут перерабатываться методами экструзии и литья под давлением при температуре T=195 °C, благодаря чему удалось получить и исследовать пленочные образцы из полученных композитов.



Рисунок 3.3.4 – Кривые вязкости (а) и течения (б) для образца ПЭНД/ Х140-С22 90/10

Влияние типа смешения компонентов (смеситель Брабендер или двухшнековый экструдер) и количества наполнителя на диспергируемость производного в полиолефиновой матрице и физико-химические свойства композитов оценивали с помощью деформационно-прочностных испытаний пленочных материалов и данных микроскопии [141].

Как показали механические испытания, значения б_р и ε_p снижаются по мере увеличения массовой доли наполнителей в матрице ПЭНД (таблица 3.3.2).

Таблица 3.3.2 – Физико-механические характеристики пленок из образцов композитов, полученных смешением в расплаве в смесителе Брабендера и твердофазным смешением в двухшнековом экструдере (образец ПЭНД/Х140-С22 90/10э)

Образец	σр, МПа	Ер, %	Ео, ГПа
ПЭНД	11.0	649.0	0.86
ПЭНД/Х140-С22 90/10	19.0	3.2	1.5
ПЭНД/Х140-С22 90/10э	23.5	5.6	1.5
ПЭНД/Х140-С22 80/20	17.9	2.2	2.0
ПЭНД/Х140-С22 60/40	13.1	1.4	1.7
ПЭНД/Х140-С22 30/70	11.4	1.2	1.5

Из данных таблицы 3.3.2 следует, что увеличение доли X140-C22 в композитных пленках приводит к уменьшению разрывных удлинений. Включение 10% X140-C22 в ПЭНД снижает ε_p с 649% до 3.2%/5.6%. Предел прочности при растяжении σ_p при введении 10% алкилированного хитозана растет относительно исходного ПЭНД независимо от способа введения наполнителя (от 11.0 до 19.0/23.5 МПа), а модуль Юнга увеличивается с 0.86 до 1.50 ГПа. Предполагается, что подобные резкие изменения значений механических параметров могут быть вызваны не только присутствием наполнителя, но и возрастанием степени кристалличности ПЭНД, что было установлено по данным ДСК. При дальнейшем увеличении доли наполнителя (20% и 40%) в образцах степень кристалличности снижается, что, в свою очередь, вызывает уменьшение значений разрывного напряжения. Изменение модуля упругости носит неоднозначный характер, однако для состава ПЭНД/Х140-C22 80/20 обнаружен значительный рост относительно чистого ПЭНД (2.0 и 0.86 ГПа, соответственно) [141].

Как видно из приведенных на рис. 3.3.5 микрофотографий, смешение в расплаве с использованием смесителя роторного типа не обеспечивает полностью гомогенное распределение наполнителя в полимерной матрице при невысоких степенях наполнения. Предварительное твердофазное реакционное смешение компонентов в двухшнековом экструдере при температуре ниже температуры плавления термопластичного полимера-матрицы (90 °C в нашем случае) позволило получить пленочные материалы с более гомогенной структурой при

наполнении ПЭНД предварительно алкилированным на том же оборудовании хитозана (рис. 3.3.5*a* и 3.3.5*б*) [141].



Рисунок 3.3.5 – Оптические микрофотографии наполненных пленок на основе ПЭНД и X140-C22: (б) 10%, (в) 10% после твердофазной экструзии

Наблюдаемое повышение однородности морфологии полученных таким образом пленок отражается на их механических характеристиках (таблица 3.3.2, образец ПЭНД/ Х140-С22 90/10э). Так, прочность на разрыв возрастает в 2 раза. Снижение относительного удлинения относительно ненаполненного образца носит общий характер, однако это существенно менее выражено (почти в 2 раза) по сравнению с пленкой для композита с одинаковым содержанием наполнителя, но полученного смешением в расплаве ПЭНД. Можно сделать вывод, что, несмотря на предварительное модифицирование наполнителя с целью придания гидрофобных свойств, способ его введения в полимерную матрицу носит определяющий характер для достижения оптимальных физико-механических свойств композитных пленочных материалов [141].

Еще одним типом хитозансодержащих материалов в работе стали микроволокнистые материалы на основе полилактида, наполненные ацилированным производным хитозана с биоактивным компонентом, полученные по растворной технологии электроформования. Согласно данным фракционирования (таблица 3.1.2.1) и светорассеяния (рис. 3.1.2.4) Х350-ОЛ-К образует стабильные дисперсии в апротонном растворителе – дихлорметане, который является традиционным для полилактида, что обеспечивает возможность получения нетканых материалов методом ЭФ из раствора смеси полилактида и Х350-ОЛ-К в дихлорметане. В результате, удалось получить материал с высокопористой структурой и широким диапазоном размеров волокон (рис. 3.3.6), которые могут служить каркасами для роста клеток в тканевой инженерии в дальнейшем.



Рисунок 3.3.6 – СЭМ-микрофотография микроволокнистого материала, наполненного ацилированным производным. Масштабная линейка 100 мкм

Было установлено, что добавление производного к полилактиду с хитозаном/белковыми частицами является важным для окончательной морфологии микроволокон, т.к. его наличие в растворе позволило получить волокна с выраженной шероховатостью поверхности, что в дальнейшем является благоприятным фактором для закрепления и роста клеток на них. Распределение ацилированного производного в полученных материалах было оценено при помощи флуоресцентной микроскопии и селективного красителя, который избирательно реагирует по отношению к аминогруппам хитозан/белок. В результате выяснено, что распределение производного в материале и на поверхности его волокон носит неравномерных характер [97].

Таким образом, гидрофобизация хитозана позволяет применять его в качестве наполнителя при получении пленочных и трехмерных материалов на основе синтетических полимеров с использованием расплавных и растворных технологий, что ведет к получению новых типов хитозансодержащих материалов с улучшенными свойствами.

3.4 Применение хитозана и его гидрофобизированных производных для стабилизации эмульсий и получения материалов, сформированных из эмульсий

3.4.1 Эмульсии масло/вода, стабилизированные хитозаном и его производными

Введение гидрофобных заместителей в химическую структуру хитозана придает ему не только повышенную совместимость с гидрофобными полимерами, но и амфифильные свойства, которые важны для получения материалов с использованием методов, основанных на эмульгировании. Влияние химической структуры немодифицированных образцов хитозана и их гидрофобизированных производных на их способность стабилизировать границу раздела фаз была оценена в ходе получения эмульсий масло/вода.

На рис. 3.4.1.1 представлены оптические микрофотографии эмульсий масло/вода, стабилизированных образцами хитозана и их производными. Все используемые полимеры стабилизируют границу раздела фаз прямых эмульсий масло/вода с образованием как простых эмульсии типа масло/вода, так и двойных вода/масло/вода.



Рисунок 3.4.1.1 – Оптические микрофотографии эмульсий масло/вода, стабилизированных хитозаном и гидрофобизированными производными. Масштабная линейка 1000 мкм

Наиболее важным параметром при характеристике любой эмульсии является распределение ее капель по размерам. Так, две эмульсии, имеющие одинаковый средний размер капель, могут проявлять совершенно разные свойства (стабильность и устойчивость к разрушению, реологию и химическую реакционную способность) из-за различий в распределении их по размерам. Поэтому, после получения эмульсий был проведен анализ оптических микрофотографий с расчетом диаметра капель дисперсной фазы для построения гистограмм распределения по размерам. На рис.3.4.1.2 представлено распределение по размерам

капель масла в эмульсиях стабилизированных немодифицированными образцами хитозана и их гидрофобизированными производными, в таблице 3.4.1.1 приведены данные об их среднем размере.



Рисунок 3.4.1.2 – Распределение по размерам капель дисперсной фазы в эмульсиях масло/вода, стабилизированных различными образцами хитозана и их гидрофобизированными производными

Образец	Средний размер, мкм
X80	198 ± 163
X80-C16	119 ± 103
X140	166±113
X140-C22	116 ± 101
X350	133 ± 87
X350-C16	112 ± 78
Х350-ОЛ-К	106 ± 73

Таблица 3.4.1.1 – Средний размер капель дисперсной фазы эмульсий

Распределение капель дисперсной фазы по размерам зависит от параметров смешивания и эффективности стабилизации границы раздела масло/вода, которая контролируется гидрофильно-гидрофобным балансом выбранных полимеров и их концентрацией в водной фазе. Т.к. условия получения и концентрации полимеров во всех случаях были одинаковые, то различие в размерах полученных капель полностью зависит от их химической структуры.

В случае стабилизации эмульсий образцами немодифицированного хитозана их эмульгирующая способность зависит от ММ и СД полимера. Все образцы хитозана, использованные в работе, имели относительно высокую СД, которая находится в диапазоне 0.80-0.93, характеризующейся хорошей эмульгирующей активностью при использовании подсолнечного масла в качестве масляной фазы, что также хорошо согласуется с литературными данными [144]. Существенным различием образцов хитозана, исследованных в настоящей работе, была их ММ. При сравнении гистограмм распределения капель дисперсной фазы по размерам можно отметить, что низкомолекулярный хитозан X80 проявил эмульгирующие свойства хуже, чем образцы с более высокой ММ (Х140 и Х350). Хитозан, являясь поликатионным биополимером, может действовать посредством адсорбции защитного слоя на границах раздела масло/вода, повышая вязкость структурно-механического барьера, прочность которого возрастает с увеличением ММ. Также по данным гистограмм на рисунке 3.4.1.2 можно заметить, что образец хитозана с ММ 140 кДа и с самой высокой из исследованных СД 0.93 лучше способствовал образованию капель с диаметром менее 100 мкм (49.3%). Возможно, что данный результат связан с наличием большего числа протонированных аминогрупп в хитозане, что способствует лучшей стерической стабилизации эмульсий.

Использование гидрофобизированных производных, обладающих амфифильными свойствами, приводит к образованию капель с меньшим средним диаметром капель дисперсной фазы по сравнению с немодифицированным хитозаном, что указывает на более высокую эмульгирующую способность. В случае эмульсий, стабилизированных производными, также

наблюдается увеличение содержания капель до 200 мкм с одновременным снижением количества более крупных капель. Это позволяет сделать вывод о том, что применение гидрофобизированных производных в качестве эмульгаторов может быть более эффективно, по сравнению с немодифицированными образцами хитозана.

Однако, важным параметром без которого невозможно судить об эффективности применения выбранных производных в качестве эмульгаторов является стабильность (устойчивость) полученных эмульсий во времени, которая характеризуется скоростью коалесценции и расслаивания фаз. Для оценки скорости расслоения фаз эмульсий масло/вода, стабилизированных как немодифицированными образцами хитозана, так и гидрофобизированными производными, во времени сразу после получения они были помещены в лабораторные пробирки (рис. 3.4.1.3).



Рисунок 3.4.1.3 – Фотография эмульсий масло/вода сразу после получения

Как видно из рисунка 3.4.1.3, в случае эмульсий, стабилизированных X80 и X140, а также их гидрофобизированных производных X80-C16 и X140-C22, начало расслоения фаз происходит сразу после завершения процесса перемешивания и помещения образцов в пробирки. При этом процесс сопровождается флокуляцией капель эмульсий. Дальнейший процесс расслоения фаз представлен в виде графика на рисунке 3.4.1.4, отражающего количество отслоившейся дисперсной фазы во времени. Процесс расслоения фаз эмульсий продолжался на протяжении всего времени наблюдения за ними (7 дней) и протекал во всех случаях медленнее процесса расслоения фаз образца-сравнения эмульсии масло/вода без какого-либо эмульгатора. Кроме этого, даже спустя 7 дней в дисперсионной «водной» среде всех образцов, стабилизированных полимерами, наблюдалось присутствие мелкодисперсных капель дисперсной «масляной» фазы



(рис. 3.4.1.5). Полное же разрушение эмульсии масло/вода без эмульгатора произошло через 2 дня.

Рис. 3.4.1.4 – График, отражающий количество отслоившейся дисперсной фазы эмульсий масло/вода во времени (мин)



Рисунок 3.4.1.5 – Фотография эмульсий масло/вода спустя 7 дней после получения

Процесс разрушения эмульсий был ярко выражен в случае образцов, стабилизированных немодифицированным образцами хитозана X80 и X140: происходило более быстрое расслоение их фаз во времени по сравнению с гидрофобизированными производными, сопровождающееся не только флокуляцией капель масла, но и их высокой коалесценцией. Причем в случае образца Х80 последняя наблюдалась уже через 30 минут от начала процесса расслоения фаз эмульсии, в случае образца Х140 – через 180 минут, что объясняется низкой эмульгирующей способностью немодифицированных образцов хитозана с низкой ММ и, соответственно, недостаточной вязкостью среды. В случае высокомолекулярного хитозана и всех гидрофобизированных образцов была замечена лишь флокуляция капель масляной фазы эмульсий без их коалесценции. При этом процесс флокуляции дисперсной фазы у образцов Х350, Х350-С16 и Х350-ОЛ-К, который привел к началу расслоения фаз наступил позже среди всех эмульсий (~ с 20 минуты). Также процесс расслоения фаз у этих эмульсий происходил медленнее (рис. 3.4.1.4), что может быть связано с высокой вязкостью дисперсионной среды, а также с достижением оптимального гидрофильно-гидрофобного баланса в гидрофобизированных производных. Также стоит отметить, что использование последних для стабилизации во всех случаях препятствует коалесценции капель эмульсий, что ярко выражено в случае образцов Х80-С16 и Х140-С22, и приводит к повышению их стабильности по сравнению с немодифицированными образцами хитозана.

После подтверждения эмульгирующей способности и исследования влияния на нее химической структуры используемых полимеров в ходе стабилизации границы фаз эмульсий масло/вода в качестве наиболее простой системы, принято решение оценить эмульгирующую способность и влияние на нее химической структуры немодифицированных образцов хитозана и их гидрофобизированных производных в ходе получения полимерных микрочастиц методом испарения растворителя из эмульсии масло/вода – более сложном процессе, основанном на превращении эмульсии жидкость-в-жидкости в суспензию твердых частиц.

Для подтверждения эмульгирующей способности выбранных образцов немодифицированного хитозана и их гидрофобизированных производных, а также изучения характеристик эмульсий, которые предопределяют размер и пористость конечных микрочастиц, в данной работе проведено изучение процесса формования полилактидных микрочастиц при помощи оптической микроскопии. На рис. 3.4.1.6 – 3.4.1.7 представлены микрофотографии аликвот эмульсий в процессе образования микрочастиц из полилактила, стабилизированных немодифицированными образцами хитозана с различными ММ и их гидрофобизированными производными через 15 и 180 минут после добавления дисперсной фазы в дисперсионную среду.









X350-C16



Х350-ОЛ-К

Рисунок 3.4.1.6 – Микрофотографии аликвот эмульсий в процессе образования микрочастиц из полилактида, стабилизированных полимерами. Аликвоты отобраны через 15 минут после добавления дисперсной фазы в дисперсионную среду. Масштабная линейка 1000

МКМ

Все используемые в работе полимеры стабилизируют границу раздела фаз эмульсий масло/вода (рис. 3.4.1.6). В случае как немодифицированных образцов хитозана, так и их наблюдается образование гидрофобизированных производных, двойных эмульсий вода/масло/вода наравне с простыми эмульсиями масло/вода в первые 15 минут процесса эмульгирования. Эти данные подтверждают полученные ранее результаты в ходе формования эмульсий масло/вода с использованием подсолнечного масла в качестве дисперсной фазы.

По истечении 180 минут наблюдается практически полное испарение растворителя из дисперсионной среды, о чем свидетельствует темный цвет микрочастиц на микрофотографиях и что также затрудняет дальнейшее исследование внутренней структуры микрочастиц при помощи оптической микроскопии (рис. 3.4.1.7).



ХЛЛ-350-К

Рисунок 3.4.1.7 – Микрофотографии аликвот эмульсий при получении микрочастиц из полилактида, стабилизированных полимерами. Аликвоты отобраны через 180 минут после добавления дисперсной фазы в дисперсионную среду. Масштабная линейка 1000 мкм

На микрофотографиях видно, что все полученные микрочастицы имеют сферическую форму, независимо от типа эмульгатора в дисперсионной среде. Кроме этого, на всех микрофотографиях образцов в случае микрочастиц небольшого размера можно заметить наличие в их внутренней структуре пор, что хорошо заметно в случае образцов X140, X350 и X80-C16. Очевидно, данные поры сохранились в микрочастицах за счет образования двойных эмульсий вода/масло/вода на более ранних этапах формования микрочастиц.

Оценка общего выхода микрочастиц и их распределения по размерам показала, что образцы немодифицированного хитозана и их гидрофобизированные производные могут быть

успешно использованы в качестве эмульгаторов для получения микрочастиц на основе полилактида методом испарения растворителя масло/вода (рис.3.4.1.8).





Выход микрочастиц, полученных при использовании различных образцов хитозана, составил 38.3 – 51.1 масс.%. При использовании гидрофобизированных производных в качестве 57.1 - 67.2масс.%. эмульгатора выход был выше И составил Использование гидрофобизированных производных также позволяет получить микрочастицы с более широким диапазоном размеров, что особенно заметно на примере Х80-С16 и Х350-ОЛ-К. При этом, применение последнего обеспечивает наибольший выход микрочастиц среди всех образцов (67.2 масс.%), а также позволяет получать микрочастицы размером менее 100 мкм, чего не удалось достигнуть в случае использования образцов немодифицированного хитозана и ИХ алкилированных производных. Такой результат можно объяснить комбинацией высокой эмульгирующей способностью Х350-ОЛ-К, что также отмечено при исследовании простой системы масло/вода (рис. 3.4.1.2) и прививкой олиголактидных фрагментов на хитозан, которая обеспечила наилучшее сродство производного к полилактиду, растворенному в дисперсной фазе. Также можно заметить взаимосвязь между ростом ММ образцов немодифицированного хитозана и увеличением выхода микрочастиц: чем выше MM (X80 –> X140 –> X350), тем больше выход микрочастиц: X80 –> X140 –> X350. То же касается и C3 алкилированных производных: с ее ростом (см. таблица 3.1.1.1) наблюдается рост выхода микрочастиц: X350-C16 –> X80-C16 –> X140-C22. При этом, наибольший выход (65.8 масс.%) среди микрочастиц, стабилизированных алкилированными производными, был достигнут при использовании в качестве эмульгатора алкилированного производного на основе хитозана с MM 140 кДа и глицидилового эфира с большей длиной цепи C22, что, скорее всего, может быть связано как с его более высокой C3 среди всех производных, так и с большей длиной гидрофобного заместителя.

Таким образом, установлено, что все полученные в рамках данной работы гидрофобизированные производные имеют преимущества по сравнению с образцами немодифицированного хитозана при стабилизации границы раздела фаз эмульсий масло/вода и их эмульгирующая способность зависит от химической структуры.

3.4.2. Характеристика полимерных микрочастиц, полученных методом испарения растворителя из эмульсий

Для оценки возможного применения полученных в рамках данной работы полимерных микрочастиц в качестве исходных материалов для ПСЛС необходимо изучить их морфологию, а также подтвердить наличие гигроскопичного слоя полисахарида на их поверхности. Для оценки морфологии поверхности и внутренней структуры полученных микрочастиц, в том числе их пористости, образцы были исследованы при помощи СЭМ. Как видно из рисунка 3.4.2.1, использование как образцов немодифицированного хитозана, так и их гидрофобизированных производных в качестве эмульгаторов в дисперсионной среде, во всех случаях обеспечивало получение сферических микрочастиц с гомогенной морфологией поверхности.











X350



X80-C16



X140-C22







Х350-ОЛ-К

Рисунок 3.4.2.1 – СЭМ-микрофотографии микрочастиц из полилактида, полученных с использованием в качестве эмульгатора образцов немодифицированного хитозана и их гидрофобизированных производных. Масштабная линейка 100 мкм

Исследование поперечных срезов микрочастиц методом СЭМ (рис. 3.4.2.2) подтвердило полученные ранее данные оптической микроскопии. Использование в качестве эмульгаторов всех исследованных полимеров привело как к образованию микрочастиц, у которых отсутствовала пористость (простые эмульсии в ходе стабилизации), так и к образованию микрочастиц с высокопористой внутренней структурой (двойные эмульсии в ходе стабилизации). При этом, все микрочастицы сохраняли сферическую форму и гомогенную морфологию поверхности. Полученная пористая структура может быть благоприятным фактором влияющим, например, на динамику процесса резорбции трехмерных структур на основе полимерных микрочастиц при их дальнейшем применении в качестве имплантатов или клеточных матриц.



X80



X140







X80-C16



X140-C22



X350-C16



Х350-ОЛ-К



Наличие на поверхности полученных микрочастиц покрытия из биополимеров и их производных было подтверждено с помощью флуоресцентной микроскопии образцов, меченных флуоресцеин изотиоционатом. Как видно на рис. 3.4.2.3 флуоресцентный режим оптического микроскопа позволил обнаружить эмиссию от селективного флуоресцентного красителя, что подтверждает наличие на поверхности микрочастиц биополимеров. Присутствие на поверхности микрочастиц из полилактида гидрофильных биомакромолекул обеспечивает не только их высокую биосовместимость, но и возможность дальнейшего их использования в качестве исходного материала для ПСЛС, в котором в качестве сенсибилизатора используется вода.


Рисунок 3.4.2.3 – Микрофотография, полученная при помощи флуоресцентной микроскопии

Более детальное исследование полученных микрочастиц для оценки возможности их применения в качестве исходного материала для ПСЛС включало определение насыпной плотности микрочастиц, их среднего размера, удельной поверхности и сорбционной способности (таблица 3.4.2.1).

Таблица 3.4.2.1 – Результаты определения насыпной плотности микрочастиц, их среднего размера, удельной поверхности и сорбционной способности

Образец	Насыпная	Средний	Удельная	Сорбция
	плотность, кг/м ³	размер, мкм	поверхность, м ² /г	воды, г/м ²
X80	312.8	421 ± 179	0.0115 ± 0.0005	0.0261 ± 0.0005
X80-C16	363.3	347 ± 121	0.0139 ± 0.0005	0.0358 ± 0.0005
X140	428.5	306 ± 164	0.0158 ± 0.0005	0.0316 ± 0.0005
X140-C22	469.2	291 ± 115	0.0166 ± 0.0005	0.0421 ± 0.0005
X350	568.1	203 ± 68	0.0238 ± 0.0005	0.0755 ± 0.0005
X350-C16	489.5	277 ± 88	0.0175 ± 0.0005	0.0801 ± 0.0005
Х350-ОЛ-К	633.4	159 ± 71	0.0115 ± 0.0005	0.0847 ± 0.0005

Насыпная плотность является важным параметром для ПСЛС. Она влияет на количество материала, необходимого для формирования одного слоя порошка для спекания, а также на пористость готового трёхмерного материала. Величина насыпной плотности зависит от размера микрочастиц, формы и морфологии их поверхности. Два последних параметра в значительной степени влияют на сыпучесть материала. Частицы нерегулярной формы с преобладанием заостренных краев и шероховатой поверхностью обладают плохой сыпучестью из-за механического сцепления частиц друг с другом в процессе насыпки. Последнее также приводит к неравномерной укладке и образованию большого количества пор в насыпном объеме частиц из-за чего в результате растет насыпная плотность [145]. Сферические частицы благодаря обтекаемой форме и гладкой морфологии поверхности обладают как более эффективным потоком при сыпучести, так более плотной упаковкой после насыпки, ведущей к снижению

пористости. Последнее является преимуществом с точки зрения дальнейшего ПСЛС 3D-структур на основе сферических частиц, т.к. более плотная упаковка частиц ведет к росту точек спекания поверхностей частиц и повышению прочности получаемых материалов [145]. Как установлено ранее, все полученные в рамках данной работы полимерные микрочастицы обладают правильной сферической формой и гладкой поверхностью, поэтому их насыпная плотность в большей степени зависит от среднего размера. Как видно по результатам, представленным в таблице 3.4.2.1, насыпная плотность микрочастиц увеличивалась с уменьшением их среднего размера.

Данные о среднем размере микрочастиц также необходимы для расчёта их удельной поверхности - важной характеристики, во многом определяющей поведение исходного компонента при последующих операциях спекания, в т.ч. способности сорбировать воду в поверхностных слоях. Последний параметр также является одной из важнейших характеристик полимерных микрочастиц для их спекания, т.к. ПСЛС основано на разогреве поверхностных слоёв микрочастиц за счёт тепла, которое выделяется при поглощении лазерного излучения среднего ИК-диапазона водой, адсорбированной слоем хитозана на поверхности частиц. Из представленных в таблице 3.4.2.1 результатов исследования видно, что удельная поверхность закономерно выше в случае микрочастиц с меньшим средним размером. Полученные значения сорбции воды для всех образцов позволяют сделать вывод, что все полученные полимерные микрочастицы пригодны для дальнейшего ПСЛС. Хотя удельная площадь поверхности микрочастиц, стабилизированных немодифицированными хитозанами, в некоторых случаях была больше, чем у микрочастиц, стабилизированных алкилированными производными, значения сорбции воды на поверхности последних оказались выше. Это может быть объяснено тем, что покрытие из производных обладает большей толщиной, что, в свою очередь, может быть следствием сильных межмолекулярных взаимодействий между ядром микрочастицы, состоящей из полилактила, и гидрофобными фрагментами, присоединенными к основной цепи хитозана [136].

Таким образом, полимерные полилактидные микрочастицы, полученные в рамках данной работы в дальнейшем, могут быть использованы как исходные компоненты для ПСЛС.

3.4.3 Поверхностно-селективное лазерное спекание полимерных микрочастиц

Среди всех полученных в данной работе полимерных микрочастиц, принято решение использовать для ПСЛС только три их типа – микрочастицы полученные с использованием в качестве эмульгатора хитозана с ММ 350 кДа, его алкилированного производного X350-C16 и ацилированного производного X350-OЛ-К. Подобный выбор обусловлен их наибольшим

110

выходом без учёта полых капсул, непригодных для спекания, который равен 44.5 масс.%, 51.5 масс.%, 67.2 масс.%, соответственно (см. рис. 3.4.1.6), а также наибольшей сорбционной способностью (таблица 3.4.2.1). Оптимальные режимы спекания, которые бы затрагивали только поверхностный слой микрочастиц без сплавления их объема, в результате которого происходит деформация и изменение формы микрочастиц, подбирались для каждого типа микрочастиц отдельно. После выбора оптимальных параметров спекания были изготовлены и исследованы при помощи СЭМ трехмерные структуры на основе микрочастиц. На рис. 3.4.3.1 приведены СЭМ-микрофотографии поверхности и поперечных срезов полученных трехмерных образцов.





X350-C16

Х350-ОЛЛ-К

Рисунок 3.4.3.1 – СЭМ-микрофотографии поверхности и поперечных срезов спеченных микрочастиц. Масштабная линейка 100 мкм

Как видно из представленных микрофотографий, между микрочастицами образовались так называемые «перешейки», что указывало на поверхностное взаимодействие между частицами и позволило подтвердить успешно проведенный процесс ПСЛС. Также, стоит отметить, что частицы сохраняли свою сферическую форму, не было замечено никаких дефектов и признаков объемного плавления.



Рисунок 3.4.3.2 – Трехмерная структура из полимерных микрочастиц, полученная при помощи ПСЛС (а), и ее 3D-модель (б). Масштабная линейка 10 мм

Установлено, что микрочастицы из полилактида, полученные методом испарения растворителя из эмульсий масло/вода, стабилизированных немодифицированным хитозаном и его гидрофобизированными производными имеют перспективу применения в качестве исходного компонента для создания трехмерных материалов (рис.3.4.3.2) с использованием метода ПСЛС [121].

выводы

1. С использованием механохимического подхода получены гидрофобизированные производные хитозана путем его взаимодействия с глицидиловыми эфирами гексадекана и докозана, олиголактидом и коллагеном, а также исследовано влияние химической структуры полученных производных на возможность формования, морфологию и свойства материалов различной формы

2. Впервые с помощью механохимического подхода синтезированы алкилированные производные хитозана с глицидиловыми эфирами алканов разной длины цепи. Определены условия синтеза и количество модификаторов в системах для получения алкилированных производных со степенью замещения аминогрупп 0.006-0.19. Выявлена большая реакционная способность модификатора с меньшей длиной цепи (С16).

3. Прививка гидрофобных фрагментов на хитозан ведет к изменению поведения макромолекул производных в растворах – наблюдается рост гидродинамического размера ассоциатов по сравнению с образцами немодифицированного хитозана.

4. Установлено влияние химической структуры модифицированного хитозана на морфологию и механические свойства пленок на их основе: введение гидрофобных фрагментов приводит к гетерогенной морфологии пленочных материалов и изменению их механических свойств.

5. Показана возможность получения наполненных механохимически модифицированным хитозаном материалов (пленки и микроволокнистые материалы) на основе синтетических полимеров (полиэтилен, полилактид) с использованием различных технологий.

6. Установлено влияние химической структуры на эмульгирующую способность гидрофобизированных производных и оценена возможность их использования для стабилизации границы раздела фаз масло/вода в ходе получения эмульсий, в том числе в процессе получения микрочастиц из полилактида методом испарения растворителя из эмульсий. Обнаружено, что применение гидрофобизированных производных во всех случаях является более эффективным для стабилизации границы раздела фаз по сравнению с образцами немодифицированного хитозана.

7. Подтверждена возможность использования сферических полимерных микрочастиц, полученных методом испарения растворителя из эмульсий масло/вода, стабилизированных гидрофобизированными производными хитозана, в качестве исходных компонентов для ПСЛС.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает безграничную благодарность:

- своему научному руководителю д.х.н. Деминой Татьяне Сергеевне за терпение, переданные знания, а также помощь и поддержку, оказанные в ходе выполнения и написания диссертационной работы;
- заведующей лабораторией Твердофазных химических реакций ИСПМ РАН д.х.н. Акоповой Татьяне Анатольевне за ценные советы и помощь в развитии данной темы;
- главному научному сотруднику лаборатории Твердофазных химических реакций д.х.н.
 Зеленецкому Александру Николаевичу за помощь в подготовке к кандидатскому экзамену и переданные знания в ходе выполнения диссертационной работы;
- коллегам ИСПМ РАН за помощь в выполнении исследований и интерпритацию полученных данных – д.х.н. Евтушенко Ю.М., к.х.н. Мягковой К.З., Свидченко Е.А., к.х.н. Гончарук Г.П., Кучкиной И.О., к.х.н. Пискареву М.С.;
- коллегам из дружественных институтов ПМГМУ им. И.М. Сеченова, ИФТ КККиФ и ИБХ РАН за помощь в организации и проведении исследований – Курьяновой А.С., к.х.н. Аксеновой Н.А., Минаевой Е.Д., к.ф.-м.н. Минаеву Н.В., д.х.н. Марквичевой Е.А., Дроздовой М.Г., Толстовой Т.В.;
- всем коллегам из лаборатории Твердофазных химических реакций ИСПМ РАН за добрую атмосферу, поддержку и отзывчивость.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- S_{уд} удельная поверхность
- ЭПР- электронный парамагнитный резонанс
- ЯМР ядерный магнитный резонанс
- ИК инфрокрасный
- УФ ультрафиолетовый
- СД степень деацетилирования
- СЗ степень замещения
- СА степень ацетилирования
- ММ молекулярная масса
- ММР молекулярно-массовое распределение
- рН водородный показатель
- ЭФ электроформование
- ПЛА полилактид
- МА малеиновый ангидрид
- ПЭНП полиэтилен низкой плотности
- СЛС селективное лазерное спекание
- ПСЛС поверхностно-селективное лазерное спекание
- С16 глицидиловый эфир гексадекана
- С22 глицидиловый эфир докозана
- Тпл-температура плавления
- ПЭНД полиэтилен низкого давления
- ПТР показатель текучести расплава
- ГОСТ государственный стандарт
- Х80 хитозан со средневязкостной молекулярной массой 80 кДа
- Х140 хитозан со средневязкостной молекулярной массой 140 кДа
- Х350 хитозан со средневязкостной молекулярной массой 350 кДа
- X80-C16-3 образец хитозана, модифицированный гексадецилглицидиловым эфиром при его содержании 3 масс.%
- X140-C22-3 образец хитозана, модифицированный докозилглидидиловым эфиром при его содержании 3 масс.%
- X140-C22-10 образец хитозана, модифицированный докозилглидидиловым эфиром при его содержании 10 масс.%

X350-C16-5 – образец хитозана, модифицированный гексадецилглицидиловым эфиром при его содержании 5 масс.%

Х350-ОЛ-К – образец хитозана, модифицированный олиго(L,L-лактидом) и коллагеном

- НПВО нарушенное полное внутреннее отражение
- ДЛС динамическое лазерное светорассеяние
- ТГА термогравиметрический анализ
- ДСК дифференциальная сканирующая калориметрия
- СЭМ сканирующая электронная микроскопия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Boldyrev, V.V. Mechanochemistry of solids: Past, present, and prospects / V.V. Boldyrev,
 K. Tkáĉova // J. Materials Synthesis and Processing. – 2000. – V. 8. – № 3-4. – P.121–132.

2. Akopova, T.A. Mechanochemical transformations of polysaccharides: A systematic review / T.A. Akopova, T.N. Popyrina, T.S. Demina // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – 23. – P.10458.

3. Бутягин, П.Ю. Проблемы и перспективы развития механохимии / П.Ю. Бутягин // Успехи химии. – 1994. – Т. 63. – С. 1031–1043.

4. Болдырев, В.В. Фундаментальные основы механической активации, механосинеза и механохимической технологии / В.В. Болдырев, Е.Г. Аввакумов, Е.В. Болдырева, Р.А. Буянов, В.В. Волков, К.Б. Герасимос, А.А. Гусев, Е.Т. Девяткина, А.М. Жижаев, Е.А. Ильинчик, В.И. Итин, Л.А. Исупова, Л.Г. Каракчиев, Е.А. Кириллова и д.р. – Новосибирск: Издательство СО РАН. – 2009. – 343 с.

5. Toda, F. Organic solid-state reactions / F. Toda. – Netherlands: Springer, 2005. – 122 p.

6. Ениколопов, Н.С. Твердофазные химические реакции и новые технологии / Н.С. Ениколопов. // Успехи химии. – 1991. – Т. 60. – С.586–594.

7. Жорин, В.А. Процессы в полимерах и низкомолекулярных веществах, сопровождающие пластическое течение под высоким давлением / В.А. Жорин. // Высокомолекулярные соединения. Серия А. – 1994. – Т. 36. – С. 559–579.

8. Болдырев, В. В. Механохимия и механоактивация твёрдых веществ / В.В. Болдырев. // Успехи химии. – 2006. – Т. 3. – С. 203–216.

9. Прут, Э.В. Химическая модификация и смешение полимеров в экструдере-реакторе /
Э.В. Прут, А.Н. Зеленецкий // Успехи химии. – 2001. – Т. 70. – С.72–87.

10. Li, J. Polymer mechanochemistry: From destructive to productive / J. Li, C. Nagamani, J.S. Moore // Accounts of Chemical Research. – 2015. – V. 48. – P. 2181–2190.

11. Дубинская, А.М. Превращения органических веществ под действием механических напряжений / А.М. Дубинская // Успехи химии. – 1999. – Т. 68. – № 8. – С. 708–724.

12. Савицкая, А.В. Механическая активация сульфамонометоксина при диспергировании
 / А.В. Савицкая, М.Л. Езерский // Коллоидный журнал. – 1991. – Т. 53. – № 6. – 1079–1083.

13. Shakhtshneider, T.P. Phase transformations in sulfathiazole during mechanical activation / T.P. Shakhtshneider, V.V. Boldyrev // Drug Development and Industrial Pharmacy. – 2008. – V. 19. – № 16. – P. 2055–2067.

14. Drexler, R.K. Nanosystems: molecular machinery, manufacturing, and computation. – New York: Wiley, 1992. – 556 p.

15. Ляхов, Н.З. Механохимический синтез органических соединений и композитов с их участием / Н.З. Ляхов, Т.Ф. Григорьева, А.П. Баринова, И.А. Ворсина // Успехи химии. – 2010. – Т. 79. – № 3. – С. 218–233.

16. Dushkin, A.V. Mechanochemical reactions of sold organic-compounds / A.V. Dushkin, E.V.
Nagovitsina, V.V. Boldyrev, A.G. Druganov // Sibirskii Khimicheskii Zhurnal. – 2008. – № 5.
– P. 75–81.

17. Чуев, В.П. Механохимический синтез фталазола / В.П. Чуев, Л.А. Лягина, Е.Ю. Иванов // ДАН СССР. – 1989. – Т. 307. – №. 6. – С. 1429.

18. Душкин А.В. Возможности механохимической технологии органического синтеза и получения новых материалов / А.В. Душкин // Химия в интересах устойчивого развития. – 2004.
– Т. 12. – №. 3. – С. 251–274.

19. Борисов, А. П. Механосинтез ацетилацетонатов 3d-металлов / А.П. Борисов, Л.А. Петрова, В.Д. Махаев // Журнал общей химии. – 1992. – Т. 62. – №. 1. – С. 15 – 17.

20. Королев, К. Г. Использование механической активации для разложения токсичных хлорорганических соединений / К.Г. Королев, А.И. Голованова, Н.Н. Мальцева, О.И. Ломовский, В.Л. Саленко, В.В. Болдырев // Химия в интересах устойчивого развития. – 2003. – Т. 11. – № 3. – С. 499–507.

21. Lomovskiy, I. Mechanochemical and size reduction machines for biorefining / I. Lomovskiy,
A. Bychkov, O. Lomovsky, T. Skripkina // Molecules. – 2020. – V. 25. – № 22. – P. 5345.

22. Mishra, B.A. Review of computer simulation of tumbling mills by the discrete element method: Part I— contact mechanics / B.A. Mishra // Int. J. Miner. Process. – 2003. – V. 71. – P. 73–93.

23. Tangsathitkulchai, C. Effects of slurry concentration and powder filling on the net mill power of a laboratory ball mill / C. Tangsathitkulchai // Powder Technology. – 2003. – V. 137. – № 3. – P. 131–138.

24. Zeng, Y. Monitoring grinding parameters by signal measurements for an industrial ball mill
/ Y. Zeng, E. Forssberg // Int. J. Miner. Process. – 1993. – V. 40. – P. 1–16.

25. Rosenkranz, S. Experimental investigations and modelling of the ball motion in planetary ball mills / S. Rosenkranz, S. Breitung-Faes, A. Kwade // Powder Technology. – 2011. – V. 212. – P. 224–230.

26. Suryanarayana, C. Mechanical alloying and milling / C. Suryanarayana // Prog. Mater. Sci. – 2001. – V. 46. – P. 1–184.

27. Bilke, M. Methane to chloromethane by mechanochemical activation: A selective radical pathway / M. Bilke, P. Losch, O. Vozniuk, A. Bodach, F. Schüth // J. Am. Chem. Soc. – 2019. – V. 141. – P. 11212–11218.

28. Shibata, Y. The preparation of a solid dispersion powder of indomethacin with crospovidone using a twin-screw extruder or kneader / Y. Shibata, M. Fujii, Y. Sugamura, R. Yoshikawa, S. Fujimoto, S. Nakanishi, Y. Motosugi, N. Koizumi, M. Yamada, K. Ouchi, et al. // Int. J. Pharm. – 2009. – V. 365. – P. 53–60.

29. Guy, R. Extrusion cooking: Technologies and applications. – Cambridge, UK: Woodhead Publishing, 2001. – 206 p.

30. Akopova, T.A. Amphiphilic systems based on polysaccharides produced by solid-phase synthesis – A review / T.A. Akopova, T.S. Demina, A.N. Zelenetskii // Fibre Chem. – 2012. – V. 44. – P. 217–220.

31. Gomollón-Bel, F. Ten chemical innovations that will change our world: IUPAC identifies emerging technologies in chemistry with potential to make our planet more sustainable / F. Gomollón-Bel // Chem. Int. -2019. -V.41. -P. 12–17.

32. Dushkin, A.V. Mechanochemical synthesis of organic compounds and rapidly soluble materials / A.V. Dushkin et. al. // High-energy ball milling. – Sawston, UK: Woodhead Publishing Limited, 2010. – P. 224–247.

33. Dushkin, A.V. About the mechanism of membrane permeability enhancement by substances in their intermolecular complexes with polysaccharide arabinogalactan from larches Larix sibirica and Larix gmelinii / A.V. Dushkin, Y.S. Chistyachenko, D.A. Komarov, M.V. Khvostov, T.G. Tolstikova, I.F. Zhurko, I.A. Kirilyuk, I.A. Grigor'ev, N.Z. Lyakhov // Dokl. Biochem. Biophys. – 2015. V. 460. – P. 9–12.

34. Dushkin, A.V. Mechanochemical preparation and pharmacological activities of watersoluble intermolecular complexes of arabinogalactan with medicinal agents / A.V. Dushkin, E.S. Meteleva, T.G. Tolstikova, G.A. Tolstikov, N.E. Polyakov, N.A. Neverova, E.N. Medvedeva, V.A. Babkin // Russ. Chem. Bull. – 2008. – V. 57. – P. 1299–1307.

35. Polyakov, N.E. Water soluble complexes of carotenoids with arabinogalactan / N.E. Polyakov, T.V. Leshina, E.S. Meteleva, A.V. Dushkin, T.A. Konovalova, L.D. Kispert // J. Phys. Chem. B. – 2009. – V. 113. – P. 275–282.

36. Su, W. Preparation of astaxanthin micelles self-assembled by a mechanochemical method from hydroxypropyl β -cyclodextrin and glyceryl monostearate with enhanced antioxidant activity / W. Su, N.E. Polyakov, W. Xu, W. Su // Int. J. Pharm. – 2021. – V. 605. – P. 120799.

37. Wei, W. Solubility, permeability, anti-inflammatory action and in vivo pharmacokinetic properties of several mechanochemically obtained pharmaceutical solid dispersions of nimesulide / W. Wei, V.I. Evseenko, M.V. Khvostov, S.A. Borisov, T.G. Tolstikova, N.E. Polyakov, A.V. Dushkin, W. Xu, L. Min, W. Su // Molecules. – 2021. – V. 26. – P. 1513.

38. Khvostov, M.V. Effect of complexation with arabinogalactan on pharmacokinetics of «guest» drugs in rats: For example, warfarin / M.V. Khvostov, A.A. Chernonosov, T.G. Tolstikova, M.F. Kasakin, O.S. Fedorova, A.V. Dushkin // BioMed Res. Int. – 2013. – V. 2013. – P. 156381.

39. Chistyachenko, Y.S. Polysaccharide arabinogalactan from larch Larix sibirica as carrier for molecules of salicylic and acetylsalicylic acid: Preparation, physicochemical and pharmacological study / Y.S. Chistyachenko, A.V. Dushkin, N.E. Polyakov, M.V. Khvostov, T.G. Tolstikova, G.A. Tolstikov, N.Z. Lyakhov // Drug Deliv. – 2015. – V. 22. – P. 400–407.

40. Apanasenko, I.E. Solubilization and stabilization of macular carotenoids by water soluble oligosaccharides and polysaccharides / I.E. Apanasenko, O.Y. Selyutina, N.E. Polyakov, L.P. Suntsova, E.S. Meteleva, A.V. Dushkin, P. Vachali, P.S. Bernstein // Arch. Biochem. Biophys. – 2015. – V. 572. – P. 58–65.

41. Dushkin, A.V. Pharmacological and physicochemical properties of mechanochemically synthesized supramolecular complexes of acetylsalicylic acid and polysaccharide arabinogalactan from lrches Larix sibirica and Larix gmelinii / A.V. Dushkin, Y.S. Chistyachenko, T.G. Tolstikova, M.V. Khvostov, N.E. Polyakov, N.Z. Lyakhov, G.A. Tolstikov // Dokl. Biochem. Biophys. – 2013. – V. 451. – P. 180–182.

42. Xu, W. Mechanochemical preparation of kaempferol intermolecular complexes for enhancing the solubility and bioavailability / W. Xu, M. Wen, J. Yu, Q. Zhang, N.E. Polyakov, A.V. Dushkin, W. Su // Drug Dev. Ind. Pharm. – 2018. – V. 44. – P. 1924–1932.

43. Zhang, Q. Preparation, physicochemical and pharmacological study of curcumin solid dispersion with an arabinogalactan complexation agent / Q. Zhang, L. Suntsova, Y.S. Chistyachenko, V. Evseenko, M.V. Khvostov, N.E. Polyakov, A.V. Dushkin, W. Su // Int. J. Biol. Macromol. – 2019.
– V. 128. – P. 158–166.

44. Khvostov, M.V. Supramolecular complex of ibuprofen with larch polysaccharide arabinogalactan: Studies on bioavailability and pharmacokinetics / M.V. Khvostov, S.A. Borisov, T.G. Tolstikova, A.V. Dushkin, B.D. Tsyrenova, Y.S. Chistyachenko, N.E. Polyakov, G.G. Dultseva, A.A. Onischuk, S.V. An'kov // Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. – 2017. – V. 42. – P. 431–440.

45. Musayev, M.B. The effectiveness of supramolecular complxes of triclabendazole with polymers against Fasciolata / M.B. Musayev, M.V. Milenina, I.A. Arkhipov, S.S. Khalikov, F.S. Mikhalitsyn, A.I. Varlamova // Russ. J. Parasitol. -2017. - V. 41. - P. 271-276.

46. Kuznetsova, S.A. Preparation and antitumor activity of betulin dipropionate and its composites / S.A. Kuznetsova, T.P. Shakhtshneider, M.A. Mikhailenko, Y.N. Malyar, A.S. Kichkailo, V.A. Drebushchak, B.N. Kuznetsov // Biointerface Res. Appl. Chem. – 2021. – V. 12. – P. 6873–6894.

47. Babkin, V.A. Mechanical composites of rimantadine and larch arabinogalactan / V.A. Babkin, E.N. Medvedeva, N.A. Neverova, A.A. Levchuk, A.N. Sapozhnikov // Chem. Nat. Compd. – 2014. – V. 50. – P. 225–229.

48. Neverova, N.A. Synthesis and investigation of the physicochemical properties of mechanocomposites of arabinogalactan with cyclophosphamide / N.A. Neverova, E.N. Medvedeva, V.A. Babkin, L.I. Larina, A.N. Sapozhnikov, A.A. Levchuk, S.G. Kuzmin // Russ. J. Bioorg. Chem. – 2019. – V. 45. – P. 876–881.

49. Неверова, Н.А. Исследование физико-химических свойств механообработанного арглабина и его механокомпозитов на основе арабиногалактана / Н.А. Неверова, А.Н. Жабаева, А.А. Левчук, В.А. Бабкин, А.Р. Бейсенбаев, Л.И. Ларина, А.Н. Сапожников, С.М. Адекенов // Химия растительного сырья. – 2019. – № 4. – Р. 105–112.

50. Koptyaeva, E.I. Solid-phase mechanochemical synthesis of arabinogalactan and chlorsulfuron complexes / E.I. Koptyaeva, A.A. Fatykhov, S.P. Ivanov, V.V. Maslennikova, N.V. Berezina, R.K. Mudarisova // Russ. J. Appl. Chem. – 2012. – V. 85. – P. 788–793.

51. Selyutina, O.Y. Natural poly- and oligosaccharides as novel delivery systems for plant protection compounds / O.Y. Selyutina, I.E. Apanasenko, S.S. Khalikov, N.E. Polyakov // J. Agric. Food Chem. – 2017. – V. 65. – P. 6582–6587.

52. Selyutina, O.Y. Arabinogalactan and glycyrrhizin based nanopesticides as novel delivery systems for plant protection / O.Y. Selyutina, S.S. Khalikov, N.E. Polyakov // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2020. – V. 27. – P. 5864–5872.

53. Malyar, Y.N. Microwave-assisted synthesis and antitumor activity of the supramolecular complexes of betulin diacetate with arabinogalactan / Y.N. Malyar, M.A. Mikhailenko, N.A. Pankrushina, A.N. Mikheev, I.V. Eltsov, S.A. Kuznetsova, A.S. Kichkailo, T.P. Shakhtshneider // Chem. Pap. – 2018. – V. 72. – P. 1257–1263.

54. Mudarisova, R.K. Solid-phase modification of chitosan, pectin, and arabinogalactan with poorly soluble herbicide chlorsulfuron / R.K. Mudarisova, E.I. Koptyaeva, L.A. Badykova // Polym. Sci. Ser. B. – 2017. – V. 59. – P. 570–576.

55. Lipatova, I.M. Rutin-containing chitosan films produced using in situ mechanoactivated precipitation process / I.M. Lipatova, L.I. Makarova, A.A. Yusova // Food Hydrocoll. – 2021. – V. 110. – P. 106157.

56. Zhorin, V.A. Thermostimulated processes in starch-bis(hydroxymethyl)propionic acid mixtures subjected to high-pressure plastic deformation / V.A. Zhorin, M.R. Kiselev, A.N. Zelenetskii, T.A. Akopova // Polym. Sci. Ser. A. – 2010. – V. 52. – P. 835–841.

57. Zhorin, V.A. A DSC study of the endothermic process, associated with hydrogen bonding, in polysaccharides after high-pressure plastic deformation / V.A. Zhorin, M.R. Kiselev // High Energy Chem. – 2020. – V. 54. – P. 263–269.

58. Rogovina, S. Biodegradable blends of cellulose with synthetic polymers and some other polysaccharides / S. Rogovina, K. Aleksanyan, E. Prut, A. Gorenberg // Eur. Polym. J. – 2013. – V. 49. – P. 194–202.

59. Ivantsova, E.L. Poly(3-hydroxybutyrate)-chitosan: A new biodegradable composition for prolonged delivery of biologically active substances / E.L. Ivantsova, A.L. Iordanskii, R.Y. Kosenko, S.Z. Rogovina, A.V. Grachev, E.V. Prut // Pharm. Chem. J. – 2011. – V. 45. – P. 51.

60. Rogovina, S.Z. Composites based on starch and polylactide / S.Z. Rogovina, E.V. Prut, K.V. Aleksanyan, V.G. Krasheninnikov, E.O. Perepelitsina, D.P. Shashkin, A.A. Berlin // Polym. Sci. Ser. B. – 2019. – V. 61. – P. 334–340.

61. Zhorina, L.A. Preparation and study of the properties of compositions based on crumb rubber and natural polysaccharides / L.A. Zhorina, O.P. Kuznetsova, S.Z. Rogovina, L.V. Vladimirov, E.V. Prut // Polym. Sci. Ser. D. – 2020. – V. 13. – P. 329–334.

62. Aleksanyan, K.V. Novel biodegradable low-density polyethylene–poly(lactic acid)–starch ternary blends / K.V. Aleksanyan, S.Z. Rogovina, N.E. Ivanushkina // Polym. Eng. Sci. – 2021. – V.61. – P. 802–809.

63. Razumovskii, S.D. Mechanochemical methods of activating processes of biomass pretreatment / S.D. Razumovskii, V.V. Podmaster'ev, A.N. Zelenetskii // Catal. Ind. – 2011. – V.3. – P. 23–27.

64. Hamed I., Özogul F., Regenstein J.M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review / I. Hamed, F. Özogul, J.M. Regenstein // Trends Food Sci. Technol. – 2016. – V. 48. – P. 40–50.

65. Mima, S. Highly deacetylated chitosan and its properties / S. Mima, M. Miya, R. Iwamoto,
S. Yoshikawa // J. Appl. Polym. Sci. – 1983. – V. 28. – P. 1909–1917.

66. Pillai, C.K.S. Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation / C.K.S. Pillai, W. Paul, C.P. Sharma // Progress in Polymer Science. – 2009. – V. 34. – № 7. – P. 641.

67. Knidri, E.H. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan: A review / E.H. Knidri, R. Belaabed, A. Addaou, A. Laajeb, A. Lahsini // International Journal of Biological Macromolecules. – 2018. – V. 120. – P. 1181–1189.

68. Скрябина, К.Г. Хитозан / К.Г. Скрябина, С.Н. Михайлова, В.П. Варламова. – М.: Центр «Биоинженерия» РАН, 2013. – 384 с. 69. Штильман, М.И. Технология полимеров медико-биологического назначения. Полимеры природного происхождения // М.И. Штильман, А.В. Подкорытова, С.В. Немцев, В.Н. Кряжев. – М: Лаборатория знаний, 2016. – 331 с.

70. Филиппова О.Е. Хитозан и его гидрофобные производные: Получение и агрегация в разбавленных водных растворах / О.Е. Филиппова, Е.В. Корчагина // Высокомолекулярные соединения. Серия А. – 2012. – Т. 54. – № 7. – С. 552–572.

71. Akopova, T.A. Solid state synthesis and modification of chitosan / T.A. Akopova, A.N. Zelenetskii, A.N. Ozerin. // Focus on chitosan research. – New York, USA: Nova Science Publishers, 2012. – P. 223–254.

72. Rogovina, S.Z. Investigation of properties of chitosan obtained by solid-phase and suspension methods // S.Z. Rogovina, T.A. Akopova, G.A. Vikhoreva // J. Appl. Polym. Sci. – 1998. – V. 70. – P. 927–933.

73. Mogilevskaya, E.L. The crystal structure of chitin and chitosan // E.L. Mogilevskaya, T.A. Akopova, A.N. Zelenetskii, A.N. Ozerin // Polym. Sci. Ser. A. – 2006. – V. 48. – P. 116–123.

74. Venugopal, V. Marine Polysaccharides: Food applications / V. Venugopal. – New York, USA: CRC Press, 2016. – 396 p.

75. Popyrina T.N. Polysaccharide-based films: from packaging materials to functional food /
T.N. Popyrina, T.S. Demina, T.A. Akopova // Journal of Food Science and Technology. – 2023. – V.
60. – P. 2736–2747.

76. Kumirska, J. Biomedical activity of chitin/chitosan-based materials influence of physicochemical properties apart from molecular weight and degree of N-Acetylation / J. Kumirska, M.X. Weinhold, J. Thöming, P. Stepnowski // Polymers. – 2011. – V. 3. – № 4. – P. 1875–1901.

77. Razmi, F.A. Kinetics, thermodynamics, isotherm and regeneration analysis of chitosan modified pandan adsorbent / F.A. Razmi, N. Ngadi, S. Wong, I.M. Inuwa, L.A. Opotu // J. Clean. Prod. – 2019. – V. 231. – P. 98–109.

78. Wang, W. Chitosan derivatives and their application in biomedicine / W. Wang, Q. Meng,
Q. Li, J. Liu, M. Zhou, Z. Jin, K. Zhao // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – V. 21.
– № 2. – P. 487.

79. Tien, C.L. N-acylated chitosan: Hydrophobic matrices for controlled drug release / C.L. Tien,
M. Lacroix, P. Ispas-Szabo, M.J. Mateescu // Control Release. – 2003. – V. 93. – № 1. – P. 1–13

80. Rodrigues, M.R. Synthesis and investigation of chitosan derivatives formed by reaction with acyl chlorides / M.R. Rodrigues // J. Carbohyd. Chem. $-2005. - V. 24. - N_{\odot} 1. - P. 41-54.$

81. Hu, Y. Self-aggregation and antibacterial activity of N-acylated chitosan / Y. Hu, Y. Du, J.
Yang, Y. Tang, J. Li, X. Wang // Polymer. - 2007. - V. 48. - № 11. - P. 3098-3106.

82. Wang, X. Antibacterial porous sponge fabricated with capric acid-grafted chitosan and oxidized dextran as a novel hemostatic dressing / X. Wang, Q. Dang, C. Liu, G. Chang, H. Song, Q. Xu, Y. Ma, B. Li, B. Zhang, D. Cha // Carbohyd. Polym. – 2022. – V. 277. – P. 118782.

83. Dimassi, S. Sulfonated and sulfated chitosan derivatives for biomedical applications: A review / S. Dimassi, N. Tabary, F. Chai, N. Blanchemain, B. Martel // Carbohydrate Polymers. – 2018.
– V. 202. – P. 382–396.

84. Alves, N.M. Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications / N.M. Alves, J.F. Mano // Int. J. Biol. Macromol. – 2008. – V. $43. - N_{\odot} 5. - P. 401-414.$

85. Mati-Baouche, N. Alkyl-chitosan-based adhesive: Water resistance improvement / N. Mati-Baouche, C. Delattre, H. de Baynast, M. Grédiac, J.D. Mathias, A.V. Ursu, J. Desbrières, P. Michaud // Molecules. – 2019. – V. 24. – № 10. – P. 1987

86. Paula, H.C.B. Eco-friendly synthesis of an alkyl chitosan derivative / H.C.B. Paula, R.B.C.
Silva, C.M. Santos, F.D.S. Dantas, R.C.M. de Paula, L.R.M. de Lima, E.F. de Oliveira, E.A.T.
Figueiredo, G.B. Flayanna // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – V. 163.
– P. 1591–1598.

87. Pei, L. Synthesis and antibacterial activity of alkylated chitosan under basic ionic liquid conditions / Pei, L. Z. Cai, S. Shang, Z. Song // J. Appl. Polym. Sci. – 2014. – V. 131. – P. 40052.

88. Попырина, Т.Н. Влияние химической структуры сополимеров хитозана с олиголактидами на морфологию и свойства макропористых гидрогелей на их основе / Т.Н. Попырина, Е.А. Свидченко, Т.С. Демина, Т.А. Акопова, А.Н. Зеленецкий // Высокомолекулярные соединения. Серия Б. – 2021. – Т. 6. – №5. – С. 345–353.

89. Rogovina, S.Z. Reactions of chitosan with solid carbonyl-containing compounds under shearing deformation conditions / S.Z. Rogovina, G.A. Vikhoreva, T.A. Akopova, I.N. Gorbacheva, S.N. Zelenetsky // Mendeleev Commun. – 1998. – V. 8. – P. 107–109.

90. Demina, T.S. The study of the interaction between chitosan and 2,2bis(hydroxymethyl)propionic acid during solid-phase synthesis / T.S. Demina, T.A. Akopova, L.V. Vladimirov, A.N. Shchegolikhin, A.S. Kechek'yan, N.S. Perov, A.O. Chernyshenko, A.N. Zelenetskii // Polym. Sci. Ser. B. – 2011. – V. 53. – P. 358–370.

91. Rogovina, S.Z. Solid state production of cellulose-chitosan blends and their modification with the diglycidyl ether of oligo(ethylene oxide) / S.Z. Rogovina, T.A. Akopova, G.A. Vikhoreva, I.N. Gorbacheva // Polym. Degrad. Stab. – 2001. – V. 73. – P. 557–560.

92. Akopova, T.A. Solvent-free synthesis and characterization of allyl chitosan derivatives / T.A.
Akopova, T.S. Demina, G.V. Cherkaev, M.A. Khavpachev, K.N. Bardakova, A.V. Grachev, L.V.
Vladimirov, A.N. Zelenetskii, P.S. Timashev // RSC Adv. – 2019. – V.9. – P. 20968–20975.

93. Bardakova, K.N. From aggregates to porous three-dimensional scaffolds through a mechanochemical approach to design photosensitive chitosan derivatives / K.N. Bardakova, T.A. Akopova, A.V. Kurkov, G.P. Goncharuk, D.V. Butnaru, V.F. Burdukovskii, A.A. Antoshin, I.A. Farion, T.M. Zharikova, A.B. Shekhter, V.I. Yusupov, P.S. Timashev, Y.A. Rochev // Mar. Drugs. – 2019. – V. 17. – N_{2} 1. – P. 48.

94. Akopova, T.A. Solid-state synthesis of amphiphilic chitosan-polyethylene systems by the maleinization of both components / T.A. Akopova, L.V. Vladimirov, V.A. Zhorin, A.N. Zelenetskii // Polym. Sci. Ser. B. – 2009. – V. 51. – P. 124–134.

95. Akopova, T.A. A novel approach to design chitosan-polyester materials for biomedical applications / T.A. Akopova, T.S. Demina, A.N. Shchegolikhin, T.S. Kurkin, C. Grandfils, N.S. Perov, A.S. Kechekyan, A.N. Zelenetskii // Int. J. Polym. Sci. – 2012. – V. 2012.

96. Demina, T.S. Chitosan-g-polyester microspheres: Effect of length and composition of grafted chains / T.S. Demina, C. Sevrin, C. Kapchiekue, T.A. Akopova, C. Grandfils // Macromol. Mater. Eng. – 2019. V. 304. – № 10. – P. 1900203.

97. Demina, T.S. Chitosan-g-oligo/polylactide copolymer non-woven fibrous mats containing protein: from solid-state synthesis to electrospinning / T.S. Demina, A.S. Kuryanova, N.A. Aksenova, A.G. Shubnyy, T.N. Popyrina, Y.V. Sokovikov, E.V. Istranova, P.L. Ivanov, P.S. Timashev, T.A. Akopova // RSC Advances. – 2019. – V. 9. – P. 37652–37659.

98. Ruan, H. Polysaccharide-based antibacterial coating technologies / H. Ruan, A. Aulova, V.
Ghai, S. Pandit, M. Lovmar, I. Mijakovic, R. Kádár // Acta Biomaterialia. – 2023. – V. 168. – P. 42–77.

99. Tolstova, T. Preparation and in vitro evaluation of chitosan-g-oligolactide based films and macroporous hydrogels for tissue engineering / T. Tolstova, M. Drozdova, T. Popyrina, D. Matveeva, T. Demina, T. Akopova, E. Andreeva, E. Markvicheva // Polymers. – 2023. – V.15. – № 4. – P. 907.

100. Escárcega-Galaz, A.A. Mechanical, structural and physical aspects of chitosan-based films as antimicrobial dressings / A.A. Escárcega-Galaz, D.I. Sánchez-Machado, J. López-Cervantes, A. Sanches-Silva, T.J. Madera-Santana, P. Paseiro-Losada // International Journal of Biological Macromolecules. – 2018. – V. 116. – P. 472–481.

101. Mir, S. Thermal, rheological, mechanical and morphological behavior of HDPE/chitosan blend / S. Mir, T. Yasin P.J. Halley, H.M. Siddiqi, T. Nicholson // Carbohydr. Polym. – 2011. – V. 83. – № 2. – P. 414–421.

102. Sirajudheen, P. Applications of chitin and chitosan based biomaterials for the adsorptive removal of textile dyes from water – A comprehensive review / P. Sirajudheen, N.C. Poovathumkuzhi, S. Vigneshwaran, B.M. Chelaveettil, S. Meenakshi // Carbohydrate Polymers. – 2021. – V. 273. – P. 118604.

103. Sarode, S. Overview of wastewater treatment methods with special focus on biopolymer chitin-chitosan / S. Sarode, P. Upadhyay, M.A. Khosa, T. Mak, A. Shakir, S. Song, A. Ullah // International Journal of Biological Macromolecules. – 2019. – V. 121. – P. 1086–1100.

104. Saheed, I.O. Chitosan modifications for adsorption of pollutants – A review / I.O. Saheed,
O.W. Da, F.B.M. Suah // Journal of Hazardous Materials. – 2021. – V. 408. – P. 124889.

105. Salmah, H. Properties of recycled polyethylene/chitosan composites: the effect of polyethylene-graft-maleic anhydride / H. Salmah, A.N. Azieyanti // J. Reinf. Plast. Compos. – 2011. – V. $30. - N_{\odot} 3. - P. 195-202.$

106. Faisal, A. Effect of sodium dodecyl sulfate on mechanical and thermal properties of polypropylene/chitosan composites / A. Faisal, H. Salmah, H. Kamarudin // Journal of Thermoplastic Composite Materials. $-2013. - V. 26. - N_{\odot} 7. - P. 878 - 892.$

107. Salmah H., Faisal A., Kamarudin H. Chemical modification of chitosan-filled polypropylene (PP) composites: The effect of 3-aminopropyltriethoxysilane on mechanical and thermal properties // International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials. -2011. - V. 60. $- N_{\odot} 7. - P. 429-440.$

108. Demina T.S. Materials based on protein-contained chitosan-g-oligo-/polylactide copolymers synthesized through mechanochemical approach / T.S. Demina, T.N. Popyrina, A.S. Kuryanova, E.V. Istranova, C. Grandfils, P.S. Timashev, T.A. Akopova // Materials Today: Proceedings. – 2020. – V. 25. – P. 490–492.

109. Demina, T.S. Electrospinning vs. electro-assisted solution blow spinning for fabrication of fibrous scaffolds for tissue engineering / T.S. Demina, E.N. Bolbasov, M.A. Peshkova, Y.M. Efremov, P.Y. Bikmulina, A.V. Birdibekova, T.N. Popyrina, N.V. Kosheleva, S.I. Tverdokhlebov, P.S. Timashev, T.A. Akopova // Polymers. – 2022. – V. 14. – № 23. – P. 5254.

110. Иноземцева, О.А. Электроформование функциональных материалов для биомедицины и тканевой инженерии / О.А. Иноземцева, Ю.Е. Сальковский, А.Н. Северюхина, И.В. Видяшева, Н.В. Петрова, Х.А. Метвалли, И.Ю. Стецюра, Д.А. Горин // Успехи химии. – 2015. – Т. 84. – № 3. – С. 251–274.

111. Ramakrishna, S. An introduction to electrospinning and nanofibers / S. Ramakrishna,K. Fujihara, W.E. Teo, T.C. Lim, M. Zuwei. – Singapoor: World Scientific, 2005. – 396 p.

112. Akbari, S. Emulsion types, stability mechanisms and rheology: A review / S. Akbari // International Journal of Innovative Research and Scientific Studies. – 2018. – V. 1. – № 1. – P. 14–21.

113. Bouyer, E. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? / E. Bouyer, G. Mekhloufi, V. Rosilio, J.L. Grossiord, F. Agnely // Int J Pharm. – 2012. – V. 436, – N_{2} 1–2. – P. 359–378. 114. Calero, N. Influence of chitosan concentration on the stability, microstructure and rheological properties of O/W emulsions formulated with high-oleic sunflower oil and potato protein / N. Calero, J. Muños, P.W. Cox, A. Heuer, A. Guerro // Food Hydrocolloids. – 2013. – V.30. – No. 1. – P.152–162.

115. Klinkesorn, U. Influence of chitosan and NaCl on physicochemical properties of low-acid tuna oil-in-water emulsions stabilized by non-ionic surfactant / U. Klinkesorn, Y. Namatsila // Food hydrocolloids. – 2009. – V.23. – No. 5. – P. 1374–1380.

116. Speiciene, V. The effect of chitosan on the properties of emulsions stabilized by whey proteins / V. Speiciene, F. Guilmineau, U. Kulozik, D. Leskauskaite // Food Chemistry. – 2007. – V.102. – No. 4. – P. 1048–1054.

117. Rodriguez, M.S. Emulsification capacity of chitosan / M.S. Rodriguez, L.A. Albertengo,
E. Agullo // Carbohydrate polymers. - 2002. - V. 48. - No. 3. - P. 271-276.

118. O'Donnell, P.B. Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique / P.B. O'Donnell, J.W. McGinity // Adv. Drug. Deliv. Rev. – 1997. – V. 28. – № 1. – P. 25–42.

119. Жаворонок, Е.С. Полимерные микрочастицы для медицины и биологии / Е.С. Жаворонок, С.А. Кедик, А.В. Панов. – М.: Издательство ИФТ, 2014. – 477 с.

120. Demina T.S. Polysaccharides as stabilizers for polymeric microcarriers fabrication /
T.S. Demina, L.A. Kilyashova, T.N. Popyrina, E.A. Svidchenko, S. Bhuniya, T.A. Akopova,
Ch. Grandfils // Polymers. - 2021. - V. 13. - № 18. - P. 3045.

121. Demina T.S. Polylactide microparticles stabilized by chitosan graft-copolymer as building blocks for scaffold fabrication via surface-selective laser sintering / T.S. Demina, T.N. Popyrina, E.D. Minaeva, A.A. Dulyasova, S.A. Minaeva, R. Tilkin, V.I. Yusupov, C. Grandfils, T.A. Akopova, N.V. Minaev, P.S. Timashev // Journal of Materials Research. – 2022. – V. 37. – № 4. – P. 933–942.

122. Vo, T.N. Strategies for controlled delivery of growth factors and cells for bone regeneration
/ T.N. Vo, F.K. Kasper, N.G. Mikos // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2012. – V. 64. – № 12.
– P. 1292–1309.

123. Demina T.S. Two-photon-induced microstereolithography of chitosan-goligolactides as a function of their stereochemical composition / T.S. Demina, K.N. Bardakova, N.V. Minaev, E.A. Svidchenko, A.V. Istomin, G.P. Goncharuk, L.V. Vladimirov, A.V. Grachev, A.N. Zelenetskii, P.S. Timashev, T.A. Akopova // Polymers. – 2017. – V. 9. – № 7. – P. 302.

124. Bardakova K.N. Reinforced hybrid collagen sponges for tissue engineering / K.N. Bardakova, E.A. Grebenik, E.V. Istranova, L.P. Istranov, Y.V. Gerasimov, A.G. Grosheva, T.M. Zharikova, N.V. Minaev, B.S. Shavkuta, D.S. Dudova, S.V. Kostyuk, N.N. Vorob'eva, V.N. Bagratashvili, P.S. Timashev, R.K. Chailakhyan // Bull. Exp. Biol. Med. – 2018. – V. 165. – P. 142–147.

125. Демина, Т.С. Твердофазное модифицирование хитозана мономерными и полимерными гидроксикарбоновыми кислотами: дисс. к.х.н.: 02.00.06. / Демина Татьяна Сергеевна. – М., 2013. – 140 с.

126. Аверко-Антонович, И.Ю. Методы исследования структуры и свойств полимеров / И.Ю. Аверко-Антонович, Р.Т. Бикмуллин. – Казань: КГТУ, 2002. – 604 с.

127. Antonov, E.N. Surface-selective laser sintering of thermolabile polymer particles using water as heating sensitizer / E.N. Antonov, L.I. Krotova, N.V Minaev, S.A. Minaeva, A.V Mironov, V.K. Popov, V.N. Bagratashvili // Quantum Electronics. – 2015. – V. 45. – № 11. – P. 1023–1028.

128. Kanczler, J.M. Biocompatibility and osteogenic potential of human fetal femur-derived cells on surface selective laser sintered scaffolds / J.M. Kanczler, N.A. Mirmalek-Sani, S.H. Hanley, A.L. Ivanov, J.J.A. Barry, C. Upton, K.M. Shakesheff, S.M. Howdle, E.N. Antonov, V.N. Bagratashvili, V.K. Popov, R.O.C. Oreffo // Acta. Biomater. – 2009. – V. 5. – P. 2063.

129. Antonov, E.N. Fabrication of polymer scaffolds for tissue engineering using surface selective laser sintering / E.N. Antonov, V.N. Bagratashvili, S.M. Howdle, A.N. Konovalov, V.K. Popov, V.Ya. Panchenko // Laser Phys. – 2006. – V. 16. – P. 774–787.

130. Gamzazade, A.I. Study of the hydrodynamic properties of chitosan solutions / A.I.
Gamzazade, V.M. Shlimak, A.M. Sklar, E.V. Shtykova, S.A. Pavlova, S.V. Rogozhin // Acta Polym.
- 1985. - V. 36. - P. 420-424.

131. Матвеева В.Г. / В.Г. Матвеева, Б.Б. Тихонов, П.Ю. Стадольникова, Д.Р. Лисичкин,
О.В. Манаенков, М.Г. Сульман // Вестник Тверского государственного университета. Серия «Химия». – 2022. – Т. 49. – № 3. – С. 13–20.

132. Brugnerotto, J. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization / J. Brugnerotto, J. Lizardi, F.M. Goycoolea, W. Argüelles-Monal, J. Desbrières, M. Rinaudo // Polymer. – 2001. – V. 42. – P. 3569–3580.

133. Pearson, F.G. Infrared spectra of crystalline polysaccharides. V. Chitin / F.G. Pearson,
R.H. Marchessault, C.Y. Liang // J. Polym. Sci. – 1960. – V.43. – P. 101–116.

134. Duarte, M.L. An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy / M.L. Duarte, M.C. Ferreira, M.R. Marvao, J. Rocha // Int. J. Biol. Macromol. – 2002. – V. 31. – P. 1–8.

135. Bellamy, L.J. The infra-red spectra of complex molecules / L.J. Bellamy. – London, UK: Methuen, 1964. – 425 p.

136. Демина, Т.С. Материалы биомедицинского назначения на основе механохимически модифицированного хитозана: дисс. д.х.н.: 1.4.7. / Демина Татьяна Сергеевна. – М., 2021. – 307 с.

137. Рахманкулов, Д.Л. Физические и химические свойства глицерина / Д.Л. Рахманкулов, Б.Х. Кимсанов, Р.Р. Чанышев. – М.: Химия, 2003. – 200 с.

138. Akopova T.A. Hydrophobic modification of chitosan via reactive solvent-free extrusion /
T.A. Akopova, T.S. Demina, M.A. Khavpachev, T.N. Popyrina, A.V. Grachev, P.L. Ivanov, A.N.
Zelenetskii // Polymers. - 2021. - V.13. - P. 2807.

139. Korchagina, E.V. Effects of hydrophobic substituents and salt on core-shell aggregates of hydrophobically modified chitosan: Light scattering study / E.V. Korchagina, O.E. Philippova // Langmuir. - 2012. - V. 28. - № 20. - P. 7880-7888.

140. Зоткин, М.А. Термомодификация хитозановых пленок в форме солей с различными кислотами / М.А. Зоткин, Г.А. Вихорева, А.С. Кечекьян // Высокомолекулярные соединения. Серия С. – 2004. – V. 46. – № 2. – Р. 359–363.

141. Popyrina T.N. Morphology and physical-chemical properties of composite materials based on polyolefins and chitosan / T.N. Popyrina, M.A. Khavpachev, P.L. Ivanov, K.Z. Monakhova, I.O. Kuchkina, Yu.M. Evtushenko, G.P. Goncharuk, A.N. Zelenetskii // Polymer Science. Series C. – 2024. Принято к публикации.

142. Corazzari, I. Advanced physico-chemical characterization of chitosan by means of TGA coupled on-line with FTIR and GCMS: Thermal degradation and water adsorption capacity / I. Corazzari, R. Nisticò, F. Turci, M.G. Faga, F. Franzoso, S. Tabasso, G. Magnacca // Polym. Degrad. Stab. – 2015. – V. 112. – P. 1–9.

143. de Britto, D. Kinetics of the thermal degradation of chitosan / D. de Britto, S.P. Campana-Filho // Thermochim. Acta. – 2007. – V. 465. – № 1–2. – P. 73–82.

144. Del Blanco, L. Influence of the deacetylation degree on chitosan emulsification properties /
L. Del Blanco, M. Rodriguez, P. Schulz, E. Agulló // Colloid. Polym. Sci. – 1999. – V. 277. – P. 1087–
1092.

145. Ziegelmeier, S. An experimental study into the effects of bulk and flow behaviour of laser sintering polymer powders on resulting part properties / S. Ziegelmeier, P. Christou, F. Wöllecke, C. Tuck, R. Goodridge, R. Hague, E. Krampe, E. Wintermantel // J. Mater. Process. Technol. – 2015. – V. 215. – P. 239–250.