

УДК 541.64:547.995

ГИДРОГЕЛИ N-(2-КАРБОКСИЭТИЛ)ХИТОЗАНА С ВАНИЛИНОМ

© 2022 г. А. В. Скатова^а, А. В. Борода^б, Ю. О. Привар^а, А. Б. Слободюк^а,
Е. В. Кантемирова^а, С. Ю. Братская^{а,*}

^а Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук
690022 Владивосток, пр. 100-летия Владивостока, 159, Россия

^б Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения
Российской академии наук 690041 Владивосток, ул. Пальчевского, 17, Россия

*e-mail: sbratska@ich.dvo.ru

Поступила в редакцию 01.06.2022 г.

После доработки 12.07.2022 г.

Принята к публикации 19.08.2022 г.

В развитие концепции формирования стимулчувствительных биоразлагаемых гидрогелей с использованием подходов динамической ковалентной химии было исследовано гелеобразование в растворе низкомолекулярного N-(2-карбоксиэтил)хитозана в присутствии ванилина. Показано, что в отличие от хитозана его карбоксиалкилированное производное можно применять для получения гидрогелей с хорошими механическими свойствами и низкой цитотоксичностью. Анализ влияния мольного отношения ванилин : N-(2-карбоксиэтил)хитозана на степень функционализации полимера сшивающим агентом и реологические свойства полимера в 3 М растворе мочевины показал, что наряду с гидрофобными взаимодействиями межмолекулярные водородные связи играют важную роль в стабилизации структуры полученных гидрогелей.

DOI: 10.31857/S2308113922700139

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие динамическую ковалентную химию широко применяют для получения стимулчувствительных и самозалечивающихся гидрогелей биомедицинского назначения [1–5]. Один из возможных вариантов реализации этого подхода заключается в сшивке хитозана и его производных ароматическими альдегидами [6–9], причем за счет гидрофобного упорядочения ароматических фрагментов в основаниях Шиффа гелеобразование наблюдается и в результате взаимодействия с моноальдегидами, когда межмолекулярные ковалентные сшивки не образуются [6, 7]. В отличие от гидрогелей хитозана, полученных сшивкой глutarовым альдегидом и другими алифатическими диальдегидами, динамическая природа иминной связи с ароматическими альдегидами определяет рН-чувствительность таких систем: в кислой и щелочной среде равновесие смещается в сторону исходных веществ (полиамин и альдегида), вследствие чего надмолекулярная структура гидрогелей или пленок, стабилизированная гидрофобными взаимодействиями, разрушается. Поскольку многие ароматические альдегиды обладают высокой биологической активностью, их высвобождение из пленок и гидрогелей хитозана обеспечивает фунгицидные [7, 10] и антимикробные [6] свойства материалов. В слу-

чае производных хитозана, растворимых в нейтральной и щелочной среде, рН-чувствительные гидрогели могут быть использованы как средство доставки инкапсулированных лекарственных средств при физиологических значениях рН [8].

Интерес к применению ванилина (4-гидрокси-3-метоксибензальдегида) для получения гидрогелей хитозана связан с доступностью ванилина, низкой токсичностью [11] и широким спектром биологической активности, в том числе нейропротекторной, противоопухолевой, антиоксидантной и антимикробной [12]. Однако в отличие от салицилового альдегида гидроксигруппа в ванилине находится в *para*-положении относительно альдегидной группы и не обеспечивает формирование “иминного замка” [13] – водородной связи между *ortho*-гидроксильной группой альдегида и аминогруппой полимера, значительно улучшающего устойчивость иминной связи в салицилимине хитозана. Ниже показаны возможные структурные фрагменты при сшивке N-(2-карбоксиэтил)хитозана (КЭХ) ванилином и салициловым альдегидом (схема 1).

При взаимодействии хитозана с ванилином в растворе образуются очень слабые гидрогели, механические свойства которых повышают путем введения неорганических частиц [14] или использования дополнительных сшивающих агентов, например триполифосфата натрия [15]. В плен-

ках хитозана [16, 17], полученных испарением растворителя (воды), степень конверсии ванилина при образовании основания Шиффа увеличивается до 80% по сравнению с конверсией 7–12% в растворе [16]. В результате эффективность гидрофобных взаимодействий повышается, а скорость растворения полученных пленок в слабокислой среде заметно понижается.

Поскольку при взаимодействии с салициловым альдегидом карбоксиалкилхитозаны формировали гидрогели при значительно более низких мольных отношениях альдегид : полимер, чем хитозан [18], но проявляли достаточно высокую цитотоксичность даже при низких содержаниях салицилового альдегида, в настоящей работе рассмотрена возможность применения менее токсичного ванилина для формирования стимулчувствительных гидрогелей биомедицинского назначения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали низкомолекулярный хитозан с молекулярной массой 30×10^3 и степенью дезацетилирования 0.9 (“BioLogHerpe GmbH”, Германия); N-(2-карбоксиэтил)хитозан (КЭХ) со степенью карбоксиэтилирования 0.38, синтезированный из низкомолекулярного хитозана по методике [19]; мочевины (99%, “Sigma-Aldrich”, США) и ванилин (99%, “Sigma-Aldrich”).

3%-ный раствор хитозана готовили растворением сухого полимера в 1%-ном растворе уксусной кислоты, pH доводили до 4.9 ед. добавлением 0.1 М раствора NaOH. 3%-ный раствор КЭХ приготавливали растворением натриевой формы полимера в водном растворе, pH доводили до 8.3 ед. добавлением 0.1 М раствора HCl.

Гидрогели хитозана и КЭХ получали смешиванием растворов ванилина в ДМСО и полимеров при мольном отношении ванилин : хитозан, равном 1 : 1, 1 : 2.5, 1 : 5, 1 : 10. Во всех случаях объемное отношение ДМСО : вода в гидрогеле составляло 1 : 10.

Реологические исследования гидрогелей проводили при температуре $25 \pm 0.05^\circ\text{C}$ в осцилляционном (динамическом) режиме в диапазоне частот колебаний 0.2–100 Гц с использованием реометра “Physica MCR 301” (“Anton Paar GmbH”, Австрия) с измерительным модулем плоскость–плоскость диаметром 25 мм.

Растворимость гидрогелей КЭХ в зависимости от pH исследовали при 25°C в фосфатных буферах (“PanEco Ltd.”, Россия), определяя количество полимера, перешедшего из гидрогеля в раствор, методом коллоидного титрования [18]. Для этого около 300 мг гидрогеля КЭХ помещали в 3 мл буфера через 72 ч после добавления ванилина и осторожно перемешивали при 25°C в течение

24 ч на орбитальном шейкере “PSU-20i” (“Biosan”, Латвия) со скоростью 30 об/мин, после чего отбирали аликвоту раствора над гелем объемом 0.2 мл и титровали при pH 10.5 стандартным раствором полидиаллилдиметиламмоний хлорида с содержанием катионных групп 0.001 моль/л. Для сравнения в аналогичных условиях титровали раствор после полного растворения гидрогеля при pH 11. Коллоидное титрование проводили до точки нулевого заряда в автоматической компьютеризированной установке, включающей титратор “Mutek PCD-T3” и детектор заряда частиц “Mutek PCD-04” (“BTG Instruments GmbH”, Германия). Растворимость P гидрогелей рассчитывали по формуле

$$P = \frac{CT_{\text{pH}} \times m_0}{CT_0 \times m_{\text{pH}}} \times 100\%,$$

где CT_{pH} и CT_0 – объемы титранта, ушедшие на титрование аликвоты раствора над гидрогелем после растворения при выбранном значении pH и раствора после полного растворения гидрогеля при pH 11 соответственно; m_{pH} и m_0 – массы гидрогелей, растворяемых при выбранном значении pH и pH 11 соответственно.

Кинетику растворения гидрогелей КЭХ, полученных при мольном отношении ванилин : полимер = 1 : 2.5, исследовали при 37°C в фосфатном буфере с pH 8 и в питательной среде Игла, модифицированной Дульбекко (DMEM, кат. номер #12800017, Gibco™, “Thermo Fisher Scientific”, Великобритания), используемой для культивирования клеток, с добавлением 10 об. % (эмбриональной телячьей сыворотки (“HyClone”, США). Изменение массы гидрогеля оценивали гравиметрически. Ввиду того, что растворение и набухание гидрогелей с динамической ковалентной связью происходит одновременно, положительные значения соответствовали преобладанию процесса набухания над растворением.

Для определения степени модификации (ИК-фурье и ЯМР ^{13}C спектров) гидрогели КЭХ тщательно промывали этанолом и сушили на воздухе через 72 ч после добавления ванилина. Содержание C, N, H в воздушно-сухих образцах находили методом высокотемпературного сжигания на элементном анализаторе “EuroEA3000” (“Eurovector”, Италия). Для КЭХ с естественной влажностью 19% средние значения составили: C – 36.48%, N – 5.78%, H – 7.42%, атомное отношение C : N равно 7.37.

Степень модификации α рассчитывали по формуле

$$\alpha = \frac{C/N_{\text{КЭХ-В}} - C/N_{\text{КЭХ}}}{n},$$

где $C/N_{\text{КЭХ-В}}$ и $C/N_{\text{КЭХ}}$ – атомные отношения углерод/азот в модифицированном ванилином и

исходном полимере соответственно, n – число атомов углерода в ванилине ($n = 8$).

Спектры ЯМР ^{13}C записывали на спектрометре “Bruker Avance AV-300” (ФРГ) с частотой протонного резонанса 300 МГц. Для регистрации спектров использовали методику кросс-поляризации с вращением образца под магическим углом (CP-MAS). Частота вращения образца составляла 7 кГц. Внешним стандартом химического сдвига служил тетраметилсилан, ошибка измерения сдвига составляла 0.3 м.д.

Инфракрасные спектры с преобразованием Фурье регистрировали на ИК-спектрометре “Affinity-1” с приставкой “MIRacle 10 FTIR” (“Shimadzu”, Япония).

Для анализа цитотоксичности раствор ванилина в ДМСО добавляли в концентрациях, соответствующих мольным отношениям ванилин : хитозан, равным 1 : 2.5 (11.2 мг/мл), 1 : 5 (5.6 мг/мл) и 1 : 10 (2.8 мг/мл) к клеткам НСТ 116 (“Sigma-Aldrich” США), культивируемым в 24-луночных планшетах (TPP, Швейцария) при плотности 100×10^3 клеток/лун в 1 мл питательной среды DMEM с добавлением 10% (об/об) эмбриональной телячьей сыворотки, 3.7 мг/мл бикарбоната натрия (“Sigma-Aldrich”), однократной смеси заменимых аминокислот, 100 ед.ак./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (все “Gibco”). Для анализа цитотоксичности гидрогелей к 330 мкл гидрогеля добавляли 1170 мкл суспензии клеток (20×10^3 клеток) в питательной среде DMEM.

Через 24 ч культивирования при $+37^\circ\text{C}$, 5% CO_2 и относительной влажности 90% в присутствии ванилина и через 1, 2 и 3 суток в присутствии гидрогелей жизнеспособность и функциональную активность клеток анализировали с помощью окрашивания флуоресцентными красителями с последующей проточной цитометрией, как описано ранее [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее мы показали, что важным преимуществом использования карбоксиалкилхитозанов для получения стимул-чувствительных гидрогелей в присутствии салицилового альдегида является возможность гелеобразования при физиологическом значении pH и при более низких мольных отношениях альдегид : полимер, чем в растворах хитозана [18]. Это в первую очередь связано с низкой стабильностью Шиффовых оснований при $\text{pH} < 5$ и соответственно быстрым разупорядочением гидрофобных ассоциатов, обеспечивающих формирование трехмерной гелевой сетки в слабо кислых растворах хитозана в отличие от слабо щелочных растворов карбоксиалкилхитозанов. В случае салицилимина хитозана стабильные гидрогели хитозана с ванилином (модуль на-

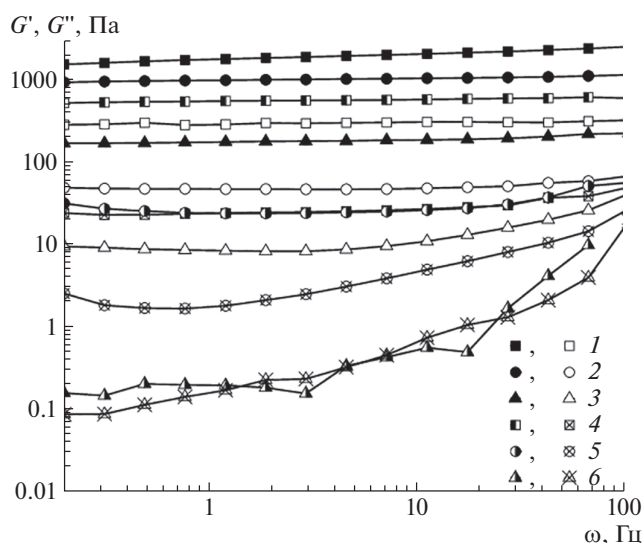


Рис. 1. Частотные зависимости модулей накопления (1–3) и потерь (4–6) гидрогелей КЭХ с салициловым альдегидом (1–3) и ванилином (4–6), полученных при мольном отношении альдегид : полимер = 1 : 2.5 (1, 4), 1 : 5 (2, 5), 1 : 10 (3, 6). Время гелеобразования 72 ч, температура 25°C . Данные для гидрогелей КЭХ с салициловым альдегидом приведены по работе [18].

копчений более 80 кПа) удалось получить только в растворах с высокой концентрацией высокомолекулярного хитозана [20].

В соответствии с литературными данными в наших экспериментах не наблюдали начала гелеобразования в 3%-ном растворе низкомолекулярного хитозана при мольных отношениях ванилин : полимер от 1 : 10 до 1 : 1 в течение 7 суток. Однако введение ванилина в раствор низкомолекулярного КЭХ в эквимольном отношении привело к мгновенному образованию геля и его быстрому синерезису. Время гелеобразования увеличивалось с 2 мин до 3 суток при отношении ванилин : КЭХ = 1 : 2.5 и 1 : 10 соответственно. Гелеобразование проходило равномерно во всем объеме с образованием прозрачных гидрогелей, хотя и более слабых по сравнению с гидрогелями салицилимина КЭХ, описанными нами ранее [18] (рис. 1).

Согласно данным элементного анализа (табл. 1) степень модификации КЭХ при отношении ванилин : полимер = 1 : 1 близка к значению 0.19, ранее установленному для салицилимина КЭХ [18], в растворе которого не наблюдали мгновенного формирования гидрогеля и его синерезиса. Ранее авторы работы [11] предположили, что при взаимодействии ванилина и хитозана помимо взаимной и водородной связей между гидроксильными группами ванилина и хитозана может образовываться дополнительная ковалентная ацетальная/полуацетальная связь, примеры та-

Таблица 1. Элементный состав и степень модификации гидрогелей КЭХ, полученных при разном мольном отношении ванилин : полимер

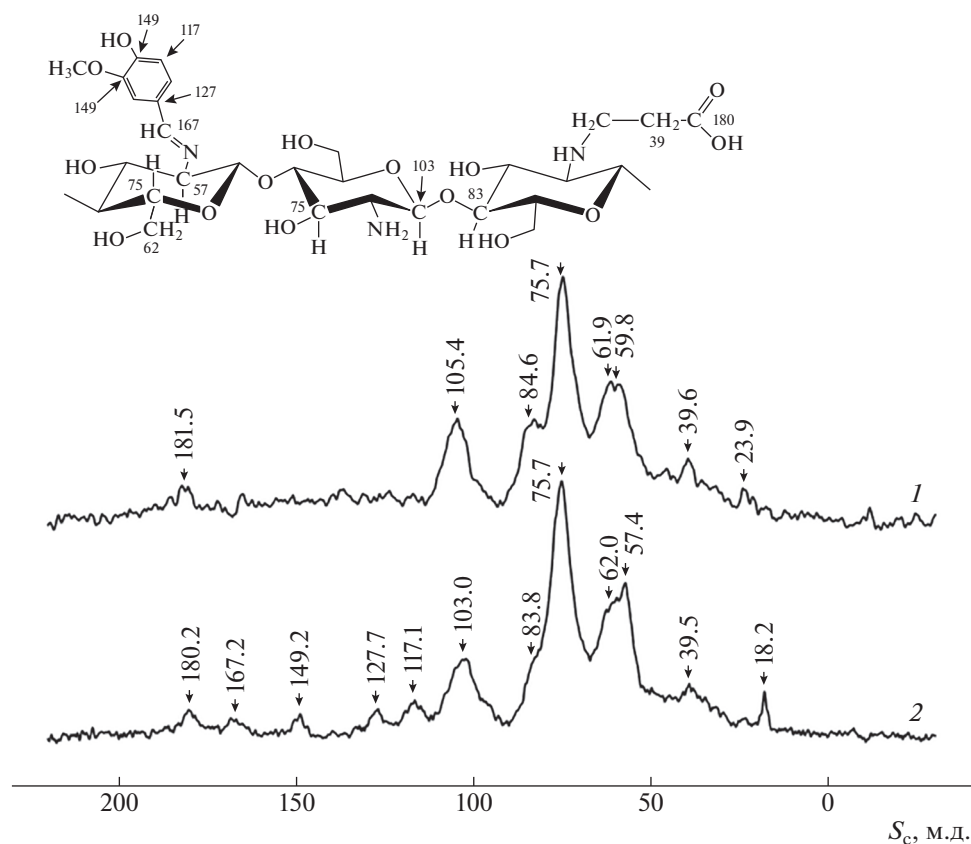
Мольное отношение альдегид : полимер	Содержание, мас. %			Атомное отношение С : N	Степень модификации
	С	Н	N		
1 : 1	45.4 ± 0.1	8.85 ± 0.01	6.04 ± 0.03	8.79 ± 0.07	0.18 ± 0.01
1 : 2.5	43.4 ± 0.9	8.8 ± 0.20	5.84 ± 0.10	8.68 ± 0.01	0.16 ± 0.01
1 : 5	42.6 ± 0.2	8.9 ± 0.10	5.95 ± 0.06	8.3 ± 0.05	0.12 ± 0.01

кой шивки имеются в литературе и для других полисахаридов [22, 23]. Однако в спектре ЯМР ^{13}C гидрогеля КЭХ с ванилином новые сигналы, которые можно было бы отнести к образованию ацеталей и полуацеталей (хим. сдвиг в области 94–108 м.д. [23]), отсутствовали (рис. 2). Относительно исходного полимера идентифицировали только сигналы, относящиеся к атомам углерода в ванилине и углероду при иминной связи.

Наиболее вероятно, что в гидрогелях КЭХ с ванилином значительную роль играют не дополнительные ковалентные связи, а межмолекулярные водородные связи между свободными и связанными с полимером молекулами ванилина, что

способствует образованию гидрофобных доменов, и соответственно вытеснению воды из полимерной сетки (схема 1). Косвенно это подтверждается тем, что при очень незначительных отличиях в величинах степени модификации для гидрогелей, полученных при мольных отношениях ванилин : КЭХ = 1 : 1 и 1 : 2.5 (табл. 1), в последнем случае синерезис не наблюдали.

Заметные различия в реологических свойствах гидрогелей КЭХ с ванилином и салициловым альдегидом, полученных при мольном отношении альдегид : КЭХ = 1 : 2.5 в 3 М растворе мочевины, также подтверждают большую роль водородных связей на начальных этапах формирова-

**Рис. 2.** Спектры CP/MAS ЯМР ^{13}C КЭХ (1) и гидрогеля КЭХ с ванилином (2), полученного при эквимольном отношении альдегид : полимер.

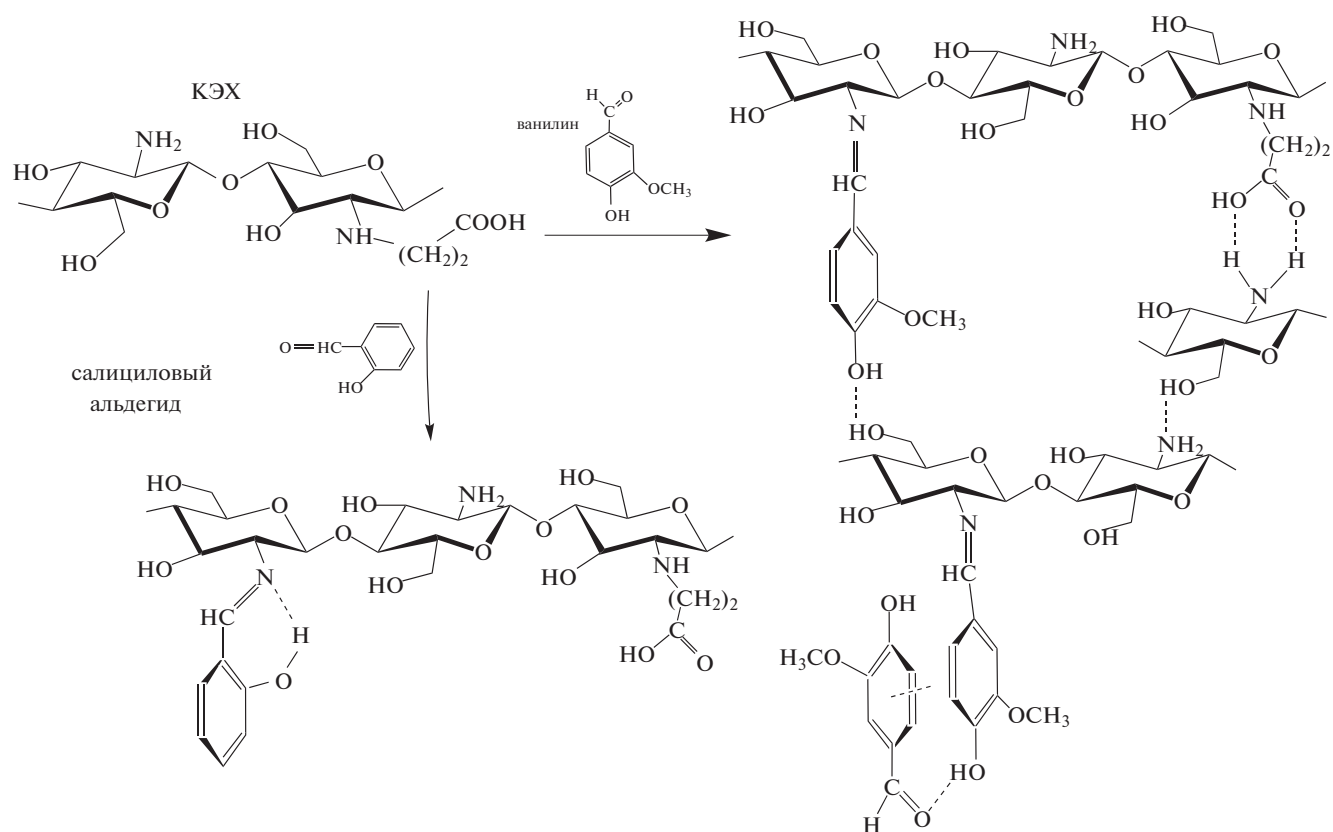


Схема 1

ния гидрогелей с ванилином (рис. 3). Через 24 ч, т.е. после завершения основного этапа гидрофобного упорядочения, присутствие мочевины влияло только на реологические свойства гидрогеля с салициловым альдегидом, в котором внутримолекулярная водородная связь определяет повышенную стабильность динамической иминной связи и, следовательно, эффективность формирования трехмерной структуры геля за счет гидрофобных взаимодействий между звеньями полимера с привитыми ароматическими заместителями. Вместе с тем, стоит отметить, что с уменьшением мольного отношения альдегид : КЭХ (1 : 5) влияние мочевины на реологические свойства гидрогелей наблюдали через 72 ч после добавления как ванилина, так и салицилового альдегида (данные не приводятся). Наиболее заметные изменения в ИК-спектрах продуктов взаимодействия КЭХ с ванилином (рис. 4) заключаются в появлении новой полосы при 1280 см^{-1} , которую можно отнести к валентным колебаниям С–О в фенольном гидроксиле ванилина, а также перераспределению интенсивностей полос в области $2700\text{--}3700\text{ см}^{-1}$, в которой проявляются водородные связи [24]. Таким образом, наряду с гидрофобными взаимодействиями межмолекулярными и внутримолекулярными водородными связями

действительно играют важную роль в формировании надмолекулярных структур в этих системах.

Динамическая природа связи в основаниях Шиффа хитозана с ароматическими аминами определяет рН-чувствительность таких гидрогелей и высвобождение альдегидов в раствор в кислой или щелочной среде [25]. Однако, в случае хитозана, который растворяется только в кислой среде, разрушение трехмерной структуры гидрогелей оснований Шиффа возможно только в кислой среде при $\text{pH} < 4$ [24], что ограничивает применение таких материалов как стимулчувствительных в физиологических условиях. Растворимость карбоксиалкилхитозанов в нейтральной и слабощелочной среде, где устойчивость иминной связи максимальна, позволяет не только получить более стабильные гидрогели, но и обеспечить возможность их диссоциации при физиологическом значении рН. Описанные ранее гидрогели высокомолекулярного хитозана с ванилином, полученные при мольном отношении ванилин : хитозан = 2 : 1 [20] и имеющие модуль накоплений более, чем на порядок выше, по сравнению с гидрогелями низкомолекулярного КЭХ с ванилином (рис. 1), полностью растворялись за 15 и 5 ч при температуре 23 и 45°C соответственно (рис. 5). Как видно на рис. 5, в диапазоне

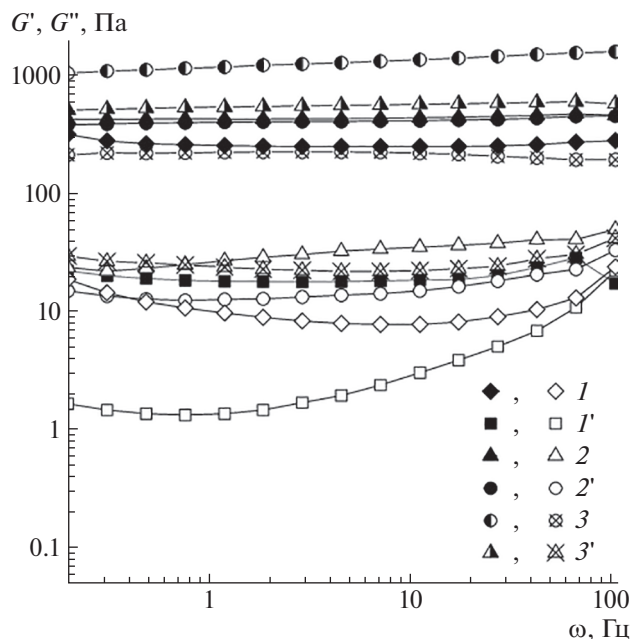


Рис. 3. Частотные зависимости модулей накопления (темные точки) и потерь (светлые) гидрогелей КЭХ с ванилином (1, 1', 2, 2') и салициловым альдегидом (3, 3'), полученных при мольном отношении альдегид : полимер = 1 : 2.5 в водном растворе (1–3) и в 3 М растворе мочевины (1'–3'). Время гелеобразования 72 ч, температура 25°C. Данные для гидрогелей КЭХ с салициловым альдегидом приведены по работе [18].

pH 4–8 растворимость гидрогелей КЭХ с ванилином, полученных при мольных отношениях ванилин : КЭХ = 1 : 2.5 и 1 : 5, в течение 24 ч при температуре 25°C не превышала 20%.

Обычно исследования набухания и растворимости гидрогелей для биомедицинского применения ограничиваются испытаниями в фосфатном буферном растворе при физиологическом значении pH. Однако установленное нами ранее значительное влияние аминокислот и белков на скорость растворения гидрогелей салицилиминов вследствие протекания реакции трансиминирования [9] свидетельствует о важности оценки стабильности стимулчувствительных гидрогелей в условиях, максимально приближенных к физиологическим условиям для клеток человека. Приведенные на рис. 6 данные по изменению массы гидрогелей при температуре 37°C в фосфатном буфере и среде DMEM для культивирования клеток млекопитающих подтверждают как более высокую стабильность гидрогелей КЭХ с ванилином по сравнению с аналогичными гидрогелями хитозана [20], так и значительно более высокую скорость растворения гидрогеля в присутствии аминокислот и белков. В первые 24 ч, за которые гидрогель КЭХ полностью растворился в среде DMEM, масса гидрогеля в фосфатном буфере увеличилась вдвое за счет набухания (рис. 6),

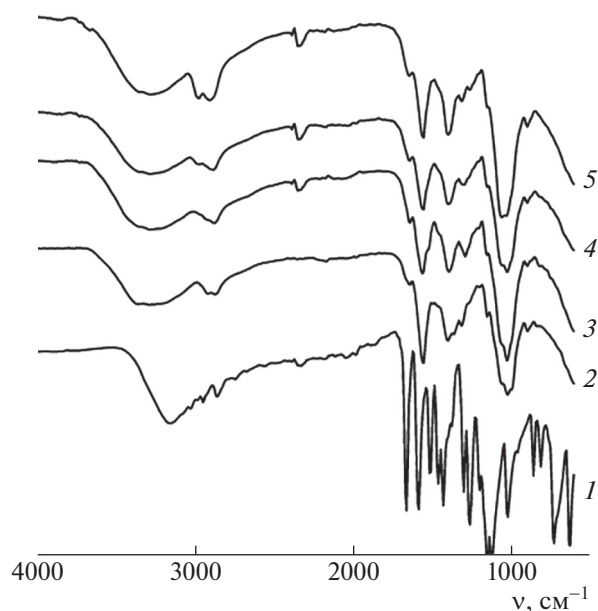


Рис. 4. ИК-спектры ванилина (1), КЭХ (2) и гидрогелей КЭХ с ванилином, полученных при мольном отношении ванилин : КЭХ = 1 : 5 (3), 1 : 2.5 (4), 1 : 1 (5).

при этом растворимость гидрогеля, определенная по результатам коллоидного титрования, как и при растворении при 25°C (рис. 5), не превышала 20%.

На рис. 7 представлены результаты анализа жизнеспособности и функциональной активности клеток НСТ 116 с помощью проточной цитометрии после культивирования в присутствии

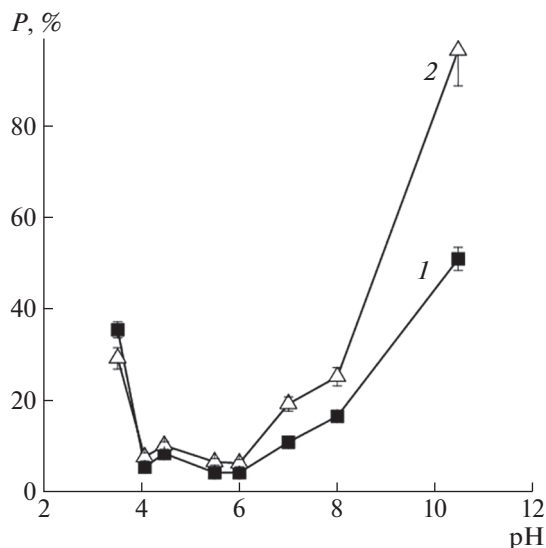


Рис. 5. Растворимость P гидрогелей КЭХ, полученных при мольном отношении ванилин : КЭХ = 1 : 2.5 (1) и 1 : 5 (2), в зависимости от pH при 25°C и времени контакта 24 ч.

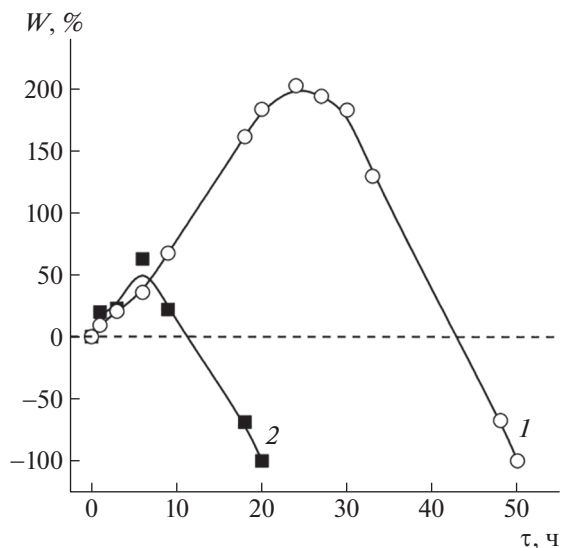


Рис. 6. Изменение массы гидрогеля W в процессе выдержки в фосфатном буферном растворе (1) и среде DMEM (2) при 37°C и pH 8. Гидрогель получен при мольном отношении ванилин : КЭХ = 1 : 2.5.

сшивающих агентов и гидрогелей. Клетки окрашивали с помощью H_2DCFDA для оценки активности митохондрий клеток, $\text{TO-PRO-3}^{\text{TM}}$ для детекции апоптозных клеток и DAPI для окраски мертвых клеток. Доля функционально активных клеток в контрольной культуре (К) в течение 3 суток была выше 80%, доля апоптозных клеток составляла 2.5–10.5%, а мертвых – 3–8%. Культивирование в течение 24 ч в присутствии ванилина (рис. 7а) приводило к значительному дозозависимому понижению доли активных клеток и резкому увеличению доли мертвых клеток, причем гибель большей части клеток не была связана с запуском апоптоза. Цитотоксичность ванилина была значительно ниже (рис. 7а, область 1) по сравнению с салициловым альдегидом (рис. 7а, область 4) при той же мольной концентрации. Существенно меньшую токсичность для клеток наблюдали для гидрогелей КЭХ с ванилином в течение 3 суток культивирования по сравнению с гидрогелями салицилиминов КЭХ. Через 24 часа

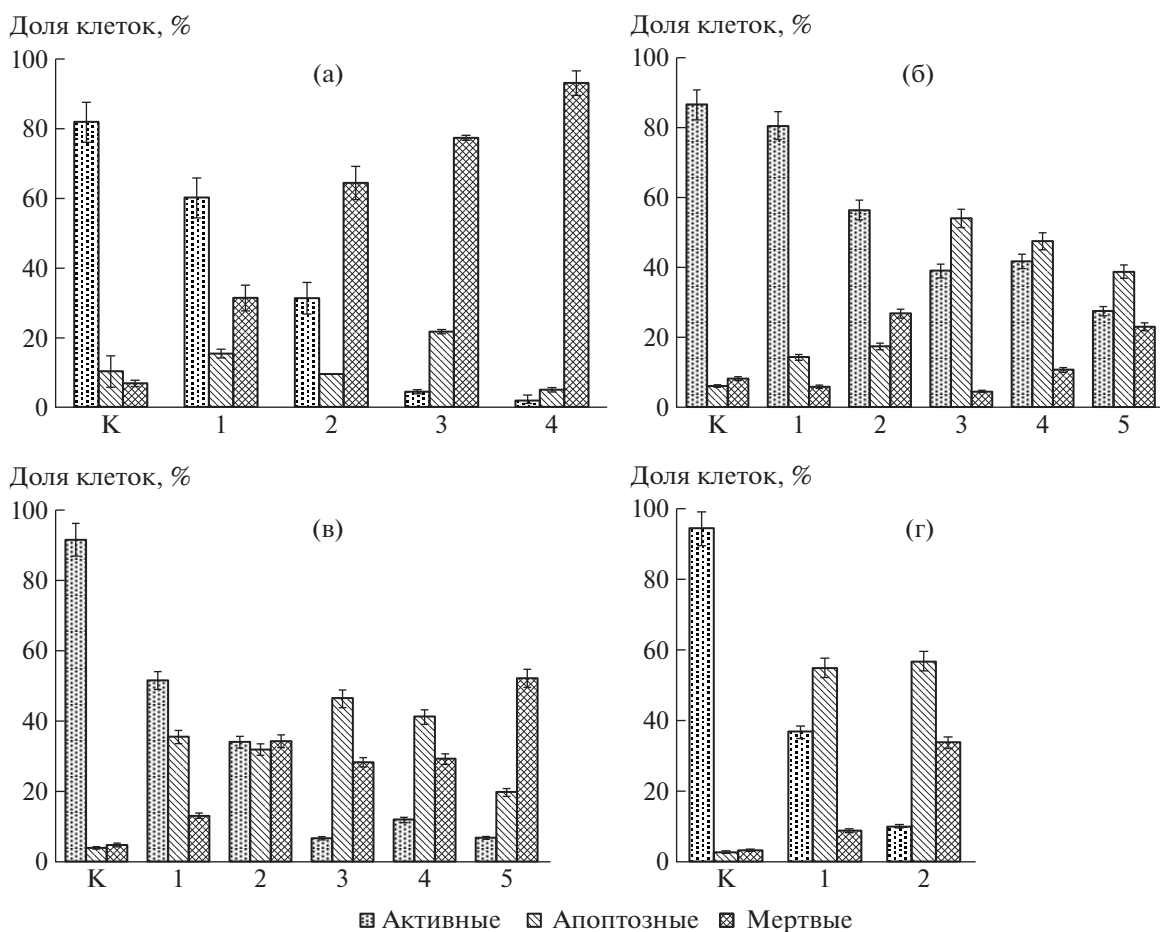


Рис. 7. Результаты оценки жизнеспособности и функциональной активности клеток карциномы прямой кишки человека (НСТ 116). а: Клетки после культивирования в течение 24 ч в присутствии сшивающих агентов в количествах, соответствующих мольному отношению к полимеру при сшивке, ванилин : КЭХ = 1 : 10 (1), 1 : 5 (2), 1 : 2.5 (3); салициловый альдегид : КЭХ = 1 : 5 (4); б–г: клетки после культивирования в присутствии гидрогелей КЭХ в течение 24 (б), 48 (в) и 72 ч (г), ванилин : КЭХ = 1 : 5 (1), 1 : 2.5 (2), салициловый альдегид : КЭХ = 1 : 10 (3), 1 : 5 (4) и 1 : 2.5 (5).

культивирования в присутствии гидрогеля КЭХ с ванилином, полученного при мольном отношении ванилин : КЭХ = 1 : 5 (рис. 7б, область 1), активность и жизнеспособность клеток недостоверно отличались от таковых контрольных клеток (рис. 7б, К). В то же время присутствие гидрогеля салицилимина КЭХ с тем же мольным отношением альдегид : полимер приводило к понижению доли активных клеток до 27–40% (рис. 7б, области 3–5) через 24 ч, а через 48 ч таких клеток оставалось всего 6–12% (рис. 7в, области 3–5). В связи с этим анализ состояния клеток через 72 ч культивирования (рис. 7г) был целесообразен только для клеток в гидрогелях ванилина. В гелях, полученных при мольном отношении ванилин : КЭХ = 1 : 5 (рис. 7г, область 1), функционально активными оставались около 40% клеток, а у значительной доли клеток (55%) наблюдали индукцию апоптоза. Несмотря на это, гидрогели КЭХ, полученные с использованием ванилина, в ряде случаев можно рассматривать как более перспективную альтернативу гидрогелям салицилиминов хитозана и КЭХ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование гелеобразования в растворе низкомолекулярного КЭХ со степенью замещения 0.38 в присутствии ванилина показало, что в отличие от хитозана КЭХ с ванилином можно использовать для получения стимулчувствительных гидрогелей с хорошими механическими свойствами. Скорость высвобождения ванилина как биологически активного альдегида из гидрогеля также может быть существенно снижена при использовании вместо хитозана его карбоксиалкилированного производного. Исследование влияния ванилина и гидрогелей КЭХ с ванилином на жизнеспособность опухолевых клеток НСТ 116 подтвердило более низкую цитотоксичность полученных материалов по сравнению с гидрогелями, сшитыми салициловым альдегидом. Быстрое образование гидрогелей с малотоксичным ванилином, может быть полезным в 3D-печати для стабилизации структуры гидрогеля КЭХ, когда скорость образования основных ковалентных швов, в том числе фотосшивок, недостаточно высока, и ванилин играет роль “жертвенного” сшивающего агента.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 20-13-00399).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Wilson A., Gasparini G., Matile S.* // Chem. Soc. Rev. 2014. V. 43. № 6. P. 1948.
2. *Wang L.L., Highley C., Yi-Cheun Y., Galarraga J.H., Uman S., Burdick J.* // J. Biomed. Mater. Res. A. 2018. V. 106. № 4. P. 865.
3. *Huang S., Kong X., Xiong Yi., Zhang X.* // Eur. Polym. J. 2020. V. 141. № 80. P. 110094.
4. *Ye J., Fu Sh., Zhou Sh., Li M., Li K., Sun W., Zhai Yi.* // Eur. Polym. J. 2020. V. 139. № 5. P. 110024.
5. *Guo B., Qu J., Zhao X., Zhang M.* // Acta Biomater. Acta Materi.Inc. 2019. V. 84. P. 180.
6. *Marin L., Ailincăi D., Mares M., Paslaru E., Cristea M., Niva V., Simionescu B.* // Carbohydr. Polym. 2015. V. 117. P. 762.
7. *Iftime M., Rosca I., Sandu A.-I., Marin L.* // Int. J. Biol. Macromol. 2022. V. 205. № 8. P. 574.
8. *Qu J., Zhao X., Ma P., Guo B.* // Acta Biomater. Acta Mater. Inc. 2017. V. 58. P. 168.
9. *Bratskaya S.Yu., Skatova A.V., Privar Yu.O., Boroda A.V.* // Gels. 2021. V. 7. № 4. P. 188.
10. *Jagadish R.S., Divyashree K.N., Viswanath P., Srinivas P.* // Carbohydr. Polym. 2012. V. 87. № 1. P. 110.
11. *Zou Q., Li J., Li Yu.* // Int. J. Biol. Macromol. 2015. V. 79. P. 736.
12. *Arya S.S., Rookes J., Cahill D., Lenka S.* // Adv. Tradit. Med. 2021. № 21. P. 1.
13. *Kovaříček P., Lehn J.M.* // J. Am. Chem. Soc. 2012. V. 134. № 22. P. 9446.
14. *Hu J., Wanhg Z., Miszuc J., Zhu M., Lansakara T., Tivanski A., Banas J., Sun H.* // Carbohydr. Polym. 2021. V. 271. P. 118440.
15. *Hunger M., Domalik-Pyzik P., Reczynska K., Chlopek J.* // Eng. Biomater. 2020. V. 155. P. 2.
16. *Marin L., Stoica Iu., Mares M., Dinu V., Simionescu B., Barboiu M.* // J. Mater. Chem. B. 2013. V. 1. № 27. P. 3353.
17. *Zhang Z.H., Han Z., Zeng X., Xiong X., Liu Yu.* // Int. J. Biol. Macromol. 2015. V. 81. P. 638.
18. *Bratskaya S.Yu., Privar Yu.O., Skatova A.V., Slobodyuk A.B., Kantemirova E.V., Pestov A.V.* // Carbohydr. Polym. 2021. V. 274. P. 118618.
19. *Pestov A.V., Zhuravlev N.A., Yatluk Y.G.* // Russ. J. Appl. Chem. 2007. V. 80. № 7. P. 1154.
20. *Xu C., Zhan W., Tang X., Mo F., Fu L., Lin B.* // Polym. Test. 2018. V. 66. P. 155.
21. *Tomihata K., Ikada Y.* // J. Polym. Sci. 1997. V. 35. № 16. P. 3553.
22. *Distantina S., Rochmadi R., Fanrurrozi M., Wiratni W.* // Eng. J. 2013. V. 17. № 3. P. 57.
23. *Structure Determination of Organic Compounds: Tables of spectral data / Ed. by E. Pretsch, P. Bühlmann, C. Afholter.* Berlin: Springer, 2000.
24. *Iftime M.M., Morariu S., Marin L.* // Carbohydr. Polym. 2017. V. 165. P. 39.
25. *Chabbi J., Jennah O., Katir N., Lancini M., Bousmina M., Kadib A.* // Carbohydr. Polym. 2018. V. 183. № 1. P. 287.