

На правах рукописи

**Попырина Татьяна Николаевна**

**Механохимический синтез гидрофобизированных производных  
хитозана и получение материалов на их основе**

1.4.7. Высокомолекулярные соединения

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва – 2024

Работа выполнена в лаборатории твердофазных химических реакций (отдел биополимеров) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова Российской академии наук (ИСПМ РАН).

|                               |                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Научный руководитель:</b>  | <b>Демина Татьяна Сергеевна</b> , доктор химических наук, старший научный сотрудник лаборатории твердофазных химических реакций ИСПМ РАН, г. Москва                             |
| <b>Официальные оппоненты:</b> | <b>Критченков Андрей Сергеевич</b> , доктор химических наук, профессор департамента экологии человека и биоэлементологии Института экологии РУДН, г. Москва                     |
|                               | <b>Дебердеев Тимур Рустамович</b> , доктор технических наук, профессор, генеральный директор ООО «Завод пластиковых деталей», г. Калининград                                    |
| <b>Ведущая организация:</b>   | Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения Российской академии наук (ИХТТМ СО РАН), г. Новосибирск. |

Защита состоится «26» декабря 2024 г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.116.01 (Д 002.085.01) при ИСПМ РАН по адресу: 117393, г. Москва, ул. Профсоюзная, д. 70.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИСПМ РАН и на сайте института: <https://ispm.ru/>

Автореферат диссертации разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.116.01 (Д 002.085.01)

доктор химических наук



Борщев О.В.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### 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 биodeградации, 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 формирования 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 поверхностно-селективного лазерного спекания.

#### **Научная новизна диссертационной работы:**

1. 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.
2. Выявлена взаимосвязь химической структуры и растворимости производных хитозана, синтезированных путем его механохимического взаимодействия с алкилглицидиловыми эфирами.
3. Впервые изучена способность полученных алкилпроизводных к формированию пленочных материалов и показана возможность использования их в качестве наполнителя для полиолефиновых пленок.
4. 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 расплавленным 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.**

Методологическая база включает использование методики твердофазного механохимического синтеза для создания гидрофобизированных производных хитозана с разной длиной привитых фрагментов. Химическую структуру полученных производных подтверждали с помощью методов: потенциометрического 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 смесителя Брабендера, электроформование, 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:**

1. Механохимическая обработка хитозана с глицидиловыми эфирами гексадекана и доказана 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.
2. 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 аморфно-кристаллического 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 FF5M-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 многих международных и российских научных конференциях. По материалам диссертации опубликовано 10 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК и индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science.

### 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.

## **Раздел 3.1. Механохимический синтез гидрофобизированных производных хитозана**

### **Алкилированные производные**

Впервые при помощи механохимического синтеза в двухшнековом экструдере проведено алкилирование образцов хитозана с разной молекулярной массой (80 кДа, 140 кДа, 350 кДа) глицидиловыми эфирами разной длины - докозана (C22) и гексадекана (C16) (рис.1).

#### **Продукты**

механохимической обработки были отмыты от непрореагировавших компонентов ацетоном и 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.

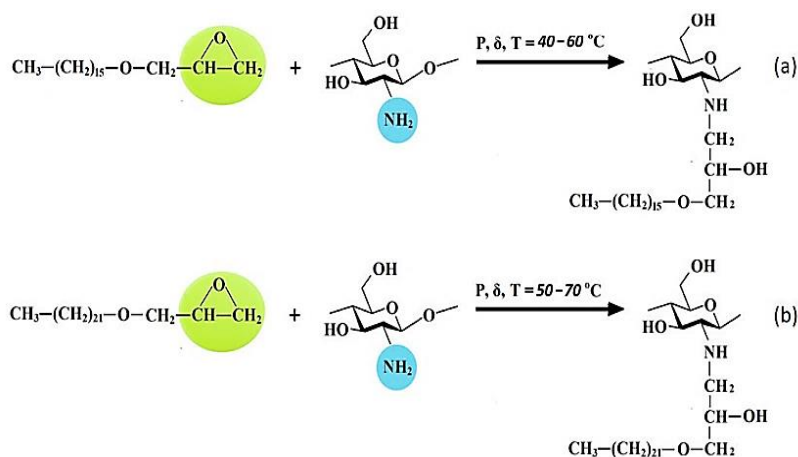


Рисунок 1 – Схемы взаимодействия хитозана с 2-[(гексадецилокси)-метил]-оксираном (а) и [(докозилокси)-метил]-оксираном (b)

В качестве первого этапа подтверждения успешной прививки гидрофобных фрагментов на хитозан образцы были расфракционированы в водном растворе уксусной кислоты. Из данных в таблице 1 видно, что прививка гидрофобных фрагментов привела к снижению растворимости продуктов синтеза по сравнению с образцами немодифицированного хитозана.

Таблица 1 – Результаты оценки растворимости образцов хитозана и их производных в 2%  $\text{CH}_3\text{COOH}$

| Образец     | Нерастворимая часть, масс. % | Растворимая часть, масс. % | ММ*, кДа | СД*, % |
|-------------|------------------------------|----------------------------|----------|--------|
| 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                         | -        | -      |

\*ММ определена вискозиметрией, степень деацетилирования (СД) - потенциометрическим титрованием.

Химическая структура полученных продуктов синтеза исследована при помощи элементного анализа (ЭА) и ИК-спектроскопии. По данным ЭА (таблица 2) рассчитана степень замещения (СЗ) аминогрупп хитозана, которая для растворимых фракций продуктов варьировалась от 0.006 до 0.016, что соответствует 5-12 заместителям на макромолекулу хитозана со степенью полимеризации 500-2000.

Таблица 2 – Результаты элементного анализа

| Образец        | % C        | %H        | %N        | C / N | СЗ*, % |
|----------------|------------|-----------|-----------|-------|--------|
| 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  |
| X80-C16-3(n)   | 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  |
| X350-C16-5(n)  | 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  | -      |
| X140-C22-3(n)  | 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  |
| X140-C22-10(n) | 45.90±0.10 | 8.31±0.08 | 5.6±0.01  | 9.56  | 0.15   |

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

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 (Таблица 2). 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 (СЗ 0.085) на макромолекулу хитозана.

Для подтверждения химической структуры полученных продуктов методом ИК-спектроскопии наиболее информативны спектры нерастворимых фракций образцов Х80-С16-3 и Х140-С22-10, т.к. они обладали наибольшей СЗ. Данные спектры (рис.2) содержат в себе все характеристические полосы поглощения исходных образцов хитозана, кроме того, в

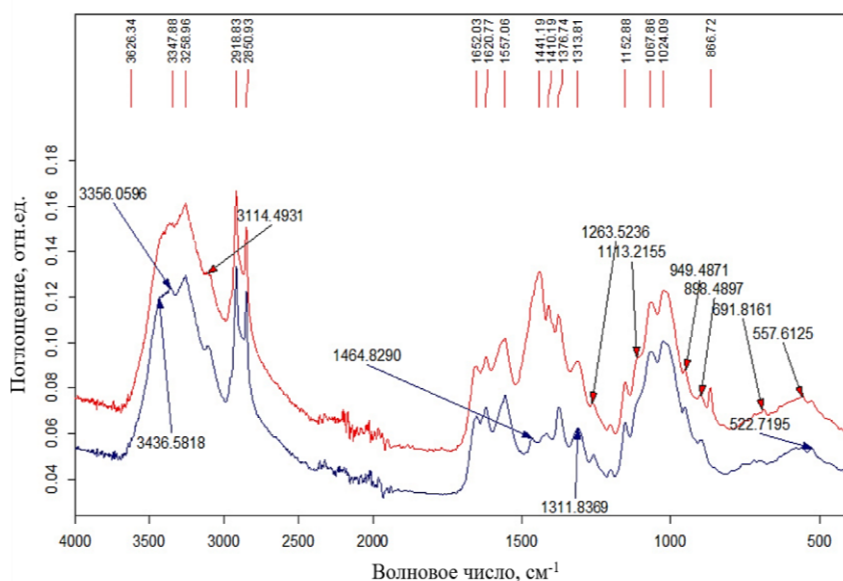


Рисунок 2 – ИК-спектры нерастворимых фракций образцов Х80-С16-3 (внизу) и Х140-С22-10 (вверху)

них хорошо разрешены полосы валентных колебаний метиленовых групп, присущие алкильным заместителям (интенсивный дублет полос при 2918 и 2850  $\text{см}^{-1}$ ). В целом, по результатам ЭА и ИК-спектроскопии можно сделать вывод, что прививка на хитозан алкильных заместителей прошла успешно.

Исследование поведения образцов немодифицированного хитозана и их алкилированных производных в растворе методом динамического лазерного светорассеяния (ДЛС) показало, что гидродинамический диаметр немодифицированных образцов хитозана увеличивается с ростом их ММ (средние значения: 250 нм  $\rightarrow$  400 нм  $\rightarrow$  600 нм для Х80, Х140 и Х350, соответственно). Гидрофобизация макромолекул хитозана привела к увеличению гидродинамического диаметра производных, что указывает на преобладание процесса межмолекулярного связывания в водной системе.

Таким образом, в ходе работы была подтверждена эффективность механохимического подхода к алкилированию хитозана глицидиловыми эфирами разной длины и впервые механохимическим методом получен ряд таких гидрофобизированных производных.

## Ацилированное производное

В качестве системы сравнения для полученных алкилированных производных при помощи механохимической обработки синтезировано ацилированное трехкомпонентное производное хитозана X350 кДа с олиго(L,L-лактидом) и коллагеном. Продукт реакционного смешения X350-ОЛ-К отмыт от непрореагировавших фрагментов исходных компонентов ацетоном, что показало степень прививки 39.2 масс. %.

Для подтверждения успешной прививки гидрофобного олиго(L,L-лактида) на хитозан продукт синтеза был также расфракционирован в водном растворе уксусной кислоты. Немодифицированный хитозан и белок легко растворялись в 2%  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , в то время как прививка гидрофобных олиголактидных фрагментов привела к нерастворимости 37 масс. % полученного продукта в кислой водной среде.

Растворимость хитозана и продукта его ацилирования в 2%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  также проанализирована при помощи ДЛС. Установлено, что продукта синтеза образует более крупные агрегаты в 2%  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , по сравнению с хитозаном. Поскольку амфифильная природа ацилированного производного оказала значительное влияние на его сродство к апротонным растворителям, было принято решение провести дополнительное фракционирование образца в хлорированном растворителе. Растворимая в дихлорметане фракция составила 26.4 масс. %, нерастворимая – 73.6 масс. %. По данным ДЛС ацилированное производное в дихлорметане образует большое количество ( $\approx 90\%$ ) агрегатов со средним размером  $\approx 150$  нм и небольшую часть частиц с субмикронным уровнем распределения.

ИК-спектроскопия показала, что спектры исходных компонентов содержат все характеристические полосы (рис.3). Спектр продукта синтеза также содержит полный набор типичных характеристических полос хитозана, олиголактида и коллагена. Основные полосы поглощения последнего, а именно Амид I ( $1630\text{ см}^{-1}$ ), Амид II ( $1530$ ;  $1449$  и  $1391\text{ см}^{-1}$ ) и Амид III (широкая полоса при  $600\text{ см}^{-1}$ ) четко очерчены. Основные изменения в спектре производного наблюдались в области amino-амидных групп (от  $1650$  до  $1530\text{ см}^{-1}$ ). Полоса первичных аминогрупп ( $1588\text{ см}^{-1}$ ), достаточно интенсивная по сравнению

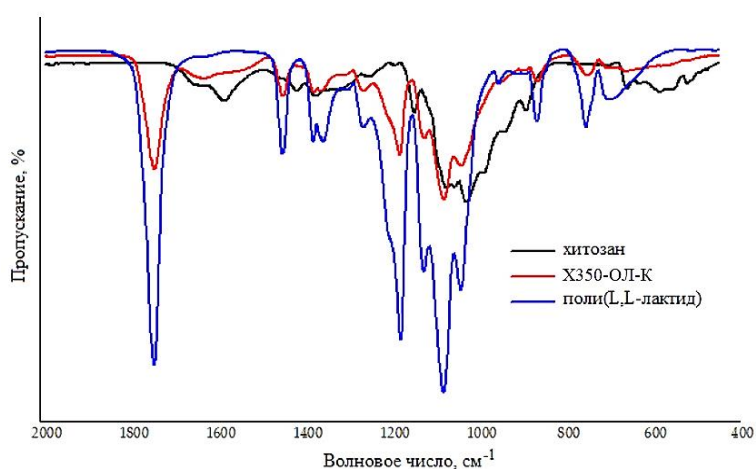


Рисунок 3 – ИК-спектры исходных компонентов и продукта синтеза

с Амидом I в спектре исходного хитозана, становится слабой в спектре продукта, что подтверждает расход аминогрупп на реакции с олиголактидом.

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

### **Раздел 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 полученные при помощи метода литья на подложку с последующим испарением растворителя.

На рис. 4 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 X80-C16-3 и X350-C16-5, а также ацилированного образца X350-ОЛ-К обладают ярко выраженной гетерогенностью, что хорошо заметно на оптических микрофотографиях и, вероятно, связано с ассоциацией гидрофобных фрагментов и образованием крупных доменов при испарении растворителя, что коррелирует с данными ДЛС и растворимости и доказывает влияние химической структуры производных на морфологию материала.

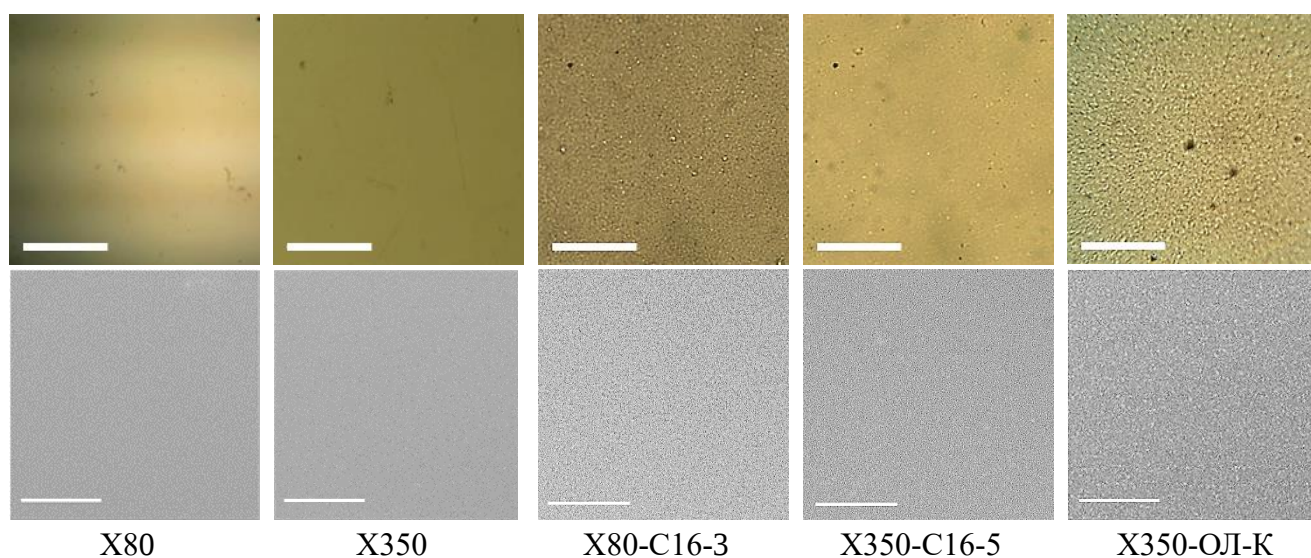


Рисунок 4 – Оптические (верхний ряд, масштабная линейка 75 мкм) и СЭМ-микрофотографии (нижний ряд, масштабная линейка 20 мкм) пленок на основе растворимых фракций полимеров

Механические испытания полученных пленок показали (таблица 3), 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 повязок и покрытий.

Таблица 3 – Механические свойства пленок исходного и модифицированного хитозана

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

В случае пленки на основе ацилированного производного наблюдалось увеличение прочности образца со снижением пластичности, что объясняется присутствием фрагментов аморфно-кристаллического олиго(L,L-лактида). Часть исследуемых образцов в дальнейшем также пригодны для использования в качестве подложек для культивирования животных клеток.

### Раздел 3.3. Материалы, наполненные гидрофобизированными производными хитозана

Прививка на хитозан гидрофобных фрагментов может обеспечивает им повышенную совместимость с синтетическими полимерами по сравнению с образцами немодифицированного хитозана.

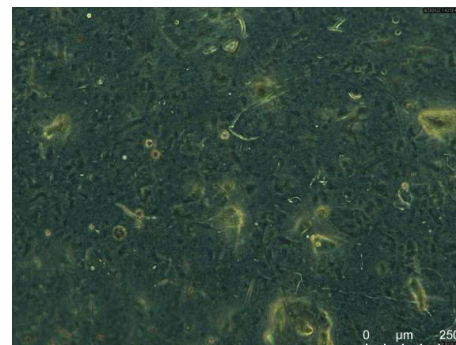
Алкилированное производное X140-C22 (ввиду его большей длины цепи гидрофобной части по сравнению с производными X80-C16 и X350-C16) использовали для наполнения пленок на основе полиэтилена при помощи расплавных технологий в смесителе Брабендере и двухшнековом экструдере при разном содержании наполнителя (от 10 до 70%). Влияние типа смешения компонентов и количества наполнителя на диспергируемость производного в полиолефиновой матрице и физико-химические свойства композитов оценивали с помощью деформационно-прочностных испытаний пленочных материалов, данных микроскопии и реологических исследований.

Выяснено, что использование механохимического смешения в двухшнековом экструдере позволяет добиться более равномерного распределения модификатора в полиэтиленовой матрице (рис. 5) и меньших потерь в механических свойствах по сравнению с образцами, совмещенными с использованием смесителя Брабендера. Также выявлено повышение температуры плавления и снижение вязкости расплава полиэтилена при массовой доле наполнителя 10-20 масс.%. Эти изменения преимущественно связаны с пластификацией полиолефиновой матрицы под влиянием родственных ПЭНД цепей докозана, присоединенных ковалентно к аминогруппам полисахарида. Композитные пленки на основе полиэтилена имеют удовлетворительные механические характеристики при содержании модифицированного природного наполнителя 10-20 масс.%, содержание наполнителя в большем количестве значительно снижает деформационно-прочностные свойства.

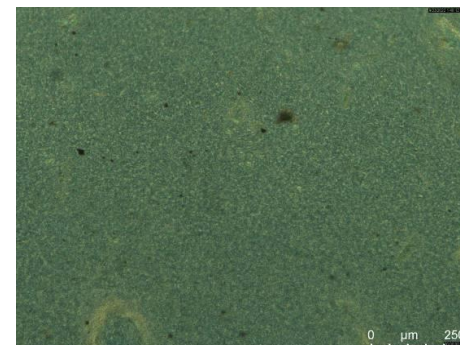
Благодаря способности Х350-ОЛ-К образовывать стабильные дисперсии в дихлорметане по растворной технологии с использованием метода электроформования

получены микроволокнистые материалы на основе полилактида, наполненного ацилированным производным (рис. 6). Использование в качестве формовочного раствора дисперсии Х350-ОЛ-К в растворе полилактида

в дихлорметане позволило получить микроволокна с выраженной шероховатостью поверхности. Флуоресцентная микроскопия селективно помеченных образцов показала, что распределение производного хитозана в материале носит неравномерных характер. В результате, удалось получить нетканые трехмерные материалы с высокопористой структурой и широким диапазоном



а



б

Рисунок 5 – Оптические микрофотографии наполненных пленок на основе ПЭНД и ХН-С22: (а) 10%, (б) 10% после твердофазной экструзии

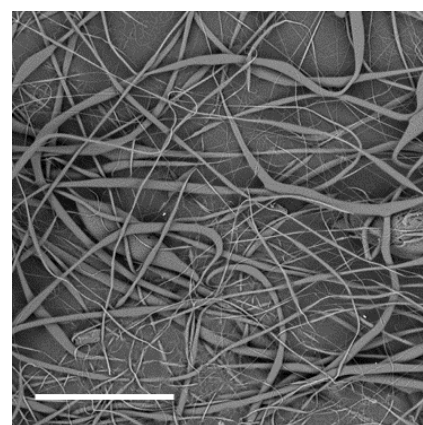


Рисунок 6 – СЭМ-микрофотография микроволокнистого материала, наполненного ацилированным производным.

Масштабная линейка 100 мкм

Масштабная линейка 100 мкм

размеров волокон, которые могут служить в качестве биodeгарируемых матриксов для культивирования животных клеток.

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.

### **Раздел 3.4. Применение гидрофобизированных производных хитозана для стабилизации эмульсий и получения материалов, сформированных из эмульсий**

Введение гидрофобных заместителей в химическую структуру хитозана придает ему не только повышенную совместимость с гидрофобными синтетическими 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 способность стабилизировать границу раздела фаз была оценена в ходе получения эмульсий масло/вода. Эмульсии были получены при помощи добавления подсолнечного масла к 1% водным растворам полимеров в 2%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  в объемном соотношении 1:10. После получения эмульсий путем перемешивания фаз на магнитной мешалке они были исследованы на оптическом микроскопе (рис.7).

Установлено, что все выбранные полимеры стабилизируют границу раздела фаз и их применение приводит к образованию как простых эмульсий (масло/вода), так и двойных (вода/масло/вода). Анализ оптических микрофотографий показал, что использование гидрофобизированных производных приводит к образованию эмульсий с меньшим средним диаметром капель дисперсной фазы по сравнению с образцами немодифицированного хитозана, что указывает на более высокую эмульгирующую способность производных.

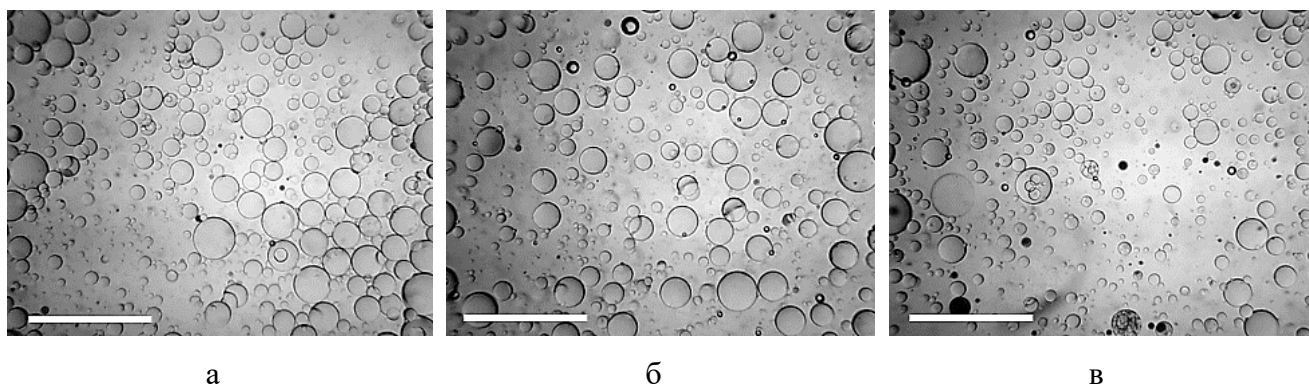


Рисунок 7 – Оптические микрофотографии прямых эмульсий масла, стабилизированного немодифицированным хитозаном X350 (а), алкилированным X350-C16 (б) и ацилированным X350-ОЛ-К (в) производными. Масштабная линейка 1000 мкм

Исследование устойчивости полученных эмульсий к разрушению во времени показало, что несмотря на то, что у всех эмульсий наблюдалась флокуляция капель масла с последующим расслоением фаз, данные процессы протекали медленнее в случае образцов, стабилизированных производными. Кроме этого, эмульсии, стабилизированные образцами немодифицированного хитозана были подвержены коалесценции капель масла после расслоения фаз.

После подтверждения способности используемых полимеров стабилизировать границу раздела фаз в эмульсиях, произведена оценка эмульгирующей способности и влияния на нее химической структуры немодифицированных образцов хитозана и их гидрофобизированных производных в ходе получения микрочастиц из полилактида методом испарения растворителя из эмульсии масло/вода. Дисперсная фаза состояла из 6 масс.% раствора полилактида в смеси растворителей дихрометан/ацетон, которую диспергировали с помощью верхнеприводной мешалки в дисперсионной среде - 1 масс.% раствор хитозана/производного в 2%CH<sub>3</sub>COOH. В процессе длительного диспергирования при контролируемой температуре происходило испарение растворителя из дисперсной фазы, что привело к превращению эмульсии в суспензию твердых частиц.

Процесс формирования микрочастиц отслежен путем отбора аликвот и исследованием их на оптическом микроскопе (рис.8).

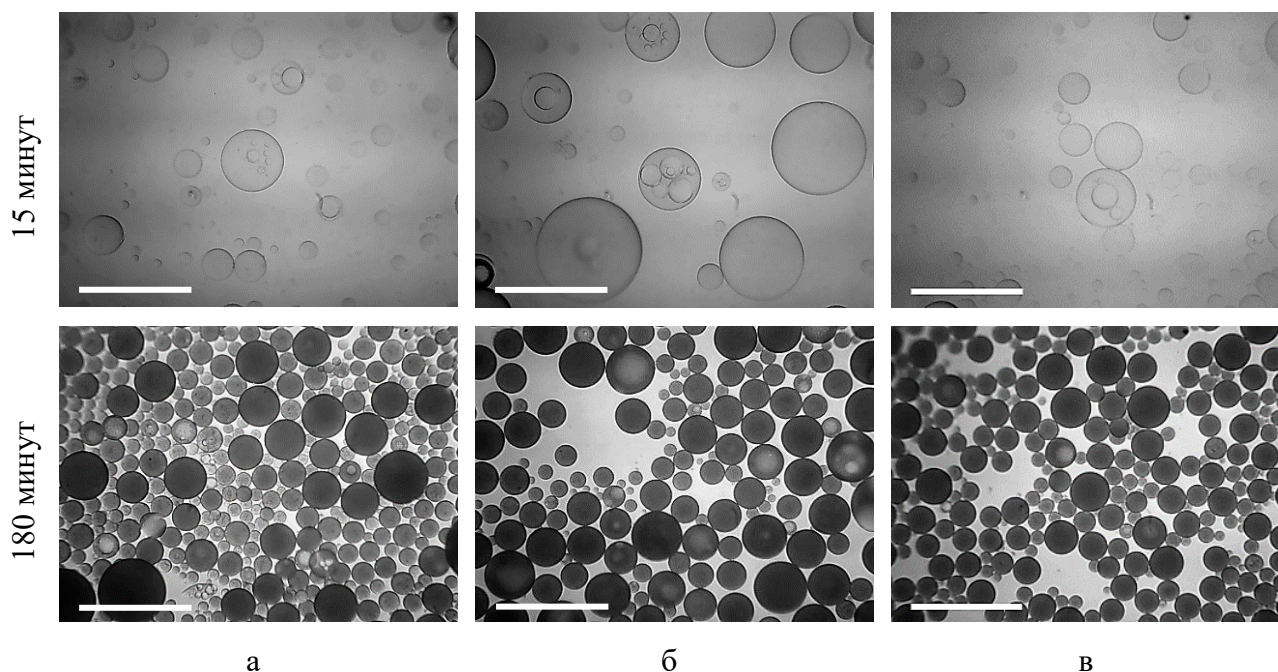


Рисунок 8 – Оптические микрофотографии, полученные во время формирования микрочастиц из полилактида методом испарения растворителя из эмульсий масло/вода, стабилизированных а) немодифицированным хитозаном Х350 б) алкилированным Х350-С16 и в) ацилированным Х350-ОЛ-К производными. Масштабная линейка 1000 мкм

Установлено, что все выбранные полимеры стабилизируют границу раздела фаз в первые 15 минут процесса формирования микрочастиц с образованием как простых, так и двойных эмульсий. При этом, присутствие последних в случае микрочастиц должно обеспечить им пористую внутреннюю структуру. Микроскопия аликвот, отобранных в конце процесса получения микрочастиц показала формирование микрочастиц сферической формы.

Оценка общего выхода микрочастиц и их распределения по размерам показала, что образцы немодифицированного хитозана и их гидрофобизированные производные позволяют получать микрочастицы из полилактида с выходом от 37.2 до 67.2 масс.% (рис. 9). Микрочастицы, стабилизированные гидрофобизированными производными хитозана, обладали большим выходом по сравнению с выходом микрочастиц, стабилизированными образцами немодифицированного хитозана.

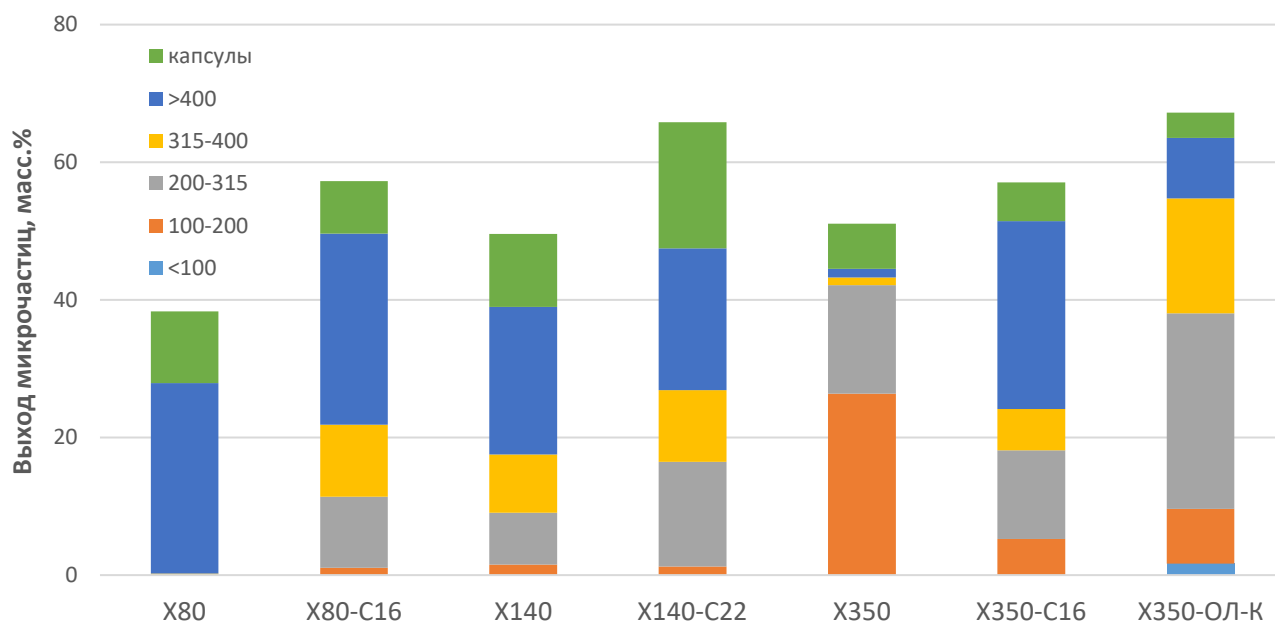


Рисунок 9 – Общий выход и распределение по размерам микрочастиц при использовании хитозана разной ММ и их гидрофобизированных производных в качестве эмульгаторов в дисперсионной среде

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

### **Характеристика полимерных микрочастиц, полученных методом испарения растворителя из эмульсий**

Полученные микрочастицы из полилактида имеют перспективу применения в качестве исходного компонента для поверхностно-селективного лазерного спекания (ПСЛС). Исследование морфологии поверхности и внутренней

структуры методом СЭМ выявило, что все микрочастицы обладают сферической формой и гомогенной морфологией поверхности, а также преимущественно пористой структурой (рис. 10 а,б). Наличие на поверхности микрочастиц природных гидрофильных компонентов, в частности аминогрупп хитозана, подтвердила флуоресцентная микроскопия рис. 10 в.

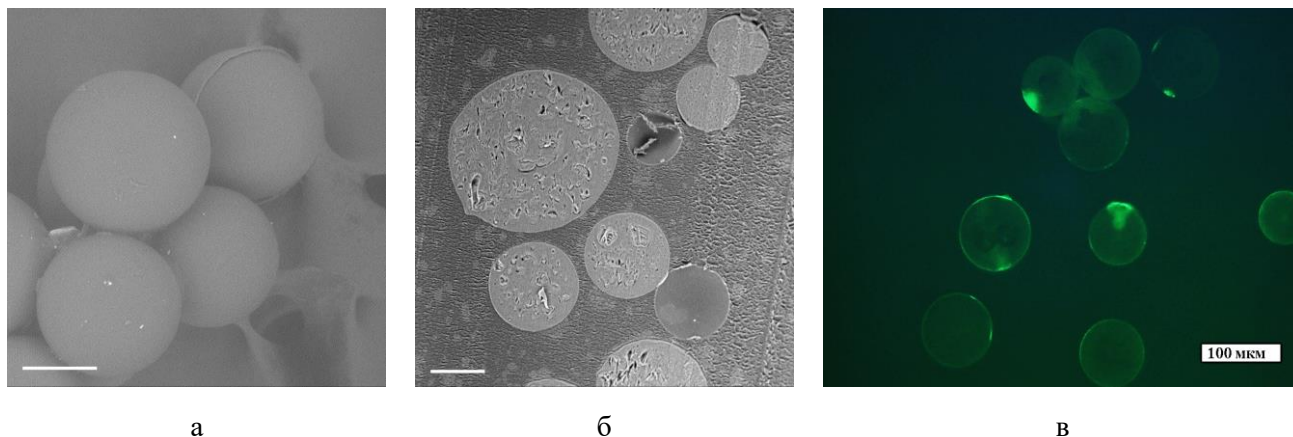


Рисунок 10 – СЭМ-микрофотографии поверхности (а) и срезов (б) полученных полимерных микрочастиц, а также их флуоресцентная микроскопия (в). Масштабная линейка 100 мкм

Подтверждение возможности применения полученных микрочастиц в качестве исходных компонентов для ПСЛС потребовало дополнительных исследований по оценке их насыпной плотности, удельной поверхности и сорбционной способности (таблица 4).

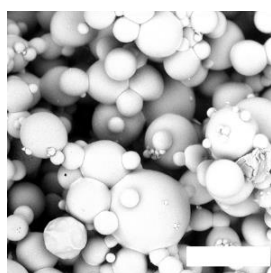
Таблица 4 – Результаты определения насыпной плотности микрочастиц, их среднего размера, удельной поверхности и сорбционной способности

| Образец   | Насыпная плотность, кг/м <sup>3</sup> | Средний размер, мкм | Удельная поверхность, м <sup>2</sup> /г | Сорбция воды, г/м <sup>2</sup> |
|-----------|---------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|
| X80       | 312.8                                 | 421 ± 179           | 0.01149                                 | 0.02611                        |
| X80-C16   | 363.3                                 | 347 ± 121           | 0.01394                                 | 0.03586                        |
| X140      | 428.5                                 | 306 ± 164           | 0.01581                                 | 0.03162                        |
| X140-C22  | 469.2                                 | 291 ± 115           | 0.01662                                 | 0.04211                        |
| X350      | 568.1                                 | 203 ± 68            | 0.02383                                 | 0.07553                        |
| X350-C16  | 489.5                                 | 277 ± 88            | 0.01746                                 | 0.08018                        |
| X350-ОЛ-К | 633.4                                 | 159 ± 71            | 0.03043                                 | 0.08478                        |

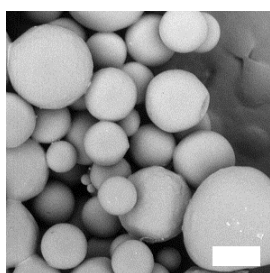
Все полученные полимерные микрочастицы являются пригодными для ПСЛС, но для более детальных исследований использовались микрочастицы, полученные с использованием в качестве эмульгатора хитозана X350, его алкилированного производного X350-C16 и ацилированного производного X350-ОЛ-К. Подобный выбор обусловлен их наибольшим выходом без учёта полых капсул (рис.9), непригодных для спекания, а также наибольшей сорбционной способностью (таблица 4).

## Поверхностно-селективное лазерное спекание полимерных микрочастиц

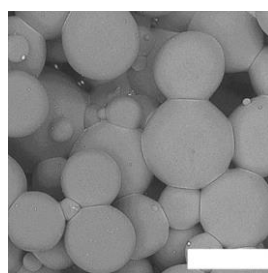
Оптимальные режимы спекания, которые бы затрагивали только поверхностный слой микрочастиц без плавления их объема подбирались для каждого типа микрочастиц отдельно. После выбора оптимальных параметров спекания были изготовлены и исследованы при помощи СЭМ трехмерные структуры на основе микрочастиц. На рис. 11-12 приведены СЭМ-микрофотографии поверхности и поперечных срезов полученных трехмерных образцов и пример 3D структуры, полученной методом ПСЛС. Как видно из представленных микрофотографий, между микрочастицами образовались так называемые «перешейки», что указывало на поверхностное взаимодействие между расплавленными частицами и позволило подтвердить успешно проведенный процесс ПСЛС. При этом частицы сохраняли свою сферическую форму, не было замечено никаких дефектов и признаков объемного плавления.



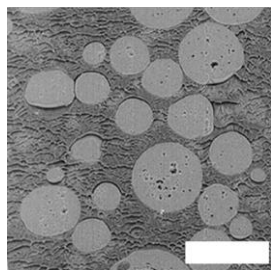
X350



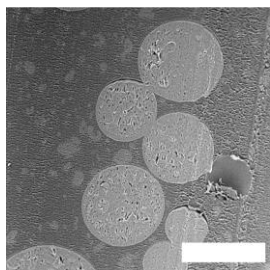
X350-C16



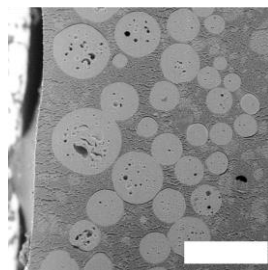
X350-ОЛЛ-К



X350



X350-C16



X350-ОЛЛ-К

Рисунок 11 – СЭМ-микрофотографии поверхности и поперечных срезов спекенных микрочастиц. Масштабная линейка 100 мкм



Рисунок 12 – 3D структура из полимерных микрочастиц, полученная при помощи ПСЛС

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 с использованием метода ПСЛС.

## 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 (C16).

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.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи, опубликованные в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК:

1. **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.
2. **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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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. Аكوпова, А.Н. Зеленецкий // Высокомолекулярные соединения Серия Б. – 2021. – Т. 6. – №5. – С. 345–353.
8. 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.
9. 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.

10. 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.

### Тезисы и статьи в сборниках трудов конференций:

1. **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.
2. **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.
5. 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.
6. **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.
7. **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.

8. **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.
9. **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.** Трёхмерные 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.
- 13.Киляшова Л.А. Регулирование структуры и морфологии биodeградируемых микрочастиц для регенеративной медицины / Л.А. Киляшова, Т.В. Черненко, **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.