

На правах рукописи



БЫЧУК

Мария Александровна

**ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА ПОЛИМЕРНЫХ ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ  
ПОЛИ-3-ГИДРОКСИБУТИРАТА И ПОЛИ- $\epsilon$ -КАПРОЛАКТОНА**

Специальность 05.17.06 – Технология и переработка  
полимеров и композитов

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

Москва  
2016

Работа выполнена на кафедре химии и технологии полимерных материалов и нанокompозитов ФГБОУ ВО «Московский государственный университет дизайна и технологии»

Научный руководитель: Доктор химических наук, профессор,  
заведующая кафедрой химии и технологии  
полимерных материалов и нанокompозитов  
ФГБОУ ВО «Московский государственный  
университет дизайна и технологии»  
**Кильдеева Наталия Рустемовна**

Официальные оппоненты: **Зеленецкий Александр Николаевич**,  
доктор химических наук, профессор,  
Заведующий лабораторией твердофазных  
химических реакций ФГБУН «Институт  
синтетических полимерных материалов им.  
Н.С. Ениколопова» Российской академии наук  
(ИСПМ РАН)

**Легонькова Ольга Александровна**  
доктор технических наук, доцент, заведующая  
отделом перевязочных, шовных и  
полимерных материалов в хирургии ФГБУ  
«Институт хирургии имени А.В.  
Вишневского» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: **ФГБОУ ВО «Российский химико-  
технологический университет имени Д.И.  
Менделеева»**

Защита диссертации состоится « 30 » июня 2016 года в 12-00 на заседании диссертационного совета Д 212.144.07 при ФГБОУ ВО «Московский государственный университет дизайна и технологии» по адресу: 117997 г. Москва, ул. Садовническая, д. 33, стр. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Московский государственный университет дизайна и технологии» и на сайте университета <http://www.mgudt.ru> .

Автореферат диссертации разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2016 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д 212.144.07  
канд. хим. наук



Кузнецов Д.Н.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Биodeградируемые полиэфиры (полилактид, полигликолид, поли-ε-капролактон, полигидроксиалканоаты), сочетают в себе преимущества природных и синтетических полимеров. Обладая биосовместимостью и биodeградируемостью, свойственным биополимерам, они, как и многотоннажные синтетические полимеры, термопластичны и способны к переработке в изделия, как из расплава, так и из раствора. Существует два основных направления разработок в области биоразлагаемых полимеров: создание экологичных форм упаковочных материалов и получение биосовместимых материалов для новейших медицинских технологий. Работы последних десятилетий, направлены на создание нового поколения изделий медицинского назначения: рассасывающихся шовных нитей, раневых покрытий, дифференцированных в зависимости от типа раны и фазы раневого процесса, 3d-матриц для тканевой инженерии, полимерных имплантатов, систем контролируемого выделения лекарственных соединений.

Полиэфир микробиологического происхождения поли-3-гидроксибутират (ПГБ) и наиболее доступный из синтетических биodeградируемых полиэфиров поли-ε-капролактон (ПКЛ) биосовместимы, они длительно сохраняют эксплуатационные свойства, но способны деструктировать в природных условиях и в живых организмах до естественных метаболитов. Это создает возможность для разработки на их основе материалов, контактирующих с живыми тканями, причем каждая конкретная область использования требует от полимерного изделия заданного комплекса свойств. Исследования ПГБ и других полигидроксиалканоатов активно развиваются во всем мире. Наиболее крупный вклад в решение проблемы создания биodeградируемых полимерных материалов на основе ПГБ принадлежит российскими ученым Воловой Т.Г., Бонарцевой Г.А., Иорданскому А.Л., Шишацкой Е.И., и др. Создание композиций биodeградируемых полимеров еще в большей степени расширит возможности применения полимерных систем на основе ПГБ и ПКЛ.

Эффективным способом регулирования надмолекулярной, морфологической и пористой структуры пленочных материалов является формирование композиционных пленок из смешанных растворов полимеров. И хотя свойства полимерных смесей на основе различных биodeградируемых полиэфиров изучались в целом ряде работ (Duarte M.A. Mater. Res., 2006; Vogel C. Biomacromol., 2008; Furukawa T., Macromol., 2005), особенностям формирования структуры материалов из смеси ПГБ и ПКЛ и их влиянию на фармакокинетические свойства лекарственно-наполненных пленок не уделено достаточного влияния. Учитывая, что структурные особенности полимерных материалов во многом определяют их потребительские свойства и перспективы использования в той или иной области медицины, установление взаимосвязи между составом формовочных композиций, морфологией и свойствами пленок на основе ПГБ и ПКЛ является важной научной задачей и основой для выбора параметров технологического процесса получения полимерного материала.

Высокая актуальность исследования полимерных композиций ПГБ и ПКЛ как основы для разработки биodeградируемых материалов медико-

биологического назначения определяется их доступностью, способностью к ферментативной гидролитической деструкции в живых организмах, отличными пленкообразующими свойствами, наличием общих растворителей, что позволит путем варьирования состава получить материалы с заданной структурой и эксплуатационными характеристиками.

Работа выполнена в соответствии с основными направлениями исследований кафедры химии и технологии полимерных материалов и нанокompозитов в рамках базовой части Госзадания Минобрнауки РФ в сфере научной деятельности на 2014-2016 гг. (проект № 2698).

**Цель работы** заключалась в разработке композиционных пленок медико-биологического назначения на основе биodeградируемых полимеров ПГБ и ПКЛ и выявлении особенностей формирования их надмолекулярной и пористой структуры.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **научные задачи**:

- изучить свойства растворов ПГБ и ПКЛ в общих растворителях;
- изучить фазовые равновесия в трехкомпонентной системе полимер-полимер-растворитель;
- исследовать закономерности структурообразования в смешанных растворах ПГБ и ПКЛ в процессе испарения растворителя и структуру полученных композиционных пленок;
- изучить теплофизические и физико-механические свойства композиционных пленок на основе ПГБ и ПКЛ;
- разработать методику включения в структуру пленок из ПГБ и ПКЛ биологически активных соединений (БАС) и определить способы регулирования скорости их высвобождения из полимерного носителя;
- установить технологические параметры процесса получения биологически-активных пленочных раневых покрытий на основе ПГБ и ПКЛ.

**Научная новизна.** В работе впервые:

1. Установлены закономерности фазового разделения и структурообразования в трехкомпонентной системе ПГБ – ПКЛ – хлороформ определена необходимая для переработки из растворов область составов, в которой исследуемая система гомогенна: ПГБ и ПКЛ в области концентраций 2-4% образуют прозрачные растворы во всем диапазоне составов, а в отсутствие растворителя демонстрируют совместимость только в аморфных областях полимеров.

2. Установлено, что путь фигуративной точки в процессе испарения растворителя из тонкого слоя раствора полимеров определяет особенности надмолекулярной и пористой структуры пленок с различным соотношением ПГБ и ПКЛ - формирование пористой структуры или структуры матрица-включение, характер и размер пор, степень кристалличности.

3. Показано взаимное влияние полимеров в процессе кристаллизации из растворов: в присутствии поликапролактона наблюдается изменение соотношения разных кристаллических фаз полигидроксibuтирата, а с увеличением содержания ПГБ происходит снижение на  $6,3^{\circ}\text{C}$   $T_{пл}$  ПКЛ,

обусловленное интенсификацией процесса кристаллизации ПКЛ в присутствии ПГБ.

4. Методом ИК-МНПВО обнаружено, что пленки из смеси ПГБ и ПКЛ имеют градиентный состав: пленка обогащена на воздушной поверхности ПГБ, а на стороне, контактирующей со стеклом, - ПКЛ. Показано, что возможными причинами изменения состава пленки является градиент скоростей испарения растворителя за счет разного диффузионного пути молекул растворителя из глубины слоя формовочного раствора к поверхности, а также разная скорость кристаллизации полимеров.

5. Установлено, что физико-механические свойства пленки, полученной из раствора смеси полимеров, не определяются правилом аддитивности: значения модуля Юнга ( $E$ ) пленок из ПКЛ и ПГБ (50:50) составляют 200 и 220 МПа соответственно (для пленок из ПГБ  $E=1200$  МПа). Этот факт является следствием выявленных особенностей структурообразования в процессе испарения растворителя из смешанного раствора полимеров этого состава.

6. Обнаружено что содержащая трипсин высокопористая пленка ПГБ-ПКЛ состава 50:50, не обеспечивает ожидаемый интенсивный массоперенос, а напротив, характеризуется пролонгированным высвобождением фермента, вероятно, вследствие адсорбции амфифильных молекул белка из водных растворов на развитой внутренней поверхности гидрофобных полимеров.

**Теоретическая значимость работы.** Установленные закономерности фазового разделения и структурообразования в смешанных растворах ПКЛ и ПГБ - биodeградируемых полиэфиров, различающихся по скорости кристаллизации и значению модуля упругости, определяют особенности надмолекулярной структуры и морфологии полимерных материалов, полученных на их основе: формирование пористой структуры пленок, их градиентный состав, бимодальное распределение по толщине волокон, полученных методом электроформования.

Установленный факт формирования градиентного состава пленок, полученных путем испарения растворителя из смешанного раствора ПКЛ и ПГБ, позволяет предположить такую возможность при формовании пленок по сухому способу из смешанных растворов других полимерных пар.

**Практическая значимость работы.** Разработаны и оптимизированы составы формовочных композиций для получения высокопористых биodeградируемых пленок на основе ПГБ и ПКЛ, содержащих протеолитический фермент и антимикробное вещество. Созданы новые материалы, перспективные для использования в медицине (раневые покрытия, системы с контролируемым выделением лекарственных соединений) и тканевой инженерии (матриксy для выращивания клеток). Показан способ регулирования паропроницаемости и кинетических характеристик процесса выделения белка и антимикробных веществ из биodeградируемых пленок. Проведены санитарно-химические и токсикологические испытания опытных образцов биологически активных пленок, показано, что полученные материалы нетоксичны и отвечают требованиям, предъявляемым к медицинским покрытиям на раны.

Результаты диссертационной работы используются при реализации в МГУДТ магистерской программы «Полимерные материалы медико-биологического назначения» по направлению магистратуры 18.04.01 – Химическая технология. В соавторстве издано учебное пособие «Биодеградируемые полимеры и их использование в медицине».

**Достоверность результатов проведенных исследований** определяется использованием современных взаимодополняющих химических и физико-химических методов исследования (построение фазовых диаграмм, реологические исследования, электронная микроскопия, ИК-, ИК-МНПВО и УФ-спектроскопия, термомеханические, физико-механические и теплофизические исследования, изучение антимикробной и ферментативной активности) и проведением испытаний разработанных пленочных раневых покрытий на соответствие заявленным показателям сторонними организациями.

**Апробация результатов.** Основные результаты работы были представлены и обсуждены на российских и международных конференциях, в частности на: XII Всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем» (Йошкар-Ола, 2005), VII Международной научной конференции «Кинетика и механизм кристаллизации» (Иваново, 2012), IV Всероссийской конференции по химической технологии ХТ'12 (Москва, 2012), Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2012», «Ломоносов-2013» и «Ломоносов-2014» (Москва, 2012, 2013, 2014), V Всероссийской научной конференции «Физикохимия процессов переработки полимеров» (Иваново, 2013), VIII Всероссийской школе-конференции молодых ученых "Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем" (Иваново, 2013), Шестой Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры-2014» (Москва, 2014), Международной научной конференции "Композиционные и наноструктурные материалы" (Санкт-Петербург, 2014).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 3 в научных журналах из перечня ВАК, издано 1 учебное пособие.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа изложена на 152 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, методической части, выводов, списка цитируемой литературы из 214 ссылок. Работа содержит 16 таблиц, 67 рисунков и приложения на 16 страницах.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

С целью разработки биологически активных полимерных материалов, а также приемов и способов направленного регулирования их структуры и придания им заданного уровня свойств были исследованы полимерные системы на основе смеси биодеградируемых полиэфиров. В качестве объектов исследования были выбраны поли-3-гидроксibuтират (ПГБ) и поли-ε-капролактон (ПКЛ) (табл. 1).

Таблица 1 – Характеристика биodeградируемых полиэфиров ПКЛ и ПГБ

Полиэфир	Формула элементарного звена	ММ, кДа	Температура стеклования, °С	Температура плавления °С	Растворители
ПГБ	$\left[ \text{O}-\underset{\text{CH}_3}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\overset{\text{H}_2}{\text{C}}-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}} \right]_n$	980	15	175	метиленхлорид, хлороформ, метиленхлорид, трихлорэтилен, этиленкарбонат,
ПКЛ	$[-\text{O}-(\text{CH}_2)_5-\text{CO}-]_n$	50	- 60	63	толуол, метиленхлорид, хлороформ, тетрагидрофуран, диметилформамид, ацетон, этилацетат

### Изучение полимерных систем на основе смеси полигидроксibuтирата и поликапролактона

Основным фактором, оказывающим определяющее влияние на состояние подобных систем, является совместимость полимеров. Для оценки совместимости ПГБ и ПКЛ был использован метод, основанный на теории Флори-Хаггинса, позволяющей рассчитать параметр взаимодействия  $\chi_{12}$  полимеров через параметры растворимости  $\delta_1$  и  $\delta_2$ :

$$\chi_{12} = \frac{V_r}{RT} (\delta_1 - \delta_2)^2 \quad (1)$$

Сравнение  $\chi_{12}$  с критическим параметром взаимодействия:

$$(\chi_{12})_{KP} = \frac{1}{2} \left[ \frac{1}{(x_1)^{1/2}} + \frac{1}{(x_2)^{1/2}} \right]^2 \quad (2)$$

где  $x_1$  и  $x_2$  - степени полимеризации полимеров, позволяет судить о совместимости полимерной пары.

Полученное значение параметра взаимодействия ПГБ и ПКЛ  $\chi_{12} = 0,0012$  положительно и близко к нулю и не превышает значение  $(\chi_{12})_{KP}$ , которое равно 0,0019, что указывает на возможную совместимость этой пары полимеров, однако, принимая во внимание, что как ПГБ, так и ПКЛ являются кристаллизующимися, трудно ожидать полной совместимости полимеров. Тем не менее, ПГБ и ПКЛ имеют общие растворители, в частности, хлороформ, и поэтому всегда можно получить разбавленный раствор, содержащий оба эти полимера.

Испарение растворителя, приводящее к концентрированию раствора, приводит к разделению фаз и формированию гетерогенной системы. Экспериментальное исследование фазового разделения в системе хитозан - Eudragit E – водный раствор уксусной кислоты проводили методом определения «точек помутнения», основанном на скачкообразном изменении оптической плотности растворов в процессе испарения растворителя. Фазовая диаграмма системы ПГБ – ПКЛ – хлороформ представлена на рис. 1.

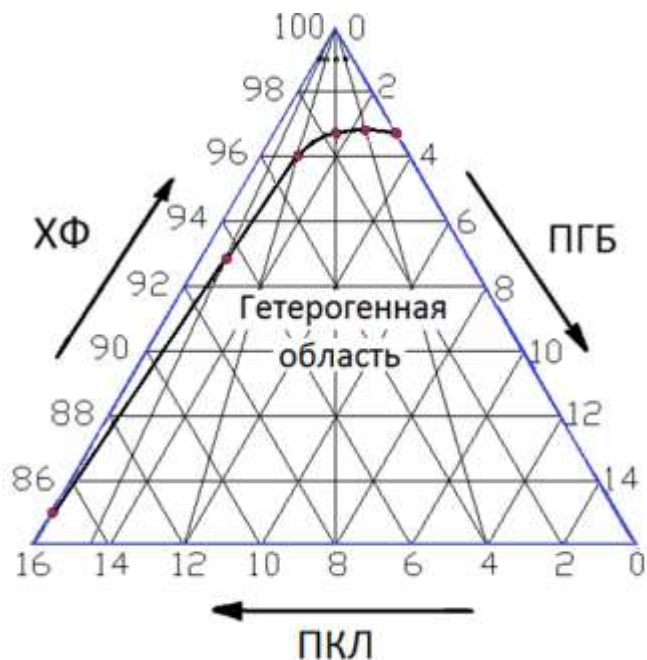


Рис. 1 - Фазовая диаграмма системы ПГБ – ПКЛ – хлороформ

оказывает существенное влияние на концентрацию, при которой происходит фазовое разделение, снижая ее с 15% для ПКЛ до 7% для смешанного раствора ПКЛ и ПГБ (980 кДа) (9:1) в хлороформе (рис.1). Таким образом, расположение фигуративных точек, соответствующих сосуществующим фазам на фазовой диаграмме, позволяет предположить разный характер фазового равновесия в рассматриваемой тройной системе. Весьма вероятно, что при соотношении ПГБ-ПКЛ 100:0 – 50:50 реализуется кристаллическое равновесие – ПГБ кристаллизуется в равновесии с раствором, а в области 50:50 – 0:100 может происходить либо аморфное расслоение: разделение на две жидкие равновесные фазы с различным содержанием полимеров, либо сочетание аморфного и кристаллического равновесия.

На основании изучения фазовых равновесий в трехкомпонентной системе ПГБ – ПКЛ – хлороформ установлено, что необходимая для переработки из растворов область составов, в которой исследуемая система гомогенна при любом соотношении полимеров, лежит в диапазоне концентраций, не превышающем 3,2%.

Чтобы оценить способность ПГБ и его смесей с ПКЛ к переработке в пленки и волокна были изучены реологические свойства смешанных растворов ПГБ (ММ 980 кДа) и ПКЛ (ММ 50 кДа) в хлороформе (рис. 2). Как видно из полученных результатов, 3%-ный раствор ПГБ (980 кДа) в хлороформе представляет собой структурированную жидкость: реологическая кривая 1 (рис. 2) не имеет участка ньютоновской вязкости в исследуемых пределах градиента скоростей сдвига; начальная вязкость раствора ПГБ составляет 9,15 Па·с.

Форма бинодали указывает на то, что в большом диапазоне составов фазовое разделение в системе ПГБ-ПКЛ-хлороформ происходит за счет кристаллизации ПГБ, который выделяется из раствора при низкой концентрации – 3,3% даже в отсутствие ПКЛ. Введение в раствор ПГБ ПКЛ вплоть до соотношения полимеров 1:2 практически не влияет на значение точек помутнения, и фазовое разделение происходит при одной и той же концентрации смешанного раствора. Напротив, добавление раствора ПГБ в раствор ПКЛ даже в небольших количествах (10%),



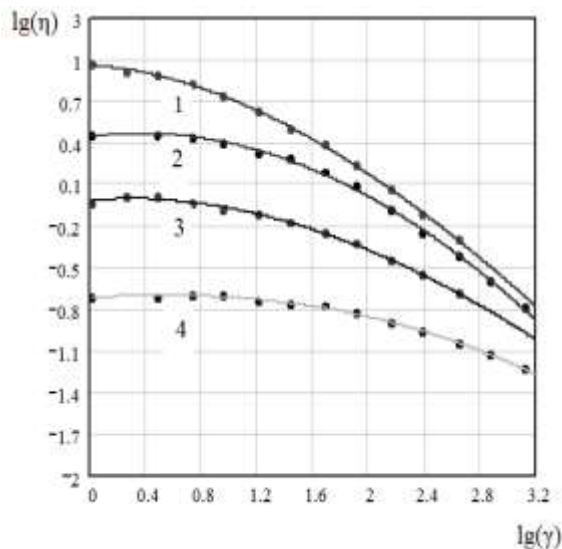


Рис. 2 - Кривые течения 3%-ных растворов ПГБ и ПКЛ в хлороформе с разным соотношением полимеров 1 – ПГБ; 2 – ПГБ-ПКЛ 75:25; 3 - ПГБ-ПКЛ 50:50; 4 - ПГБ-ПКЛ 25:75.

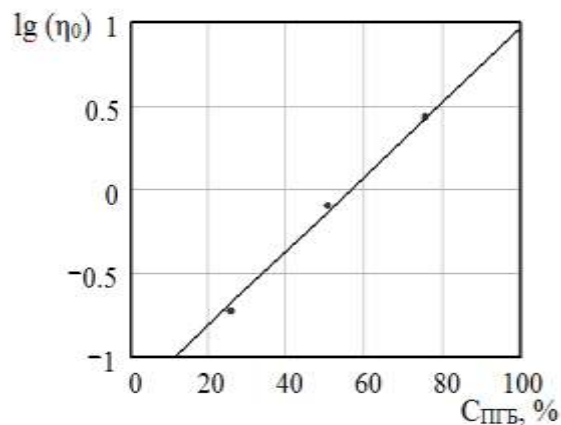


Рис. 3 - Зависимость начальной вязкости от состава 3%-ных смешанных растворов ПГБ (980 кДа) и ПКЛ.

Введение в состав полимерной смеси ПКЛ с ММ 50 кДа снижает вязкость смешанного раствора, причем  $\lg \eta_0$  изменяется пропорционально составу смеси (рис. 3), что указывает на аддитивность свойств и подтверждает полученные ранее расчетные данные о совместимости ПГБ и ПКЛ. Вязкость раствора смеси ПГБ и ПКЛ в хлороформе имеет менее выраженную зависимость от температуры, чем раствор ПГБ: энергия активации вязкого течения раствора ПГБ-ПКЛ (50:50) в хлороформе, рассчитанная из уравнения Аррениуса – Френкеля – Эйринга  $\eta = A \cdot e^{E_a/(RT)}$ ,  $E_a = 16,7$  кДж/моль, а раствора ПГБ  $E_a = 26,7$  кДж/моль.

Таким образом, формирование структурной сетки зацеплений, приводящее к росту динамической вязкости системы, позволяет получать пленки из смешанных растворов ПГБ и ПКЛ при низкой суммарной концентрации полимеров 3% как методом полива, так и формованием через щелевую фильеру.

### Закономерности формирования структуры пленок из смешанных растворов ПГБ и ПКЛ

Из 3 %-ных растворов полимеров методом полива с последующим испарением растворителя были получены пленки разного состава. Полученные пленки оказались не прозрачными, причем полная транспарентность отсутствовала даже у пленки из чистого ПГБ. Морфологию пленок изучали методом электронной микроскопии. Морфология сколов пленок на основе растворов смеси полимеров разного состава существенно отличается друг от друга (рис. 4).

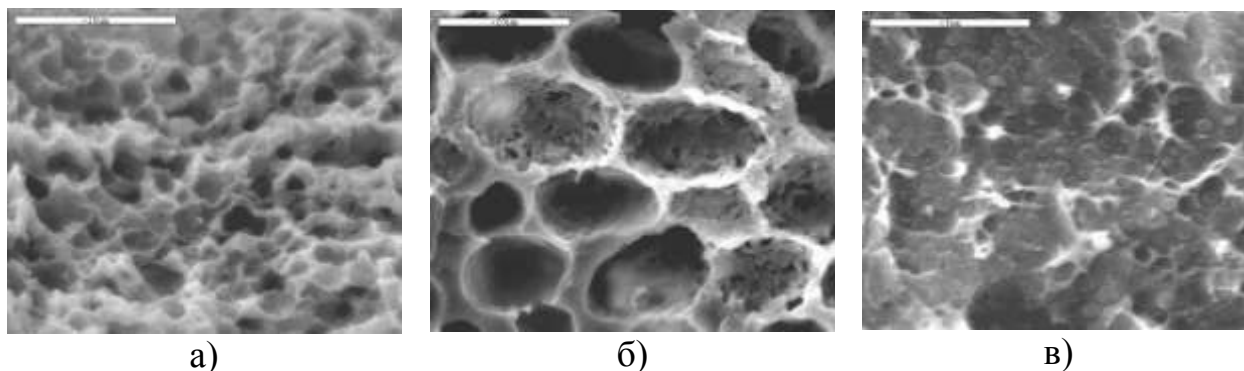


Рис. 4 - Микрофотография скола пленок состава ПКЛ-ПГБ а)75:25, б)50:50, в)25:75.

Пленка состава ПГБ-ПКЛ 50:50 имеет высокопористую структуру с порами размером около 10 мкм (рис. 4б). Такой характер морфологии не является характерным для пленок из полимерных смесей, в которых одна из фаз, как правило, является непрерывной, а вторая формирует дисперсную фазу. Можно предположить, что наблюдаемая структура пленки обусловлена сильными различиями концентраций, при которых происходит кристаллизация из растворов ПГБ и ПКЛ (рис. 1). В процессе испарения растворителя кристаллизация ПГБ завершается при концентрациях раствора, не превышающих 4%, ПКЛ остается в системе в виде низкоконцентрированного раствора, инклюдированного в фазе закристаллизованного ПГБ. В ходе дальнейшего испарения растворителя ПКЛ выделяется на стенках образующихся пор. В растворе смеси ПГБ – ПКЛ 25:75 непрерывную фазу образует ПКЛ, а меньшая вязкость раствора (рис.3) позволяет вырасти зародышам кристаллизации до размеров 300-500 нм, различимых на электронномикроскопических снимках (рис. 4а). Размер структурных элементов композиционных пленок зависит от молекулярной массы ПГБ.

Пленки из индивидуальных ПГБ и ПКЛ, а так же смеси ПГБ и ПКЛ разного состава, полученные методом полива с последующим испарением растворителя, были изучены методом ИК-спектроскопии. Для интерпретации полученных данных были записаны ИК-МНПВО спектры (инфракрасные спектры многократно нарушенного полного внутреннего отражения) пленок из ПКЛ, закристаллизованных в течение разного времени. На рисунке 5 приведены кинетические данные по кристаллизации ПКЛ, полученные в диапазоне  $1600-900\text{ см}^{-1}$ , содержащем полосы поглощения кристаллической фазы. Изменение соотношения интенсивностей полос поглощения  $1188\text{ см}^{-1}$  и  $1241\text{ см}^{-1}$  позволило идентифицировать кристаллическую фазу ПКЛ и интерпретировать различия в спектрах разных поверхностей пленки из ПКЛ (рис. 6). Высокая скорость испарения растворителя в приповерхностных областях, контактирующих с воздухом, приводит к уменьшению степени кристалличности ПКЛ. Этим объясняются различия в спектрах разных сторон плёнки из чистого ПКЛ: обращённой к воздуху (кривая 3, рис. 6) и стеклу (кривая 4, рис. 6).

ПГБ напротив, сохраняет свою степень кристалличности постоянной: спектры разных сторон пленки из ПГБ идентичны (рис. 6 спектр 1 и 2), что свидетельствует о постоянной степени кристалличности, не смотря на разницу скорости испарения растворителя и, соответственно, скорости кристаллизации

на границе полимер-воздух и полимер-стекло. Вероятно, имеет место описанный ранее механизм, при котором скорость фронта кристаллизации ПГБ превышает скорость диффузионных процессов.

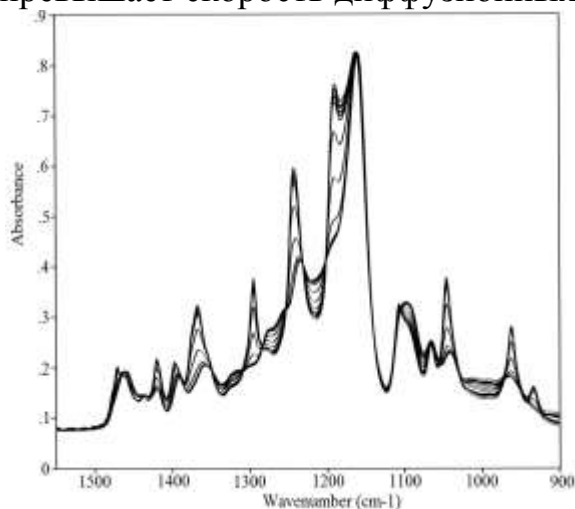


Рис. 5 - Зависимость интенсивности спектров ИК-МНПВО плёнок из чистого ПКЛ от скорости кристаллизации.

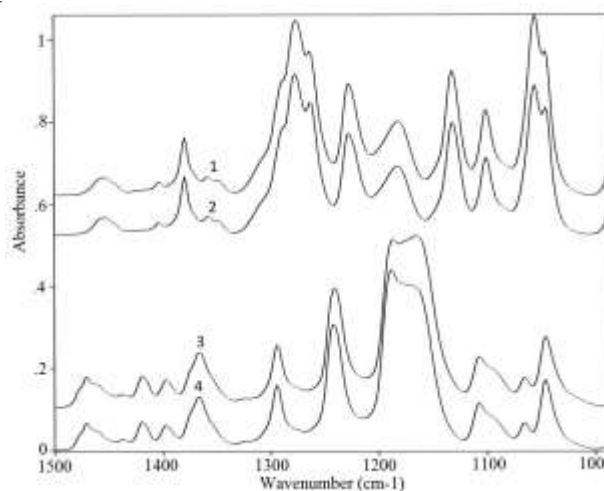


Рис. 6 - ИК-МНПВО-спектры в диапазоне 1550-1300 см-1. 1 – 100% ПГБ сторона «к воздуху»; 2 - 100% ПГБ сторона «к стеклу»; 3-100% ПКЛ сторона «к воздуху»; 100% ПКЛ сторона «к стеклу».

Градиент скоростей кристаллизации полимеров в направлении от поверхности пленки к подложке за счет разного диффузионного пути молекул растворителя из глубины слоя к поверхности является причиной изменения не только кристалличности, но и состава композиционных пленок в областях, прилегающих к подложке, по сравнению с поверхностью, контактирующей с воздухом. Для изучения градиентного состава пленок (толщина 50 мкм), полученных из растворов смеси ПГБ и ПКЛ с соотношением полимеров (75:25, 50:50, 25:75), был использован метод ИК-МНПВО и зависимость глубины проникновения ИК-излучения в полимерную пленку от угла падения и длины волны излучения:

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi(\sin^2 \theta - n^2)^{1/2}} \quad (3)$$

где,  $\theta$  – угол падения излучения;  $n$  – показатель преломления исследуемого материала,  $\lambda$  – длина волны излучения в призме..

Из полного диапазона ИК-МНПВО спектров пленок из индивидуальных полимеров ПГБ и ПКЛ и их смесей были выделены три далеко отстоящих друг от друга характеристических участка. Расчет  $d_p$  в выбранных диапазонах показал, что значения волновых чисел 2700-3150 см<sup>-1</sup> соответствуют глубине проникновения 0,3 мкм, т.е. фактически это поверхностный слой, 1300-1550см<sup>-1</sup> – 1 мкм от поверхности и 400 – 900см<sup>-1</sup> глубине 2,2 мкм. Путем сравнения ИК-МНПВО спектров каждой из сторон пленки в трех выбранных диапазонах и полученных «на просвет» ИК-спектров тонких пленок (10 мкм) разного состава, были получены количественные данные о градиентном составе пленки по толщине в диапазоне 2,2 мкм с каждой стороны (поверхность к воздуху - поверхность к подложке). На рисунке 7 приведена диаграмма,

иллюстрирующая изменение состава пленок по их толщине в зависимости от соотношения ПГБ-ПКЛ (Рис. 7). Как видно из данных диаграммы (рис. 7),

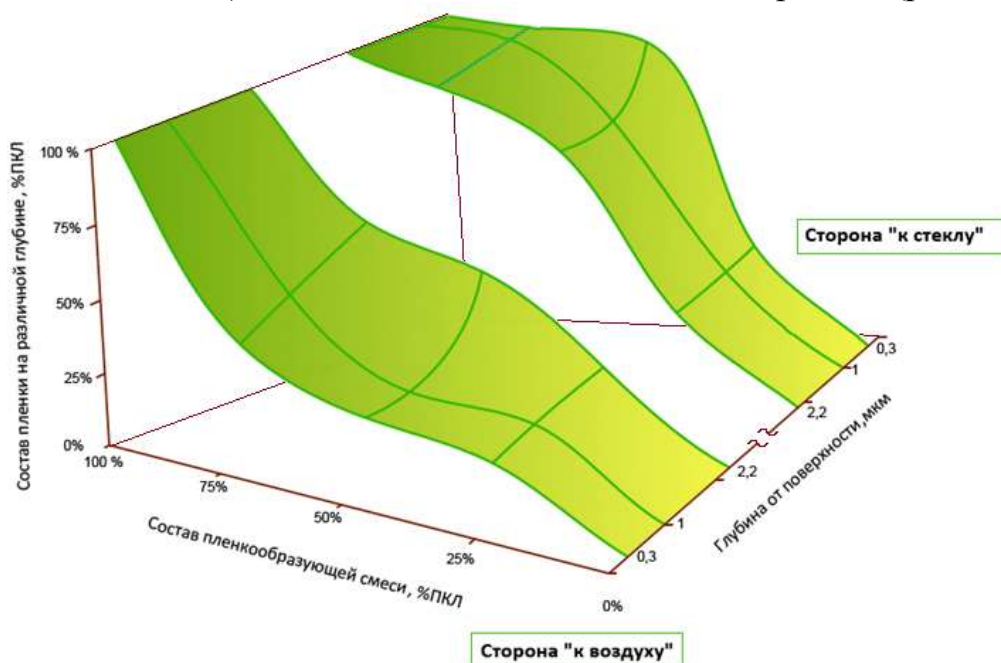


Рис. 7 - Изменение состава плёнок из ПГБ и ПКЛ на различной глубине от поверхностей плёнки.

при переходе от воздушной поверхности к внутренним слоям пленки и далее к поверхности, контактирующей со стеклом, содержание ПКЛ увеличивается и лишь для пленки с высоким содержанием ПГБ состав на разной глубине пленки практически одинаков.

Полученные результаты можно объяснить с помощью фазовой диаграммы (рис. 1). В системе ПГБ – ПКЛ – хлороформ реализуется сложное аморфно-кристаллическое равновесие. При быстром испарении растворителя в поверхностном слое фигуративная точка, характеризующая состав системы, попадает в область под бинадалью. Из раствора начинают выпадать кристаллы чистого ПГБ, формирующие поверхностный слой, состав раствора изменяется и дальнейшее испарение растворителя происходит при другом соотношении ПГБ:ПКЛ. В результате относительная концентрация ПКЛ в растворе будет увеличиваться, а следовательно, постепенно будет возрастать содержание фазы обогащенной ПКЛ в составе плёнки. Такой характер фазового разделения обуславливает образование градиентного состава плёнки в направлении к подложке (рис. 7).

### Изучение свойств пленок из смеси ПГБ и ПКЛ

Теплофизические свойства пленок были изучены методом ДСК. В исследованной области температур 40-200°C на термограммах пленок из ПКЛ присутствует один эндопик, соответствующему плавлению полимера (рис. 8). Эндопик ПГБ раздваивается, что обычно относят к существованию фракции с более мелкими кристаллами. Влияние ПКЛ на кристаллизацию ПГБ проявляется не столько в изменении его температуры плавления, сколько в инверсии глубины эндоминимумов, соответствующих плавлению двух кристаллических фракций (рис.8).

Влияние ПГБ на процесс кристаллизации ПКЛ проявляется в уменьшении температуры плавления ПКЛ с ростом содержания в пленке ПГБ на 6,3°C (табл. 2), а также в снижении энтальпии плавления, что указывает на уменьшение степени кристалличности полимера, связанное с интенсификацией процессов кристаллизации в растворе ПКЛ в присутствии ПГБ. Таким образом, обнаружено взаимное влияние полимеров в процессе их кристаллизации из смешанных растворов в хлороформе.

В связи с тем, что для оценки совместимости полимеров большое значение имеют температуры стеклования, сравнительные исследования образцов пленок из ПГБ, ПКЛ и смеси состава 50:50 проводили в интервале температур – 100...+140°C, включающем  $T_c$  ПКЛ, с использованием динамического механического анализа (ДМА), позволяющего определить динамические характеристики полимерных образцов, например коэффициент механических потерь ( $\tan \delta$ ), как функцию температуры при постоянной частоте нагружения образца.

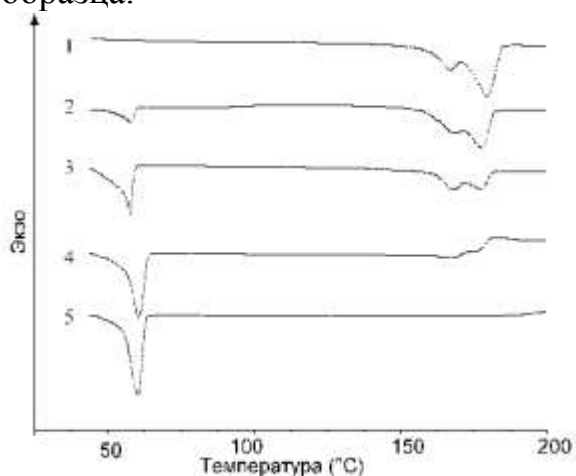


Рис. 8 - Термограмма (ДСК) пленок на основе ПГБ (980 кДа) и ПКЛ с разным соотношением полимеров 1 – ПГБ; 2 – ПГБ-ПКЛ 75:25; 3 – ПГБ-ПКЛ 50:50; 4 – ПГБ-ПКЛ 25:75; 5 – ПКЛ.

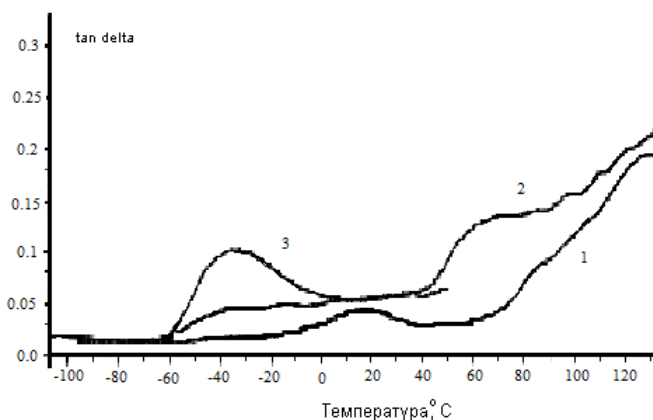


Рис. 9 - Кривые температурных зависимостей фактора механических потерь  $\tan \delta$ . 1- ПГБ, 2 – смесь ПГБ-ПКЛ состава 50:50, 3- ПКЛ.

Таблица 2 -Теплофизические параметры пленок разного состава на основе ПГБ и ПКЛ

№ п/п	Состав пленки, %		Теплофизические свойства					
			ПГБ			ПКЛ		
	ПГБ	ПКЛ	$T_{пл}, ^\circ C$	$\Delta H_{пл}$		$T_{пл}, ^\circ C$	$\Delta H_{пл}$	
				Дж/г пленки	Дж/г ПГБ		Дж/г пленки	Дж/г ПКЛ
1	100	-	168,0/179,3	72,4	72,4	-	-	-
2	75	25	168,0/178,1	52,1	69,2	52,4	8,7	35,0
3	50	50	168,5/178,0	34,0	68,0	54,5	22,8	45,6
4	25	75	168,7/176,0	20,1	75,1	55,7	36,3	48,4
5	-	100	-	-	-	58,7	49,9	49,9

На кривой  $\tan \delta = f(t^\circ)$  для образца пленки из смеси ПГБ и ПКЛ наблюдается только один максимум механических потерь в области температур от –40 до –20° С (кривая 2, рис. 9). Этот максимум имеет плечо в сторону увеличения

температуры. Характерная для ПГБ температура стеклования в области положительных температур не наблюдается. Тот факт, что для пленки смешанного состава ПГБ и ПКЛ регистрируется только одна  $T_g$ , свидетельствует о совместимости аморфных областей кристаллизующихся полимеров ПГБ и ПКЛ, что подтверждает результаты расчета параметров взаимодействия.

Изучение физико-механических свойств композиционных пленок показало, что наибольшей прочностью и модулем упругости обладает пленка из ПГБ, при этом при разрыве образец практически не деформируется  $\varepsilon = 0,4\%$  (табл. 3). Уменьшение прочности композиционных пленок происходит не аддитивно, а определяется характером возникающей морфологической структуры.

Таблица 3 - Физико-механические свойства пленок из ПГБ и ПКЛ

№ п/п	Состав пленки, %		Прочность P, МПа	Относительное разрывное удлинение $\varepsilon, \%$	Модуль Юнга E, МПа
	ПГБ	ПКЛ			
1	100	-	37,6	0,4	1200
2	75	25	17,5	3,6	-
3	50	50	11,4	7,9	220
4	25	75	5,4	40,7	-
5	-	100	17,3	700	200

### **Получение волокнистых материалов из смешанных растворов ПГБ и ПКЛ методом электроформования**

Пористая структура полимерной матрицы может быть сформирована путем создания волокнистого материала из ультратонких волокон методом электроформования. Изучены условия получения волокнистого материала методом бесфильтрного электроформования из растворов в хлороформе полигидроксibuтирата и его смесей с поликапролактоном.

Полигидроксibuтират—это природный полимер бактериального происхождения, который синтезируется несколькими видами прокариотических микроорганизмов в виде высокомолекулярного кристаллизующегося полимера. Высокая молекулярная масса ПГБ (980 кДа) обуславливает очень высокую вязкость его растворов в хлороформе. Начальная эффективная вязкость 3%-ного раствора ПГБ в хлороформе раствора достигает 9.15 Па·с, Именно в этой концентрационной области (рисунок 10) начинает формироваться непрерывная сетка зацеплений, необходимая для стабильного струеобразования при электроформовании волокон. Исследование возможности электроформования 2-6%-ных

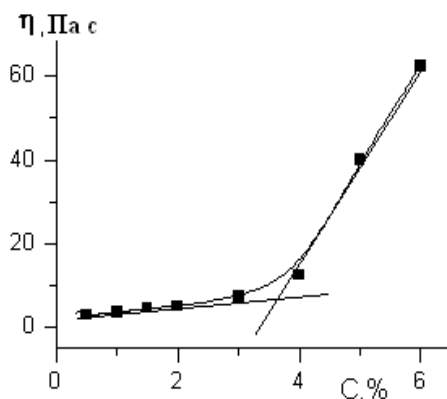


Рис. 10 – Концентрационная зависимость начальной вязкости растворов ПГБ в хлороформе.

растворов исходного ПГБ в хлороформе показало, что низкоконцентрированный раствор только распыляется, а при использовании более концентрированных высоковязких растворов происходит слишком быстрое отверждение и обрыв тонких струй формовочного раствора. Электроформование бесфильтренным способом растворов столь низкой концентрации и высокой вязкости осуществить не представлялось возможным. Для снижения вязкости растворов было использовано два приема: 1) введение в раствор хлороформа 0,015% HCl и 2) формование из смешанного раствора ПГБ и ПКЛ (50:50). Из 6%-го раствора эквимассовой смеси полимеров в хлороформе, путем электроформования со свободной поверхности при следующих условиях: напряжение  $23 \pm 2$  кВт, расстояние до подложки 15 см, температуре  $25^\circ\text{C}$  и влажность в камере  $\sim 50\%$ . Микрофотографии и гистограммы распределения по размерам волокон приведены на рис. 11.

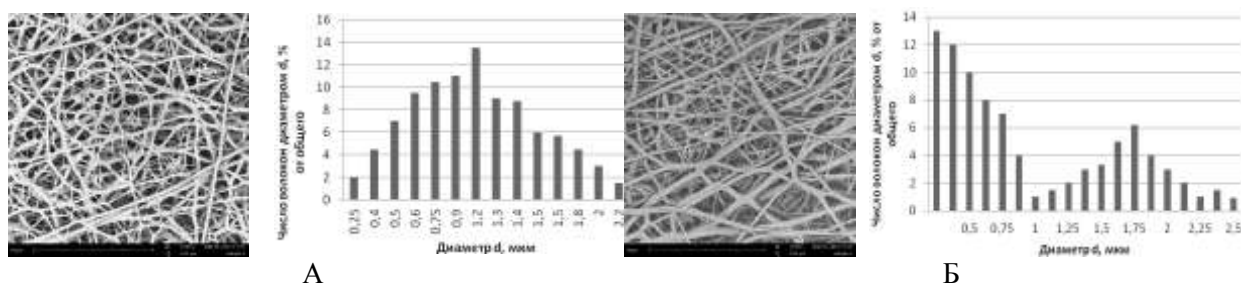


Рис. 11 – Микрофотография и гистограмма распределения по размерам волокон из 6%-го раствора ПГБ в хлороформе, содержащего 0.015% HCl (А) и волокон из 6%-го раствора ПГБ и ПКЛ 50:50 в хлороформе (Б).

Бимодальное распределение по толщине волокон, полученных из смешанного раствора ПГБ и ПКЛ (рис. 11А), может быть результатом фазового разделения в системе полимер-полимер-растворитель в процессе испарения хлороформа и волокнообразования из сопряженных растворов при воздействии электрического поля. Волокнистые материалы такой структуры могут иметь перспективы для использования в качестве биodeградируемых матриц для тканевой инженерии: тонкие волокна обеспечат прикрепление клеток к полимерной матрице, а более толстые создают возможности для их роста и пролиферации за счет больших объемов межволоконного пространства.

### **Разработка высокопористых биodeградируемых пленочных материалов с комплексным биологическим действием**

Современные перевязочные материалы должны обладать целым комплексом свойств, среди которых: элиминация раневого содержимого, способность подавлять развитие инфекции, биосовместимость. Кроме того, на первой фазе раневого процесса – стадии гидратации, патофизиологически обоснованным является использование протеаз, гидролизующих девитализованные ткани и тем самым ускоряющих очищение ран. С целью получения биodeградируемых пленок с комплексным биологическим

действием, предназначенных для применения в качестве раневых покрытий, был исследован процесс иммобилизации протеолитического фермента трипсина в структуре пленок из смеси ПГБ и ПКЛ, а также включения в их состав антимикробных веществ. В предварительных опытах по изучению паропроницаемости пленок был выбран состав пленки ПГБ – ПКЛ 50:50, обеспечивающий максимальную паропроницаемость пленок  $4,5 \text{ мг/см}^2 \cdot \text{час}$ , соответствующую требованиям к раневым покрытиям.

Для получения полимерного биосовместимого биологически активного раневого покрытия были использованы формовочные композиции на основе растворов ПГБ в хлороформе, содержащие протеолитический фермент трипсин. Формовочные композиции получали путём эмульгирования раствора трипсина в 0,1М буферном растворе (рН=7,8) в растворе ПГБ в хлороформе. Морфология сколов пленок сформованных через щелевую фильеру на стеклянной подложке, приведена на рис. 12.

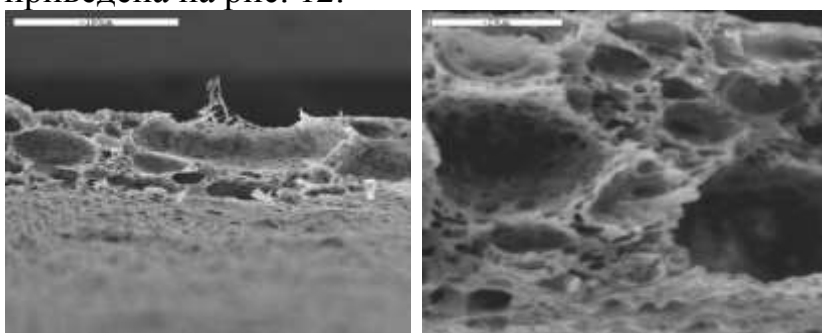


Рис. 12 - Микрофотография скола пленки, полученной из эмульсии водного раствора протеолитического фермента трипсина в растворе смеси ПГБ и ПКЛ (50:50) в хлороформе при увеличении 1:500 и 1:10000.

Как видно из рисунка 12, структура пленки, формирующаяся при испарении растворителя из формовочной эмульсии на основе смешанного раствора ПГБ и ПКЛ (50:50), характеризуется еще более развитой поверхностью и системой взаимопроникающих пор по сравнению с композиционной пленкой из раствора полимеров в хлороформе (рис.4б). Анализ активности трипсина по скорости гидролиза специфического субстрата метилового эфира N-бензоил-L-аргинина показал высокую эффективность иммобилизации фермента в структуре пленки из ПГБ (42,5%) и его смеси с ПКЛ (52,5%). Можно было ожидать, что высокопористая структура пленки будет способствовать интенсивному массопереносу и высвобождению водорастворимого белка. Однако, как видно из результатов, приведённых на рисунке 13, скорость десорбции белка из этой плёнки в физиологический раствор ниже, чем из менее пористой пленки на основе ПГБ. Учитывая высокую выявляемую активность трипсина, эти факты можно объяснить адсорбцией амфифильных молекул белка из водных растворов на развитой внутренней поверхности гидрофобного материала композиционной пленки.

Совместное применение антибактериальных препаратов с протеазами не только повышает их биодоступность, но и снижает токсичность и побочные действия. Благодаря лизирующему действию ферментов облегчается проникновение антибактериальных препаратов в ткани, особенно в очаг воспаления. В качестве антимикробных веществ были использованы водорастворимые соединения хлоргексидина биглюконат (ХГБГ) и пefлoксацин (ПФ), которые вводили в водную фазу эмульсии, а также малорастворимый в



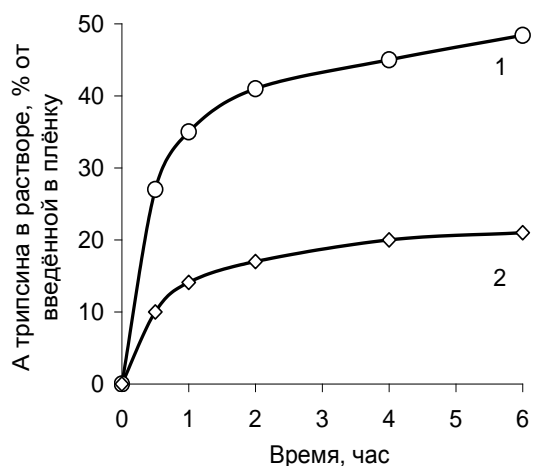


Рис. 13. - Кинетика выделения трипсина из плёнок, полученных из белоксодержащих эмульсий в растворе ПГБ (1) и смеси ПГБ:ПКЛ (50:50) (2) в хлороформе, в 0,9% раствор NaCl.

воде антимикробный препарат – фуразолидон (ФЗ), который вводили в формовочную композицию в виде раствора в хлороформе. Из полученных эмульсий формовали пленки толщиной 50 и 200 мкм. Антимикробную активность образцов определяли по отношению к грамположительной микрофлоре *Staphylococcus aureus* методом диффузии в агар по зонам ингибирования роста тест-культур микроорганизмов. Ферментативная и антимикробная активности пленок с соотношением пленкообразующих полимеров ПГБ-ПКЛ 50:50 приведены в таблице 4.

Таблица 4 - Биологическая активность пленок из смеси ПГБ и ПКЛ (50:50), содержащих

трипсин и антимикробное вещество

№ образца	Толщина пленки, мкм	Антимикробное вещество	Количество антимикробного вещества, % от массы пленки	Антимикробная активность		Протеолитическая активность		
				Зона задержки роста микроорганизмов, мм	Отношение площади зоны лизиса к площади образца	Введенная в пленку, Е/г пленки	пленки	
							Е/г пленки	% от введенной в пленку
1	200	ХГБГ	1,6	3,5	2,9	15,6	3,0	19,2
2	200	ПФ	1,6	10,3	9,2	15,7	24	15,2
3	200	ФЗ	2,4	3,2	2,7	15,0	3,3	22,1
4	50	ХГБГ	1,6	4,7	3,7	15,7	2,1	13,3
5	50	ПФ	1,6	10,4	9,4	15,7	4,5	28,6
6	50	ФЗ	2,4	5,5	4,6	15,0	5,9	39,1
7	200	-	-	-	-	14,3	1,2	8,1

Все исследуемые образцы пленок обладали эстеразной и антимикробной активностью. Зоны задержки роста микроорганизмов превышали площадь образца в 2,7-9,4 раз. Более высокой ферментативной активностью обладали пленки, толщиной 50 мкм. Это связано с меньшим влиянием диффузионных факторов на скорость гетерогенно-каталитической реакции. Активность трипсина, иммобилизованного в структуре пленок совместно с ФЗ, выше, чем в присутствии других антимикробных веществ. Этот факт может быть связан с тем, что ФЗ и трипсин входят в состав разных фаз формовочной эмульсии, и поэтому не оказывают взаимного влияния на биологическую активность. Установлено, что водорастворимые антимикробные соединения (ХГБ и ПФ) значительно быстрее переходят в физиологический раствор по сравнению

фуразолидоном.

На основании проведенных исследований был выбран состав полимерной композиции для получения биологически активных пленок из смеси ПГБ и ПКЛ. Формовочную эмульсию получали диспергированием при 600 об./мин, выдерживали в течение 1 часа при комнатной температуре и формовали на стекле пленки толщиной 50 мкм с использованием щелевой фильеры с регулируемым размером щели. Состав формовочной композиции приведен в таблице 5.

Таблица 5 - Состав формовочной эмульсии для получения биологически активных пленок.

Дисперсионная среда			Дисперсная фаза	
Общая концентрация полимеров в хлороформе, %	Соотношение ПГБ-ПКЛ	Концентрация фуразолидона, %	Объемная доля, %	Концентрация трипсина в буферном растворе, мг/мл
3	1:1	0,08	5	10

Биологически активные пленки имели следующий состав:

Полигидроксibuтират	48,0%
Поликапролактон	48,0%
Трипсин	1,5%
Фуразолидон	2,5%

Полученные пленки были подготовлены для проведения технических и токсикологических испытаний: нарезаны на куски размером 10×10см, запаяны в пакеты и подвергнуты стерилизации радиационным облучением, доза 25 кГр. Токсикологические и технические испытания были проведены ФГУ Всероссийский научно-исследовательский институт медицинской техники. Санитарно-химические и токсикологические испытания показали, что опытные образцы раневых покрытий по токсикологическим и санитарно-химическим показателям нетоксичны и отвечают требованиям, предъявляемым к медицинским покрытиям на раны (Токсикологическое заключение № 231-06; Акт АТНЛ 0.009.240.689).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлены закономерности структурообразования в полимерных системах на основе растворов полигидроксibuтирата и поликапролактона в общем растворителе и их влияние на надмолекулярную и пористую структуру биодеградируемых полимерных пленок медико-биологического назначения.

2. Получена фазовая диаграмма системы ПГБ – ПКЛ – хлороформ и определена необходимая для переработки из растворов область составов, в которой исследуемая система гомогенна.

3. Показано, что тип морфологии композиционных пленок из ПГБ и ПКЛ, полученных испарением растворителя, определяется соотношением полимеров, природой растворителя и зависит от молекулярной массы полигидроксibuтирата.

4. Установлен градиентный состав пленок, полученных в результате испарения растворителя из смешанных растворов ПГБ и ПКЛ в хлороформе. Предложен механизм формирования градиентного состава пленки от подложки к воздуху при разном соотношении полимеров.

5. Показана возможность получения методом электроформования бездефектного волокнистого материала из растворов в хлороформе высокомолекулярного ПГБ и ПКЛ с ММ 50 кДа. Показано, что фазовое разделение приводит к получению волокнистого материала с бимодальным распределением волокон по толщине.

6. Разработаны композиционные пленки медико-биологического назначения на основе биodeградируемых полимеров ПГБ и ПКЛ, обладающие протеолитической активностью и пролонгированным антимикробным действием. Получено заключение ФГУ Всероссийский научно-исследовательский институт медицинской техники о соответствии разработанного материала санитарно-техническим требованиям, предъявляемым к раневым покрытиям.

### **Основное содержание диссертации опубликовано в работах:**

#### **Публикации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК:**

1. **Бычук М.А.** Получение биodeградируемых полимерных матриц методом электроформования/ Бычук М.А., Кильдеева Н.Р., Куринова М.А., Богданов Н.В., Калинин М.В., Новиков А.В., Вихорева Г.А. // Химические волокна.- 2014- №6. – С. 12-16

2. **Бычук М.А.** Пленочные материалы из смеси биodeградируемых полиэфиров с антимикробной и протеолитической активностью / М.А. Бычук, Н.Р. Кильдеева, Т.А. Чердынцева // Химико-фармацевтический журнал. – 2014. – Т.48. – №.1. – С. 45-49.

3. **Бычук М.А.** Особенности формирования структуры пленок из смешанных растворов биodeградируемых полиэфиров /М.А. Бычук, Л.В.Владимиров, Н.Р.Кильдеева// Пластические массы.- 2015.- №1-2. – с.18-21.

#### **Публикации в других изданиях:**

4. Кильдеева Н.Р. (2005). Получение высокопористых пленок из смешанных растворов полигидроксибутирата и поликапролактона / Н.Р.Кильдеева, Л.С. Гальбрайт, Г.А. Вихорева, **М.А. Бычук**, А.Л. Иорданский// Сборник статей «Структура и динамика молекулярных систем».- Йошкар-Ола–Уфа–Казань–Москва.- 2005.- 12.- с.342-345.

5. **Бычук М.А.** Особенности кристаллизации биополимеров в процессе получения пленочных материалов на основе их смесей / М.А. Бычук, Н.Р. Кильдеева, Г.А. Бонарцева // Сборник тезисов докладов VII Международной научной конференции «Кинетика и механизм кристаллизации».- Иваново.- 2012.-с.123-124.

6. **Бычук М.А.** Изучение градиентного состава пленок из смеси полигидроксибутирата и поликапролактона / М.А. Бычук, Н.Р. Кильдеева, Р.В. Владимиров // Сборник тезисов докладов XXI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2014».- Москва.- 2014. Режим доступа - <http://lomonosov-msu.ru/rus/event/2200>.

7. **Бычук М.А.** Изучение реологических свойств смешанных растворов биоразлагаемых полиэфиров / М.А. Бычук, Н.Р. Кильдеева //Сборник тезисов докладов VIII Всероссийской школе-конференции молодых ученых

"Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем» (Крестовские чтения).- Иваново. – 2013. С.51,52.

8. **Бычук М.А.** Полимерные материалы на основе смесей биodeградируемых полиэфиров //Сборник тезисов докладов XVIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2012». – Москва.- 2012 Режим доступа - <http://lomonosov-msu.ru/rus/event/800/>.

9. **Бычук М.А.** Изучение полимерных систем на основе полигидроксibuтирата и поликапролактона / М.А. Бычук, Н.Р. Кильдеева // Сборник тезисов докладов IV Всероссийской конференции по химической технологии (ХТ'12).- Москва.- 2012.- с. 192.

10. **Бычук М.А.** Закономерности получения волокнистых и пленочных материалов из композиций на основе биodeградируемых полиэфиров/ М.А. Бычук, М.А.Куринова // Сборник тезисов докладов Международной научной конференции и олимпиады молодых ученых «Композиционные и наноструктурные материалы».- Санкт-Петербург.- 2014.- С.92.

11. **Бычук М.А.** Получение раневых материалов на основе смеси биополимеров // Сборник тезисов докладов XIX Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2013». – Москва. – 2013. Режим доступа - <http://lomonosov-msu.ru/rus/event/1600/>.

12. **Бычук М.А.** Биологически-активные пленочные материалы из смеси биodeградируемых полимеров / М.А. Бычук, НР. Кильдеева // Сборник тезисов докладов V Всероссийской научная конференции «Физикохимия процессов переработки полимеров». – Иваново. – 2013. – С. 59-60.

13. **Бычук М.А.** Получение, изучение структуры и деструкция antimикробных пленок из смеси биополимеров / М.А. Бычук, Т.А Чердынцева // Сборник тезисов докладов Шестой Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры-2014».- Москва.- 2014.- Том I. - С.474.

#### *Учебно-методическая литература*

Кильдеева, Н.Р. Биodeградируемые полимеры и их использование в медицине. Конспект лекций: учебное пособие/ Н.Р. Кильдеева, **М.А. Бычук** – М.:МГУДТ, 2014.- 67с.