ХИМИЧЕСКАЯ ФИЗИКА ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ

УДК 542.06

СМЕШЕНИЕ РАСТВОРОВ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ ПОЛИМЕРОВ В УСЛОВИЯХ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ДИСПЕРГИРОВАНИЯ И МИКРОВОЛНОВОГО СВЧ-НАГРЕВА

© 2019 г. В. Н. Горшенёв*

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия

**E-mail: gor@sky.chph.ras.ru* Поступила в редакцию 23.05.2018; после доработки 23.05.2018; принята к публикации 20.06.2018

Предложен способ смешения растворов и суспензий, основанный на использовании ультразвукового диспергирования и термостимулированного СВЧ-нагрева. Приведены результаты смешения биодеградируемых полимеров в хлороформе с водными суспензиями природных полимеров. Рассмотрен процесс смешения раствора полимера и магнитной жидкости. Установлено, что предложенный способ позволяет совмещать суспензии полимеров различной природы для построения тканеинженерных конструкций.

Ключевые слова: биодеградируемые полимеры, тканеинженерные конструкции, ультразвуковое диспергирование, СВЧ-нагрев.

DOI: 10.1134/S0207401X19020055

введение

В химическом материаловедении, биоматериаловедении, тканевой инженерии задачи смешения полимеров и компонентов различной природы представляют научный и практический интерес [1–3]. Биокомпозиты на основе природных полимеров, таких как полисахариды, альгинат натрия, хитозан, имеют низкую механическую прочность, быстрое время резорбции, и, как следствие, имеются сложности при работе с этими хрупкими материалами, но модифицирование биокомпозитов биодеградируемыми полимерами типа полилактид, поли-3-гидроксибутират улучшает прочностные свойства.

Известно применение техники ультразвукового диспергирования для совмещения различных компонентов и синтеза химических соединений [4]. В работах [5–7] предложены методики синтеза частиц гидроксиапатита – неорганической составляющей костной ткани с применением механоакустической обработки реакционных смесей и смешения жидких сред при пропускании через гидроакустический преобразователь под давлением, превышающим порог кавитации. Предлагаемые способы позволили синтезировать коллагенкальций-фосфатные композиции и сформировать пористые биокомпозиты для замещения дефектов костной ткани. В работе [8] проведено совмещение растворов хитозана в уксусной кислоте с раствором полилактида в тетрагидрофуране и/или диоксане. Смешение растворов проводилось в течение 30 мин под действием ультразвуковой обработки с частотой колебаний 21.5 кГц.

Важное значение при создании синтетических костезамещающих материалов имеют свойства поверхности биокомпозитов, влияющие на взаимодействие с клетками. Воздействовать на поведение клеток, как отмечается в работах [4, 9], можно путем модифицирования поверхности биокомпозитов биохимическими медиаторами, биологически активными веществами или путем создания архитектуры поверхности. Такой подход может обеспечить прочную адгезию клеткам и контакт синтетического материала с костной тканью. При отсутствии таких контактов изменяются условия протекания ряда биологических процессов. Способность к интеграции биокомпозитов в костную ткань определяется в первую очередь структурой белкового слоя поверхности, механизмами адсорбции и адгезии клеток. В работе [9] отмечена роль топографии поверхности и показано, что структурирование поверхности в наноразмерном диапазоне влияет на взаимодействие поверхности с клетками окружающей ткани. Развитие перспективного направления по совмещению синтетических и природных полимеров, смешению растворов полимеров и неорганических соединений различной природы приводит к получению биоматериалов с широким спектром поверхностных

| Масса СаНРО ₄ · H ₂ O, г | Macca Ca(OH) ₂ , г | Гидромодуль | Z-average size, нм | PdI |
|------------------------------------------------|-------------------------------|-------------|--------------------|-------|
| 700 | 178 | 11 | 2774 | 0.632 |
| 62.5 | 16 | 121 | 2952 | 0.629 |
| 32.8 | 8.3 | 231 | 2578 | 0.392 |

Таблица 1. Влияние гидромодуля на дисперсность золя гидроксиапатита (ГАП-1), синтезированного конденсационным способом

свойств. В работах [10—14] представлены результаты применения биоматериалов и методов тканевой инженерии костной ткани с указанием необходимых требований к синтетическим материалам для испытаний в живых системах.

Тепловые приемы совмещения полимерных компонентов экструзией, литьем, прессованием и другими методами смешения в ряде случаев затруднительны, так как компоненты перерабатываемых композиций подвергаются термической и термоокислительной деструкции. Поэтому разрабатываются новые приемы смешения растворов полимеров с различными компонентами [15]. В данной работе предлагается новый подход, позволяющий создавать смешанные композиты с необходимыми свойствами поверхности.

Цель работы состояла в изготовлении смешанных полимерных композиций, а также в определении условий смешения биодеградируемых полимеров в хлороформе с коллоидными водными суспензиями под действием ультразвукового диспергирования компонентов и микроволнового СВЧ-нагрева.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для определения условий смешения были подготовлены растворы полимеров в хлороформе, водные суспензии неорганических соединений и суспензии желатина с частицами гидроксиапатита (ГАП). Изготовлены полимерные растворы в хлороформе с концентрацией 6–7% на основе мелкодисперсного порошка поли-3-гидроксибутирата (ПГБ) немецкой фирмы "Biomer" с молекулярной массой $M_w = 2.5 \cdot 10^5$ г/моль и гранул полимолочной кислоты (полилактид (ПЛА)) марки 4032D производства компании Nature Works (США) с $M_w = 1.7 \cdot 10^5$ г/моль.

Кальций-фосфатные суспензии синтезировались по реакции

с включением в технологическую схему роторнопульсационного аппарата [16].

В реактор помещали 5 л дистиллированной воды, включали двигатель аппарата (1500 мин⁻¹) и загружали навеску гидрата монофосфата кальция (табл. 1). Двигатель выводили на рабочий режим (3000 мин^{-1}) и выдерживали раствор 2 мин при 35°С. Суспензию навески гидроксида кальция (табл. 1) в 4.5 л воды вводили постепенно со скоростью 1 л/мин. После добавления гидроксида кальция реакционную смесь обрабатывали в течение 20 мин при температуре 70°С, контролируя изменение величины рН. Реакцию считали законченной по достижения значения рН 6.3. Белую однородную подвижную пульпу разбавляли в 50 раз дистиллированной водой, интенсивно перемешивали в течение 1 мин и проводили измерение среднего значения размеров частиц (Z-average size) и инлекса полилисперсности (PdI). Измерение проводили с использованием прибора Zetasizer Nano ZS Zen3600 фирмы "Malvern". Результаты измерений представлены в таблице.

Приготовление небольших количеств ГАП по реакции (1) проводили также с применением ультразвукового диспергатора (УЗДН-А, частота – 22 кГц). Суспензию гидрата монофосфата кальция готовили путем растворения СаНРО₄ в ультразвуковом поле (УЗДН-А) в воде в соотношении 3.28 г $B 0.5 л в течение 2 мин. Суспендирование Ca(OH)_2$ в воде также проводили до полного растворения в УЗ-поле в соотношении 0.83 г на 0.5 л в течение 2 мин. Суспензию Ca(OH)₂ добавляли малыми дозами с диспергированием в суспензию СаНРО₄. Весь процесс диспергирования длился от 3 до 5 мин. Изготовление суспензии природного полимера (желатина, коллагена) по реакции (1) проводили путем смешения (5%) желатинового раствора с гидратом монофосфата кальция и раствором гидроксида кальция. Раствор гидроксида кальция постепенно добавляли в реакционную смесь при постоянной обработке под действием ультразвуковых колебаний (УЗДН-А) в течение 20 мин при температуре до 50°С. После приготовления кальций-фосфатных суспензий проводили центрифугирование. При центрифугировании кальций-фосфатной суспензии на центрифуге Allegro 64R фирмы "Beckman" в режиме 6000 об/мин в течение 15-20 мин при 10°С, образуются осадки пастообразной консистенции. Пастообразный ГАП (или концентрат) с меньшим содержанием воды совмещался с растворами биодеградируемых полимеров ПЛА и ПГБ. Смешение раствора полимера с частицами гидроксиапатита осуществляли в цилиндрическом реакторе, в кото-



Рис. 1. Образцы пористых композитов из смеси ПГБ/ГАП: *a* – образец после высушивания на диэлектрической подложке в СВЧ-печи, *б* – образец после выброса смеси из реактора под действием излучения СВЧ-печи.

рый помещался излучатель ультразвуковых колебаний. После диспергирования смеси в течение 3-5 мин в реактор вводился слой воды. Над слоем смеси полимеров с частицами ГАП высотой порядка 3 см размещался слой воды высотой 3-5 см. Подготовленный таким способом реактор помещался в СВЧ-печь (частота – 2.45 ГГц, мощность – ≈800 Вт, SHARP). Через 30 с взаимодействия с СВЧ-излучением на поверхности воды формировался пористый композит (рис. 16). При дополнительном высушивании под действием излучения СВЧ-печи формировались пористые образцы композитов. На рис. 1а представлен образец пористого композита, полученного путем смешения 7%-ного раствора ПГБ в хлороформе с концентратом из частиц ГАП (из расчета до 20 мас. % на количество полимера).

В результате смешения растворов биодеградируемых полимеров в хлороформе с частицами гидроксиапатита, с желатин-гидроксиапатитовыми концентратами, с 3%-ным раствором хитозана в 50%-ной уксусной кислоте и другими соединениями были получены смеси полимерных композиций с большим содержанием жидкой фазы. Дальнейшее применение полученных полимерных композиций определялось задачами их использования. Поэтому были изготовлены образцы в виде порошков, пластин, прутков и других форм. Результаты смешения компонентов определяли методами дифференциально-сканирующей калориметрии (ДСК), термогравиметрического анализа (ТГА) и по ИК-спектрам.

Теплофизические характеристики композитов анализировали на сканирующем калориметре ("Netzsch", Германия, модель DSC-204 F1). Термогравиметрический анализ образцов проводили на термомикровесах TG 209 F1 Iris фирмы "Netzsch" (Германия). ИК-спектры отражения от

ХИМИЧЕСКАЯ ФИЗИКА том 38 № 2 2019

прессованных пластин исследовали с помощью спектрометра Nicolet 380 (стекло ZnSe).

Для визуализации протекания процесса смешения под действием ультразвукового диспергирования и СВЧ-нагрева в работе применялась магнитная жидкость (МЖ). Последнюю получали при взаимодействии солей двух- и трехвалентного железа в воде с последующей обработкой аммиаком по методике, описанной в работе [17]. Стабилизация частиц магнетита осуществлялась в фосфат-цитратном буфере. Размеры частиц магнетита (Fe₃O₄) характеризовались распределением с максимумом при 17 нм и полушириной в 12 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Смешение растворов биодеградируемых полимеров в хлороформе с суспензиями природных полимеров и суспензиями неорганических соединений проводили в одинаковых условиях под действием ультразвукового диспергирования в течение 3–5 мин и СВЧ-нагрева в течение 30–60 с. Водный слой, через который происходит выброс смешанной композиции, действует как осадитель биодеградируемых полимеров. Смешение раствора ПГБ с частицами гидроксиапатита показало хорошую повторяемость процесса и выход продукта смешения ПГБ/ГАП до 3 г (по сухому весу) в трех экспериментах. Вес пористого образца с жидкой фазой превышал вес высушенного образца в 4–5 раз.

Смешение раствора полилактида (весом 20 г) с водной суспензией желатина с частицами ГАП (весом 10 г) также проводили в условиях ультразвукового диспергирования. Сравнение ИК-спектров пленки из полилактида и пленки из образца смеси полилактида с желатин-гидроксиапатитовой композицией (ПЛА-ГАП-Ж) показало, что наи-



Рис. 2. Динамика изменений распределений смешиваемых хлороформных и водных суспензий в условиях ультразвукового диспергирования и микроволнового (СВЧ) нагрева: a - внизу слой хлороформа внизу, слой МЖ вверху; $\delta - вид$ смеси через 15 мин после ультразвукового диспергирования, которое проводилось в течение 3 мин; e - вид суспензий через 5 ч; к этому времени происходит расслаивание суспензий: e - слой 7%-ного ПГБ в хлороформе внизу, слой МЖ вверху; $\partial - вид$ смеси через 2 мин после ультразвукового диспергирования, которое проводилось в течение 3 мин; e - вид смеси через 15 мин после ультразвукового диспергирования, которое проводилось в течение 3 мин; e - вид смеси через 15 мин после ультразвукового диспергирования, которое проводилось в течение 3 мин; e - выброс смеси после микроволнового нагрева в виде клубка твердой фазы.

более рельефное различие в спектрах между ПЛА и ПЛА-ГАП-Ж наблюдается в областях поглощения 1800–1700 и 1100–1000 см⁻¹. В области 1800–1700 см⁻¹ зарегистрировано появление плеча у полосы поглощения v(CO) и усложнение спектра в области 1100–1000 см⁻¹.

Смешение раствора ПГБ в хлороформе с раствором хитозана в уксусной кислоте проводилось без дополнительного наслаивания воды. Так как 3%-ный раствор хитозана был приготовлен в 50%-ном растворе уксусной кислоты в воде, то в этом эксперименте на полученную смесь вода не наслаивалась. Тем не менее вода в синтезированном образце оставалась в большом количестве. Сравнение результатов дифференциально-сканирующей калориметрии для исходного порошка хитозана и смеси ПГБ с хитозаном показало, что в смеси ПГБ-хитозан присутствует природный полимер хитозан. Значение температуры плавления ПГБ из данных ДСК соответствует техническим данным полимера: 173–180°С.

Смешение растворов ПЛА и ПГБ с одинаковым весом в 25 г проводили путем диспергирования под действием ультразвуковых колебаний в течение 2 мин. Реактор помещался в СВЧ-печь. Растворитель удаляли нагревом в течение 30 с с интервалом в 1 мин, процедуру повторяли 4 раза. На дне и стенках реактора образовались тонкие пленки из смеси полимеров весом 1.0–1.3 г.

Другой эксперимент смешения растворов ПЛА и ПГБ с одинаковым весом в 17.8 г также проводили путем диспергирования под действием ультразвуковых колебаний в течение 2 мин. После диспергирования на смесь полимеров наносили слой воды весом 17.8 г. В результате СВЧ-нагрева образовался образец смешанной композиции из двух полимеров весом до 3 г с большим содержанием воды. Вода в этом эксперименте удалена путем дополнительного СВЧ-нагрева. Методом ТГА установлено, что при нагревании образцов сначала начинается потеря массы ПГБ при 300°С, а при 400°С – потеря массы полилактида.

Проведенные эксперименты по смешению различных растворов полимеров показали, что предлагаемым способом могут быть синтезированы образцы биодеградируемых полимеров с природными полимерами. Такой подход расширяет возможности дальнейшего модифицирования, в частности прививки к полимерной поверхности других белковых соединений [18, 19].

Биокомпозиты, содержащие воду, полярные растворители, электропроводящие частицы при взаимодействии с микроволновым излучением (СВЧ-диапазона) интенсивно нагреваются. В результате происходит удаление из биокомпозитов жидких веществ, переходящих в газовую фазу. В результате формируется пористая структура образца материала.

Для визуального наблюдения за процессом смешения раствор полимера (ПГБ) в хлороформе смешивался с магнитной жидкостью. На рис. 2 представлены результаты смешения компонентов, иллюстрирующие рассматриваемый подход. Смешение хлороформа с МЖ (рис. 2*a*) из частиц магнетита размером 17-20 нм в цитрат-фосфатном буфере осуществлялось в условиях ультразвукового диспергирования на частоте 22 кГц в течение 3-5 мин (рис. 26). Через 15 мин можно наблюдать (рис. 2в) расслаивание смешанной суспензии и восстановление системы к начальному виду. В отличие от опыта, представленного на рис. 2 вверху, на фотографиях внизу представлены результаты лиспергирования частии магнитной жидкости в 7%-ном растворе ПГБ в хлороформе. Не допуская расслаивания смешанной суспензии, реактор (рис. 2е) помещали в СВЧ-печь. Через 30 с происходил выброс смешанной композиции с образованием пористого образца твердой фазы (рис. 2ж). В результате получилась полимерная композиция, в которой были распределены частицы магнетита с ферромагнитными свойствами.

В предлагаемом способе смешения в реакторе формируется двухслойная конструкция, состоящая из нижнего слоя с меньшей температурой кипения (в случае хлороформа – 61.2°С, плотность – 1.48 г/см³) по сравнению с верхним слоем жидкости – водой. В нижнем слое суспензии диспергированы компоненты несмешиваемых жидкостей. В результате термостимулированного нагрева под действием СВЧ-излучения происходят кипение нижнего слоя жидкости и выброс пористого продукта смешения в виде "клубка" твердой фазы (рис. 23).

Смешение растворов полимеров в одном и том же растворителе — хлороформе, смешение с неорганическими и органическими соединениями под действием ультразвукового диспергирования и СВЧ-нагрева показало возможность формировать таким способом композиты для различных приложений и переработки другими методами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Смешение растворов полимеров с водными растворами природных полимеров позволяет получать образцы материалов для дальнейшего модифицирования поверхности композитов с целью улучшения взаимодействия с культурами клеток. Таким образом, могут быть модифицированы биодеградируемые полимеры природными полимерами, и, соответственно, расширяется

ХИМИЧЕСКАЯ ФИЗИКА том 38 № 2 2019

возможность прививки к полимерной поверхности других белковых соединений.

Работа выполнена при поддержке Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 15-29-04862).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Карапетьянц М.Х.* Химическая термодинамика. М.: Химия, 1975.
- Наноструктуры в биомедицине / Под редакцией Гонсалвес К.Е., Хальберштадт К.Р., Лоренсин К.Т., Наир Л. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015.
- 3. Попков А.В. // Гений ортопедии. 2014. Вып. № 3. С. 94.
- Акопян В.Б., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами. М.: Юрайт, 2016. С. 223.
- 5. Горшенев В.Н., Телешев А.Т., Ершов Ю.А. и др. Способ получения пористого костного биокомпозита // Патент РФ № 2482880. Б.И. 2013. № 15.
- 6. Горшенёв В.Н., Телешев А.Т., Колесов В.В., Акопян В.Б., Будорагин Е.С. Способ получения гидроксиапатитколлагенового композита // Патент № 2 631 594. 2017.
- 7. *Горшенёв В.Н., Телешев А.Т., Колесов В.В. и др.* Способ смешивания жидких сред // Патент № 2626355. 2017.
- Смирнова Л.А., Мочалова А.Е., Цверова Н.Е. и др. Способ получения композиционных рассасывающихся материалов на основе хитозана и полилактида // Патент РФ № 2540468. 2006.
- 9. *Иорданский А.Л., Роговина С.З., Берлин А.А.* // Обзорный журнал по химии. 2013. Т. 3. № 2. С. 129.
- 10. Иванов А.Е., Зубов В.П. // Успехи химии. 2016. Т. 85. № 6. С. 565.
- 11. Ларионов П.М., Садовой М.А., Самохин А.Г. и др. // Хирургия позвоночника. 2014. № 3. С. 77.
- Кузнецова Д.С., Тимашев П.С., Баграташвили В.Н., Загайнова Е.В. // Соврем. технол. мед. 2014. Т. 6. № 4. С. 201.
- 13. Терещенко В.П., Ларионов П.М., Кирилова И.А., Садовой М.А., Мамонова Е.В. // Хирургия позвоночника. 2016. Т. 13. № 1. С. 72.
- 14. Шиповская А.Б., Островский Н.В., Сальковский Ю.Е. и др. Биополимерное волокно, состав формовочного раствора для его, способ получения формовочного раствора, полотно биомедицинского назначения, способ его модификации, биологическая повязка и способ лечения ран // Патент РФ 2468129. 2010.
- 15. Кулезнев В.Н. Смеси полимеров. М.: Знание, 1984.
- Горшенев В.Н., Ершов Ю.А., Телешев А.Т. и др. // Мед. техника. 2014. № 1. С. 30.
- Филиппов В.И., Кузнецов А.А. // Матер. 1-го симпоз. "Применение биомагнитных носителей в медицине". М.: ИБХФ РАН 2002.
- Shtilman I. // J. Siberian Federal University. Biology. 2015. V. 8. № 2. P. 113.
- 19. Суворова А.И., Тюкова И.С., Труфанова Е.И. // Успехи химии. 2000. Т. 69 № 5. С. 494.