

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
ИМ. А.Н. НЕСМЕЯНОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

На правах рукописи

Мичуров Дмитрий Алексеевич

**ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА НОВЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ КРИОГЕЛЕЙ
ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА, ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В
КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ**

1.4.7. Высокомолекулярные соединения

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2024

Работа выполнена в лаборатории криохимии (био)полимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН).

Научный руководитель:

Лозинский Владимир Иосифович, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией криохимии (био)полимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН).

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. КРИОГЕЛИ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА И КОМПОЗИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ИХ ОСНОВЕ: ПОЛУЧЕНИЕ, СВОЙСТВА	13
1.1. Основные понятия о физически-сшитых криогелях поливинилового спирта	13
1.2. Криотропное гелеобразование растворов поливинилового спирта.....	14
1.3. Структура и диффузионные характеристики криогелей поливинилового спирта	17
1.4. Физико-механические характеристики криогелей поливинилового спирта ...	21
1.5. Зависимость структуры и свойств криогелей ПВС от различных факторов... 24	
1.5.1. Зависимость свойств криогелей ПВС от характеристик полимера	24
1.5.2. Влияние условий криогенной обработки на свойства криогелей ПВС.....	28
1.5.3. Зависимость свойств криогелей ПВС от природы и состава исходного растворителя	33
1.5.4. Влияние низкомолекулярных добавок на свойства криогелей ПВС	34
1.6. Композитные криогели поливинилового спирта.....	36
1.6.1. Особенности свойств полимерных композиционных материалов, содержащих дисперсные частицы.....	37
1.6.2. Композитные криогели ПВС с дисперсными наполнителями в виде полимерных сферических частиц.....	41
1.6.3. Композитные криогели ПВС с дисперсными наполнителями в виде коротких волокон	47
ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	51
2.1. Материалы и препараты	51
2.2. Оборудование	51
2.3. Методики проведения экспериментов	52

2.3.1. Ненагруженные и нагруженные лекарственным веществом микросферы ПОМК	52
2.3.2. Приготовление растворов ПВС	53
2.3.3. Получение суспензий микросфер ПОМК в растворе ПВС	54
2.3.4. Приготовление растворов ПВС/ПОМК в общем растворителе	54
2.3.5. Дифференциально-сканирующая калориметрия растворов ПВС и ПОМК	55
2.3.6. Формирование криогелей ПВС и композитных криогелей ПВС/ПОМК	55
2.3.7. Общая методика измерения физико-механических свойств ненаполненных и композитных криогелей ПВС	56
2.3.8. Изменение массы и объема образцов криогелей ПВС	56
2.3.9. Определение количества ПОМК в образцах композитных криогелей после замены растворителя	57
2.3.10. Оптическая микроскопия	57
2.3.11. Сканирующая электронная микроскопия образцов криогелей ПВС и микросфер ПОМК	58
2.3.12. Насыщение образцов криогелей ПВС натриевой солью ибупрофена	58
2.3.13. Изучение кинетики высвобождения лекарственных веществ из образцов криогелей ПВС	59
ГЛАВА 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	60
3.1. Криогели ПВС, сформированные из растворов в ДМСО с добавками мочевины	60
3.1.1. Влияние добавок мочевины на свойства криогелей ПВС	60
3.1.2. Механизм «космотропного» влияния мочевины на криотропное гелеобразование ПВС в среде ДМСО	64
3.1.3. Изменение свойств криогелей ПВС, полученных в среде ДМСО с добавками мочевины, в процессе замены органического растворителя на воду	66
3.1.4. Структурно-морфологические особенности «вторичных» криогелей ПВС	72
3.1.5. Динамика насыщения «вторичных» криогелей ПВС лекарственным веществом и последующего его высвобождения из полимерного носителя	75

3.2. Композитные криогели ПВС/ПОМК, полученные в среде ДМСО	80
3.2.1. Дифференциально-сканирующая калориметрия растворов используемых полимеров в ДМСО.....	80
3.2.2. Изменение свойств композитных криогелей ПВС/ПОМК, полученных в среде ДМСО, в процессе замены органического растворителя на воду	81
3.2.3. Влияние молекулярной массы ПОМК на свойства композитных криогелей ПВС.....	85
3.2.4. Структурная морфология композитных криогелей ПВС/ПОМК	87
3.2.5. Введение натриевой соли ибупрофена в состав композитных криогелей ПВС/ПОМК и кинетика высвобождения лекарственного вещества	90
3.3. Композитные криогели ПВС, содержащие дисперсные частицы ПОМК	92
3.3.1. Влияние микросфер ПОМК на физико-механические характеристики композитных криогелей ПВС	92
3.3.2. Структурные особенности композитных криогелей ПВС, наполненных микросферами ПОМК.....	94
3.3.3. Сравнение микросфер на основе ПОМК, с макроскопическими порами и без макроскопических пор.....	95
3.3.4. Физико-механические характеристики ненаполненных и композитных криогелей ПВС, содержащих ММП и МБМП	98
3.3.5. Исследование высвобождения лекарственных веществ из ненаполненных и композитных криогелей ПВС	100
3.3.5.1. Высвобождение натриевой соли ибупрофена.....	100
3.3.5.2. Высвобождение симвастатина.....	105
3.4. Криогели ПВС, полученные в среде смеси ДМСО/ДМФА.....	107
3.4.1. Изменение свойств криогелей, полученных в среде смеси ДМСО/ДМФА, в процессе замены органического растворителя на воду	107
3.4.2. Особенности структуры криогелей ПВС, полученных в среде смеси ДМСО/ДМФА	110
3.4.3. Высвобождение натриевой соли ибупрофена из криогелей ПВС, полученных в смеси ДМСО/ДМФА	111

ЗАКЛЮЧЕНИЕ	113
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	117
ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	134

ВВЕДЕНИЕ

Разработка и исследование полимерных материалов медико-биологического назначения является востребованным междисциплинарным направлением, которое включает в себя различные области знаний: химию высокомолекулярных соединений, физическую химию, ряд биологических дисциплин, материаловедение и т.д. Данный класс материалов может быть использован для решения различных задач, как, например, создание имплантатов и протезов, систем адресной и контролируемой доставки лекарств, покрытий на раны и ожоги, материалов для тканевой и регенеративной медицины, подложек для культивирования клеток.

Перспективными материалами для применения в медико-биологических целях являются криогели поливинилового спирта (ПВС). Криогели ПВС, будучи биосовместимыми, нетоксичными и неканцерогенными, обладают рядом уникальных свойств, они активно изучаются и уже нашли свое применение в биомедицинских областях.

Актуальность темы. В настоящее время повышенный интерес представляют различные полимерные системы контролируемого высвобождения лекарственных веществ (ЛВ). В отличие от традиционных лекарственных форм системы контролируемого высвобождения обладают рядом преимуществ, такими как: возможность избежать колебаний концентрации действующего вещества в биологических жидкостях, что, в свою очередь, снижает риск возникновения передозировки или, напротив, отсутствия проявления терапевтического эффекта из-за недостаточного количества действующего вещества; снижает расходование лекарственного вещества, позволяет адресно доставлять лекарства к определенным тканям, а также добиваться пролонгированного действия лекарственных веществ.

Среди всего многообразия полимерных материалов, используемых в системах доставки лекарственных веществ, криогели поливинилового спирта (ПВС) занимают особую нишу, поскольку они обладают превосходными диффузионными и физико-механическими характеристиками, широкой возможностью регулировать эти свойства, в том числе путем создания композитных материалов на основе криогелей ПВС, а также многообразием

геометрических форм и размеров, что позволяет на основе криогелей ПВС изготавливать различные покрытия, биомиметические протезы, микросферы и т.д.

Степень разработанности темы исследования. За последние годы широко изучено влияние различных факторов, таких как характеристики самого ПВС, условия криогенной обработки растворов этого полимера, наличие в исходном растворе различных низкомолекулярных добавок на свойства получаемых криогелей. Наряду с ненаполненными криогелями ПВС интерес в качестве материалов биомедицинского назначения представляют и композитные криогели ПВС, в частности, как системы доставки лекарственных веществ. В настоящее время уже хорошо изучены криогели ПВС, формируемые из водных растворов полимера, и композитные криогели ПВС с дисперсными наполнителями, введенными в исходный раствор полимера. Известны, но недостаточно изучены, криогели ПВС, формируемые из ДМСО-растворов полимера, композитные криогели ПВС с *in situ* формируемыми дисперсными наполнителями. И практически не изучены композитные криогели ПВС, формируемые в органических средах. Данные материалы являются перспективными, поскольку ранее было показано, что гидратация ненаполненных криогелей ПВС позволяет значительно повысить модуль упругости соответствующих гелей.

В этой связи важной и актуальной задачей является разработка и изучение новых представителей криогелей поливинилового спирта, получаемых путем модификации состава исходного раствора этого полимера, и демонстрация возможности использования данных криогелей в качестве систем доставки лекарственных веществ.

Для применения в медико-биологических областях в криогелях ПВС, полученных в органических средах (первичные криогели), необходимо произвести замену органического растворителя на воду. Далее по тексту первичные криогели, подвергнутые процедуре смены растворителя, — это вторичные криогели.

Цель работы — исследование влияния типа и состава органических растворителей, дисперсных наполнителей на структуру и свойства первичных и

вторичных криогелей ПВС, а также определение возможности применения вторичных криогелей ПВС в качестве систем доставки лекарственных веществ.

В работе были использованы следующие органические растворители: диметилсульфоксид (ДМСО), раствор мочевины в ДМСО, смесь растворителей диметилсульфоксид/диметилформамид (ДМФА); дисперсными наполнителями служили частицы поли-3-оксималяной кислоты (ПОМК).

Задачи исследования: 1) получение криогелей ПВС в среде диметилсульфоксида, в том числе в присутствии низкомолекулярной добавки – мочевины, и в смеси растворителей диметилсульфоксид /диметилформамид, исследование особенностей изменения характеристик первоначально сформированных в ДМСО или в ДМСО/ДМФА криогелей ПВС в ходе замены в них органической жидкой среды на воду; 2) получение композитных криогелей ПВС, наполненных дисперсными частицами поли-3-оксималяной кислоты как путем введения макропористых и немакропористых микросфер ПОМК в исходный водный раствор ПВС, так и через формирование композитов из смесей ПВС и ПОМК в общем органическом растворителе; 3) изучение влияния дисперсного наполнителя на свойства полученных композитных криогелей ПВС. Также в задачи работы входило изучение динамики высвобождения лекарственных веществ, в частности натриевой соли ибупрофена (Na-ИБПФ) и симвастатина (СВН), из полученных образцов криогелей ПВС.

Научная новизна. Впервые обнаружено, что замена в криогелях ПВС, сформированных в среде ДМСО или смеси ДМСО/ДМФА, органического растворителя на воду приводит к уменьшению их объема и массы, а также к повышению модуля упругости (примерно в 8 раз), чего практически не удается достичь при получении криогелей замораживанием-оттаиванием водных растворов этого полимера.

Показано, что в среде органического растворителя (ДМСО) мочевина проявляет космотропные свойства и это приводит к возрастанию модуля упругости и температуры плавления образующихся криогелей. При концентрациях мочевины в исходном ДМСО-растворе полимера, близкой к пределу ее растворимости в

ДМСО, происходит формирование криогелей ПВС с крупнопористой морфологией.

Впервые получены композитные криогели на основе ПВС с добавками поли-3-оксималяной кислоты. Установлено, что с увеличением содержания частиц ПОМК в матрице криогеля ПВС повышается модуль упругости гелевого материала. Концентрация частиц ПОМК, их морфология являются средством регулирования времени высвобождения лекарственных веществ из композитных криогелей ПВС/ПОМК.

Теоретическая значимость работы заключается в выявлении корреляций в отношении влияния таких факторов, как состав растворителя, наличие в исходном растворе добавок мочевины, а также частиц ПОМК с различными характеристиками, на физико-механические, диффузионные свойства и структурные особенности ненаполненных и композитных криогелей ПВС.

Практическая значимость работы состоит в экспериментальном подтверждении *in vitro* возможности использования полученных в работе криогелей ПВС в качестве носителей как растворимых, так и малорастворимых в воде лекарственных веществ.

Методология и методы диссертационного исследования включали формирование различных типов криогелей ПВС методом криотропного гелеобразования. Микросферы ПОМК были получены методом эмульгирования. Изучение структуры полученных микросфер и криогелей ПВС проводилось с помощью оптической микроскопии частиц ПОМК и тонких срезов образцов криогелей ПВС, а также с помощью сканирующей электронной микроскопии либо самих микросфер, либо поверхности сколов ненаполненных и композитных криогелей ПВС. Модуль упругости образцов криогелей ПВС был определен с помощью динамометрического анализа при сжатии. Кинетика высвобождения лекарственных веществ из полученных образцов изучалась с помощью спектрофотометрии с последующим применением математической обработки полученных данных.

На защиту выносятся:

- Результаты изучения влияния условий получения и состава исходных растворов полимера на физико-механические и диффузионные свойства криогелей ПВС.

- Результаты исследования макропористой морфологии полученных криогелей ПВС.

- Экспериментальные данные о кинетике высвобождения лекарственных веществ из различных криогелей ПВС.

Достоверность результатов исследования определяется использованием современных физико-химических методов исследования, воспроизводимостью данных, полученных с помощью серии независимых экспериментов.

Личный вклад автора заключается в участии в постановке целей и задач исследования, планировании и проведении экспериментов по получению различных типов криогелей ПВС и микросфер ПОМК, изучении физико-механических характеристик и морфологии полученных образцов, изучении механизма и кинетики высвобождения лекарственных веществ из криогелей ПВС. Автором лично проведены обработка, систематизация результатов, написаны все разделы диссертационной работы. Совместно с научным руководителем проанализированы и обобщены результаты, сформулированы выводы и подготовлены публикации.

Публикации. Основные результаты диссертации изложены в 7 статьях в научных журналах, включенных в перечень ВАК, 1 статьи в сборнике материалов, 1 патенте и 10 тезисах докладов.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на следующих конференциях: XXXII Международной конференции молодых ученых по химии и химической технологии «МКХТ-2018» (2018), Шестом междисциплинарном научном форуме с международным участием «Новые материалы и перспективные технологии» (2020), XVI Международном конгрессе по химии и химической технологии (МКХТ-2020) (2020), Самоорганизация в «мягких» средах: достижения

и современное состояние (2022), Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы науки о полимерах» (2023).

Объём и структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов и изложена на 136 страницах машинописного текста. Работа включает 58 рисунков, 11 таблиц. Список литературы содержит 154 наименования.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. КРИОГЕЛИ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА И КОМПОЗИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ИХ ОСНОВЕ: ПОЛУЧЕНИЕ, СВОЙСТВА

1.1. Основные понятия о физически-сшитых криогелях поливинилового спирта

Макропористые физические (нековалентные) криогели на основе поливинилового спирта представляют собой гелевые материалы, получаемые путем криотропного гелеобразования в результате замораживания, выдерживания в замороженном состоянии и последующего оттаивания растворов данного полимера [1-7]. В полученных таким способом криогелях ПВС присутствуют зоны микрокристалличности, которые выполняют роль узлов надмолекулярной сетки, стабилизированных множественными водородными связями между ОН-группами полимера [8,9,10]. Криогели ПВС являются термообратимыми гелями, при нагревании они плавятся, превращаясь в раствор ПВС, а его повторное замораживание-оттаивание снова приводит к образованию криогелей.

Свойства криогелей ПВС (макро- и микроморфология, физико-механические и теплофизические свойства) сильно зависят от характеристик полимера, а в отличие от криогелей ПВС, сформированных путем химической сшивки, нековалентные криогели не содержат фрагментов сшивающего агента [11, 12-14].

Благодаря превосходным механическим, диффузионным и теплофизическим свойствам криогелей ПВС, отсутствию нежелательных примесей, доступностью самого полимера, его нетоксичности и биосовместимости, а также обширным возможностям варьировать характеристики криогелей ПВС, они нашли широкое применение в различных прикладных областях, в частности в качестве материалов биомедицинского назначения [15-28].

Так, физически-сшитые криогели ПВС были использованы как носители лекарственных веществ [15, 16, 17], систем контролируемой доставки лекарств [18, 19], протезов хрящевой ткани [20, 21, 22], протезов клапанов сердца [23, 24],

протезов межпозвоночных дисков [25, 26], применялись для иммобилизации клеток и ферментов [27, 28].

В данном литературном обзоре будут рассмотрены: методы получения физически-сшитых криогелей ПВС, их структура, диффузионные и механические характеристики, зависимость свойств криогелей ПВС от различных факторов, а также отдельно рассматриваются композитные криогели ПВС, содержащие дисперсные наполнители.

1.2. Криотропное гелеобразование растворов поливинилового спирта

Криотропное гелеобразование – это процесс образования геля в результате замораживания, выдерживания в замороженном состоянии и оттаивания способных к гелеобразованию систем при температурах ниже точки кристаллизации чистого растворителя [3, 29, 30]. Обязательным условием данного процесса является кристаллизация основной массы растворителя в следствии чего система разделяется на две фазы – кристаллы замерзшего растворителя и незамерзшая жидкая микрофаза (**НЖМФ**) с повышенной концентрацией компонентов исходной системы. Если используемый полимер является гелеобразователем, то полимерный каркас соответствующего криогеля формируется как раз в таких незамерзших микрообластях замороженного образца [29].



Рисунок 1. Принципиальная схема криотропного гелеобразования [30].

Процесс криотропного гелеобразования растворов ПВС протекает согласно принципиальной схеме (рис 1.) [3, 30]. Исходная система состоит из ПВС (1), растворителя (2), а также возможно присутствие низкомолекулярных добавок (3). После получения раствора ПВС его необходимо как можно быстрее подвергнуть замораживанию, чтобы избежать преждевременного гелеобразования системы. В противном случае, если точка гелеобразования будет достигнута до начала кристаллизации растворителя, произойдет образование первичной трехмерной сетки гидрогеля ПВС, которая при кристаллизации растворителя может быть разрушена за формирования создания поликристаллической фазы, в результате чего жесткость и температура плавления образующихся в дальнейшем криогелей будет снижена [122].

При неглубоком замораживании исходного раствора сначала кристаллизуется чистый растворитель, а растворенное вещество концентрируется в еще жидкой части образца, в результате чего система разделяется на две фазы, образуя поликристаллы замерзшего растворителя (4) и НЖМФ (5). Подобное криоконцентрирование существенно усиливает взаимодействия полимер–полимер, что в конце концов приводит к образованию устойчивых узлов пространственной сетки криогеля. Объем незамерзшей жидкой микрофазы зависит от различных факторов, в частности, от природы растворителя, исходных концентраций и молекулярной массы веществ в системе, ее температуры, режима криогенной обработки, наличия в системе добавок иных веществ и др [3].

При последующем оттаивании замороженного образца получается макропористый криогель, который состоит из полимерной сетки гелевой фазы гетерофазного криогеля (6), макропор (7) и растворителя (8). Поликристаллы замерзшего растворителя в процессе плавления оставляют полости, которые заполняются растворителем, а макропоры принимают округлую форму под действием сил поверхностного натяжения гелевой фазы. Поскольку формирование такого геля протекает при высоких концентрациях предшественников, образующаяся полимерная фаза представляет собой частую сетку микропористой структуры. В получающемся криогеле макропоры обычно сообщающиеся,

поскольку при замерзании каждый кристалл растворителя растет, как правило до соприкосновения с гранью другого кристалла.

На рисунке 2 показана обобщенная картина изменения температуры системы на всех стадиях криотропного гелеобразования, т. е. при замораживании, выдерживании в замороженном состоянии и оттаивании. Участок А–В соответствует охлаждению образца от исходной температуры до температуры начала кристаллизации растворителя (для растворов ПВС часто наблюдается переохлаждение до T_u). На участке С–D за счет выделения скрытой теплоты кристаллизации льда обычно регистрируется «плато кристаллизации», однако при высоких скоростях охлаждения ($v_c > 40$ °С/мин) это плато в реальном масштабе времени может и не наблюдаться [31]. Между точками D и E происходит дальнейшее понижение температуры вплоть до заданного экспериментатором значения (T_s).

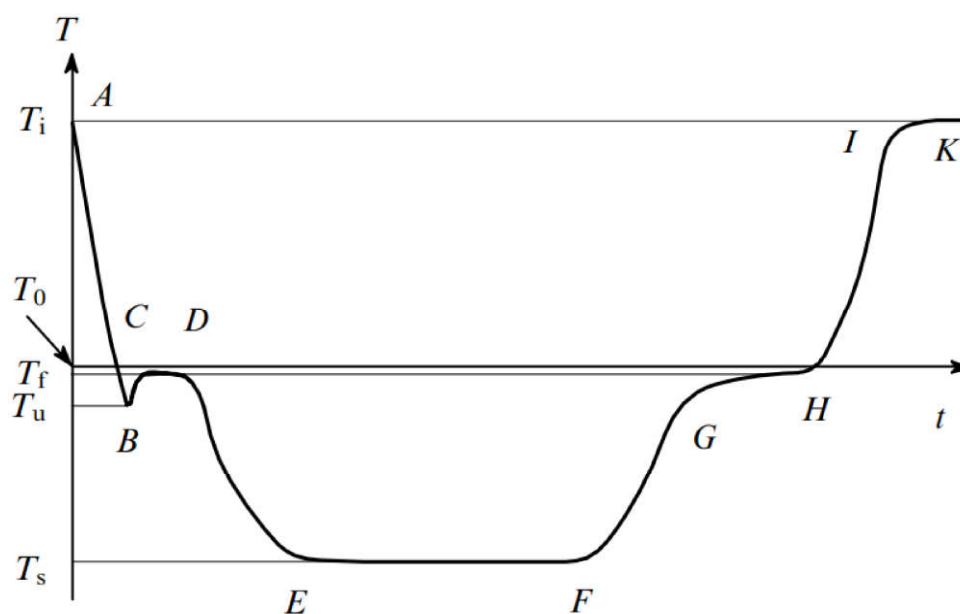


Рисунок 2. Обобщенная термограмма процесса криотропного гелеобразования. T_i — начальная температура системы, T_0 — температура замораживания чистого растворителя, T_f — температура замораживания системы, T_u — низшая температура переохлаждения, T_s — температура выдерживания образца в замороженном состоянии [3].

Участок E–F соответствует выдерживанию системы в замороженном состоянии. После точки F начинается процесс оттаивания образцов. Между точками G и H происходит фазовый переход, плавление кристаллов замерзшего растворителя, после точки H процесс оттаивания продолжается до достижения заданной положительной температуры системы.

Установлено, что для 5-10%-ных водных растворов ПВС депрессия температуры кристаллизации системы ($T_0 - T_f$) не превышает 0.3-0.8°C [32, 33]. С повышением концентрации ПВС в исходном растворе значение температуры переохлаждения (T_u) понижается, при этом с большей скоростью протекает процесс кристаллизации растворителя. Чем выше скорость кристаллизации, тем обычно мельче формирующиеся поликристаллы замерзающей низкомолекулярной жидкости [34, 35].

Таким образом, криотропное гелеобразование растворов ПВС является хорошо изученным процессом, который, как можно предположить, в многом определяют макропористую структуру получаемых криогелей ПВС.

1.3. Структура и диффузионные характеристики криогелей поливинилового спирта

Уиллкоксом и др. была предложена [36] следующую модель структуры криогелей ПВС: когда раствор ПВС отверждается во время замораживания образца, кристаллизация растворителя вызывает концентрирование полимера в НЖМФ, тем самым сближая молекулярные цепи. Это способствует образованию меж- и внутримолекулярных водородных связей между ОН-группами цепей полимера, что приводит к частичной кристаллизации ПВС в НЖМФ. Зоны микрокристалличности выполняют функцию узлов надмолекулярной сетки, в то время как соединяющие их проходные цепи ПВС образуют аморфную полимерную сетку. Оттаивание растворителя оставляет области с низкой концентрацией полимера. В конце процесса при окончательном оттаивании растворителя в образце криогеля остаются макропоры, заполненные растворителем [36].

Структура криогелей ПВС изучалась несколькими группами исследователей [37, 38, 40-42], и все согласны с тем, что криогели ПВС состоят из областей с высоким содержанием полимера и областей с низким содержанием полимера, что согласуется с моделью, предложенной Уиллкоксом и др.

Исследование структуры криогелей ПВС проводилось с использованием различных аналитических методов. Дифференциальную сканирующую калориметрию использовали для определения степени кристалличности ПВС. Хассан и Пеппас показали, что кристалличность криогелей ПВС составляет примерно от 30 до 60% [9]. Степень кристалличности повышается с увеличением количества циклов замораживание-оттаивание (ЦЗО) в результате образования вторичных кристаллических доменов, а также роста первичных кристаллитов до 50% [36].

С помощью малоуглового рассеяния нейтронов установлено, что структура криогелей ПВС включает кристаллиты размером ~ 3 нм, распределенные в областях с высоким содержанием полимера, с расстоянием между данными кристаллитами равному $\sim 19-25$ нм [38]. Во время плавления тающие кристаллы льда создают макропоры микрометрового размера, заполненные водой, которые составляют области с низким содержанием полимера (рис. 3).

Наиболее важная кристаллическая фракция ПВС образуется в первом цикле замораживания, а последующие циклы замораживания-оттаивания приводят лишь к небольшому увеличению первоначального размера кристаллитов ПВС, а также вызывают образование менее совершенных вторичных кристаллитов [43].

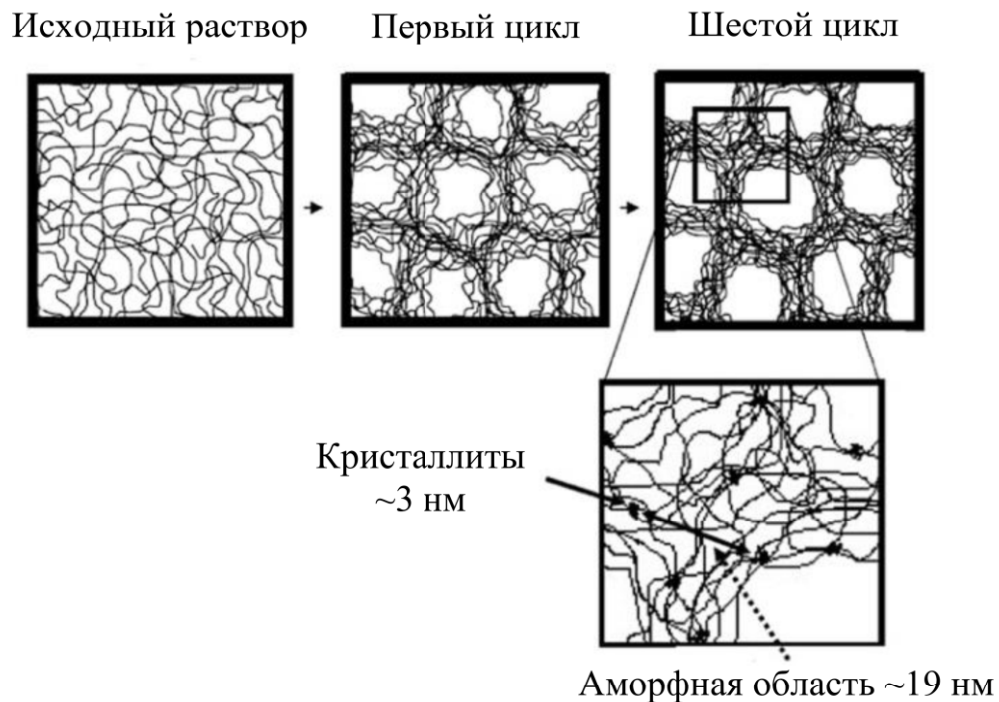


Рисунок 3. Схема, иллюстрирующая влияние количества циклов замораживания-оттаивания на микроструктуру криогелей ПВС [38].

Для создания анизотропных криогелей ПВС процесс криотропного гелеобразования можно изменить, добавив один дополнительный этап к обычной процедуре [38, 121]. Структурная анизотропия создается путем приложения к образцу криогеля ПВС ориентационно-специфической деформации после первого цикла замораживания-оттаивания и проведения на полученном образце последующей криогенной обработки. Было высказано предположение [38], что приложенная деформация вынуждает полимерную сетку и фазу с низким содержанием полимера удлиняться в направлении деформации. При последующих циклах замораживания-оттаивания растворитель замерзает в уже существующих напряженных порах, способствуя стабилизации структуры в направлении приложения деформации. В другой работе [121] было установлено, что у подвергнутых вторичному формованию криогелей ПВС, находящихся в принудительно деформированном состоянии, повышается упорядоченность структуры микрокристаллитов ПВС, уже присутствовавших в узлах физической надмолекулярной сетки первичных криогелей, а также появляются

дополнительные зоны микрокристалличности. При этом жесткость и теплостойкость криогелей ПВС, подвергнутых вторичному формованию, тем больше, чем значительно было приложенное деформирующее усилие к первичным криогелям ПВС [121].

На изображениях, полученных с помощью сканирующей электронной микроскопии образцов криогелей ПВС (рис. 4), отчетливо видна пористая структура данных материалов. Повышение концентрации ПВС в исходных растворах приводило к уменьшению размера пор в образцах криогелей и увеличению количества областей богатых полимером, как показано на рисунке 4 [44].

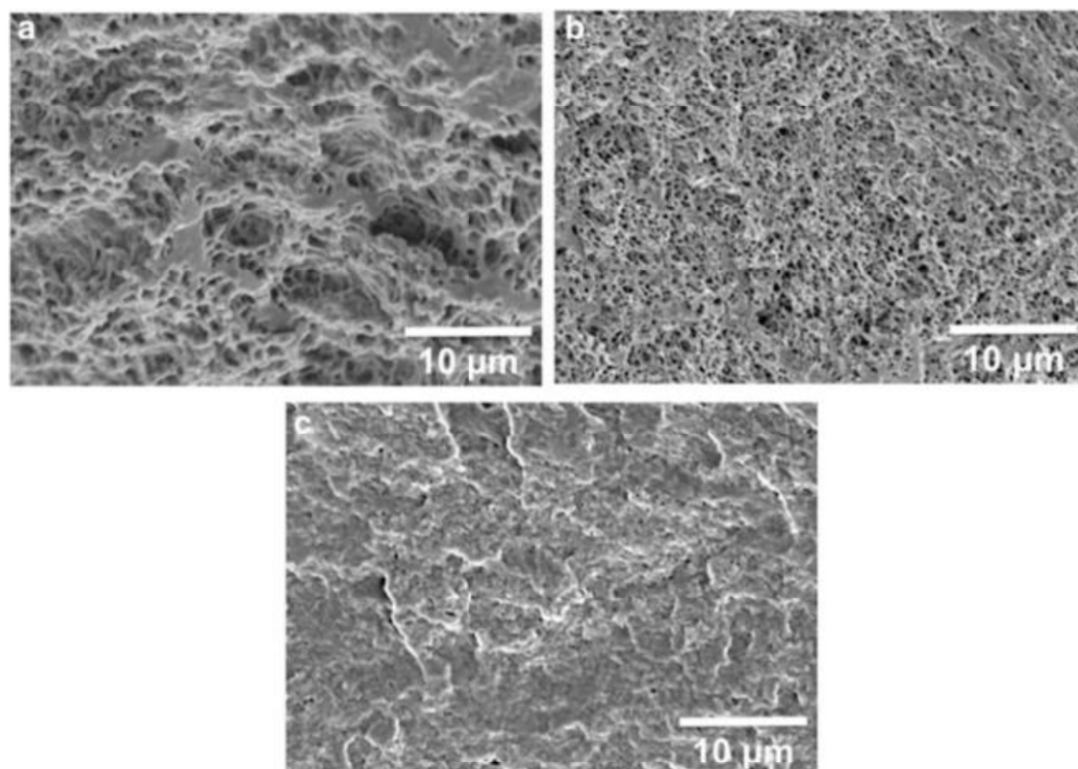


Рисунок 4. Микрофотографии сканирующей электронной микроскопии образцов криогелей ПВС при различных исходных концентрациях полимера: (а) 10 %, (б) 15 % и (в) 20 % [44].

Диффузионные свойства криогелей ПВС в большей степени зависят от свойств аморфной зоны областей, богатых полимером, на которые в значительной

степени влияет концентрация ПВС. Косвенно кристаллические области влияют на аморфную зону, определяя, насколько плотно упакованы полимерные цепи, таким образом делая и количество циклов замораживание-оттаивание, и скорость замерзания, и скорость оттаивания, факторами, влияющими на диффузионные свойства [45].

Увеличение числа циклов замораживания-оттаивания снижает скорость высвобождения веществ из образцов криогелей ПВС. Каждый цикл после первого, одновременно с возрастанием объемной доли кристаллических областей, приводит к повышению локальной концентрации ПВС в областях богатых полимером. Это приводит к увеличению времени, необходимого для движения молекул через аморфные зоны областей, богатых полимером, что приводит к снижению скорости высвобождения веществ из матрицы криогеля [46].

Снижение скорости замораживания или оттаивания дает больше времени для реорганизации полимерных цепей в упорядоченные домены, что приводит к росту объемной доли кристаллического ПВС и/или увеличению размера кристаллических доменов. Это приводит к снижению подвижности молекул высвобождаемых веществ в матрице ПВС и, как следствие, к уменьшению скорости их высвобождения [46].

Структура криогелей ПВС, состоящая из кристаллических и аморфных областей [38] с системой сообщающихся пор, обеспечивает диффузию молекул из матрицы криогеля, благодаря чему криогели ПВС нашли применение в качестве систем доставки лекарств [15-19].

1.4. Физико-механические характеристики криогелей поливинилового спирта

Физико-механические свойства криогелей ПВС могут быть адаптированы для имитации широкого спектра биологических мягких тканей [47, 48]. Это является основной причиной того, почему данные материалы являются привлекательными кандидатами для использования в качестве протезов суставных хрящей, кровеносных сосудов и сердечных клапанов.

Криогели ПВС относятся к классу вязкоупругих тел, это проявляется как сочетание двух базовых механизмов деформации – упругости и вязкого течения. Как и в других гелевых системах, макроскопическая деформация криогелей ПВС обусловлена взаимным перемещением кинетических единиц. Согласно современным представлениям [49], если сумма приложенной термической и механической энергии меньше активационного барьера, то происходит упругая деформация, при которой наблюдается лишь смещение кинетических единиц относительно положения равновесия. При разгрузке кинетические единицы возвращаются в исходное положение, обуславливая обратимый характер деформации. Подобное деформирование имеет энергетическую природу и подчиняется закону Гука. В случае, если сумма приложенной термической и механической энергии больше активационного барьера, то развивается пластическая деформация, происходящая за счет переходов кинетических единиц в соседние потенциальные ямы. Данный механизм деформации является необратимым и описывается уравнением Ньютона.

При исследовании механического поведения криогелей ПВС с помощью метода циклического деформирования получают диаграммы «растяжение-сокращение» (пример подобных диаграмм криогелей ПВС приведен на рисунке 5), на которых присутствует петля гистерезиса. Площадь под кривой сокращения соответствует упругой составляющей деформации $A_{упр}$, а площадь петли гистерезиса – составляющей, связанной с вязкой компонентой деформации $A_{п}$. Затраченную на деформацию работу представляют как сумму этих двух составляющих: $A_{д} = A_{упр} + A_{п}$. Существование этих компонентов является отличительной чертой вязкоупругого тела [49].

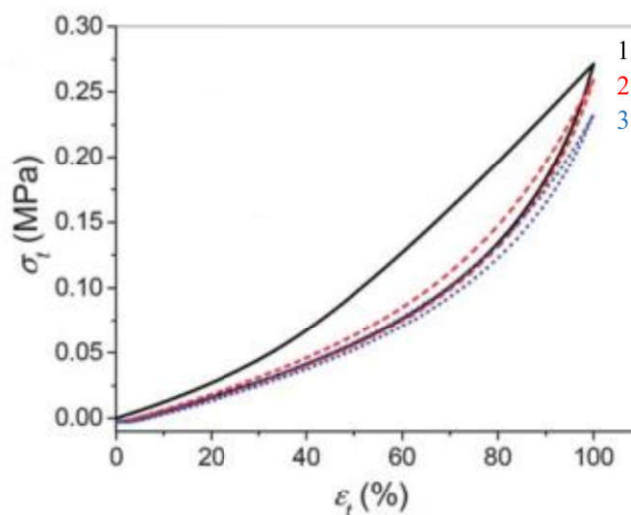


Рисунок 5. Диаграмма «растяжение-сокращение» криогелей ПВС в течении 10 циклов. 1 – один цикл, 2 – два цикла, 3 – десять циклов [50].

По механическим показателям (на сжатие или на растяжение) криогели ПВС могут быть изотропным или анизотропным [38]. Физико-механические свойства криогелей ПВС сильно зависят от их структуры. Например, криогели, обладающие более плотной полимерной сеткой и, соответственно, меньшим размером пор, обладают большей упругостью [44].

Модуль Юнга при сильном сжатии (образец сжимается с помощью непористых пластин и может расширяться по окружности без ограничений) криогелей ПВС зависит от деформации, скорости деформации, степени полимеризации ПВС, концентрации исходного раствора ПВС и количества циклов замораживание-оттаивание [25, 48, 51-54]. Сообщаемый разными группами исследователей модуль Юнга находится в диапазоне 0,005–20 МПа в зависимости от состава исходного раствора ПВС, параметров криотропного гелеобразования и используемых условий проведения измерений [25, 48, 51-54].

Релаксация напряжения характеризует то, как вязкоупругие материалы понижают напряжения с течением времени при постоянной нагрузке. Ползучесть характеризует медленную деформацию вязкоупругих материалов с течением времени под постоянной нагрузкой. С повышением концентрации ПВС снижается содержание доступной воды в образце и уменьшаются эффекты релаксации

напряжений и ползучести [44, 52, 55]. Что касается скорости релаксации напряжения, Миллон [48] и Вонг [44] обнаружили, что через 1 ч образец криогеля ПВС релаксировал до 45 % от исходного значения, но релаксация все еще продолжалась. Стаммен и соавторы. обнаружили, что релаксация достигла равновесия через 24 часа [52].

Таким образом, криогели ПВС, относящиеся к классу вязкоупругих тел, по своим физико-механическим характеристикам могут быть как очень жесткими и упругими, так и весьма податливыми, что позволяет создавать большое количество материалов различного назначения на их основе.

1.5. Зависимость структуры и свойств криогелей ПВС от различных факторов

Физико-химические свойства и пористая структура криогелей ПВС зависят от многих факторов, таких как характеристики самого поливинилового спирта (молекулярная масса полимера, тактичность цепей, количество неомыленных О-ацильных групп), концентрация полимера, тип используемого растворителя, режимы замораживания системы, ее выдерживании в замороженном состоянии и скорость нагревания при оттаивании, количество циклов «замораживания оттаивания», а также наличия в исходном растворе низкомолекулярных и высокомолекулярных добавок [3,9,15,33,45,57,60,68,77,85].

1.5.1. Зависимость свойств криогелей ПВС от характеристик полимера

Сначала рассмотрим, как влияют характеристики поливинилового спирта на свойства получаемых криогелей. Для криогелей ПВС одной из важнейших характеристик является степень дезацетилирования (СД) гелеобразующего полимера, т.е. количество остаточных О-ацильных групп в ПВС [11,12,14,56]. Важной она является по той причине, что в большинстве случаев ПВС получают гидролизом поливинилацетата, а значит в результате данной процедуры в полимере может оставаться некоторое количество неомыленных О-ацильных групп. Было обнаружено [3], что при СД <90 %, криогели не образуются даже при самых

благоприятных условиях. При СД ~ 95 % получается слабые криогели, реологические свойства которых даже трудно измерить. При содержании О-ацильных-остатков в количестве, меньшем 3 %, и при использовании концентрированных растворов ПВС образуются прочные, упругие криогели. К очевидным причинам «плохого» гелеобразования ПВС с низким значением СД можно отнести стерические препятствия, которые создаются объемными О-ацетильными-группами.

Исследование влияния СД поливинилового спирта (97,5% и 99,9%) на структуру и свойства получаемых криогелей показало, что в криогелях на основе ПВС с высокой СД полимера кристаллиты получаются более стабильными за счет более компактной упаковки макромолекул, в то время как криогели на основе ПВС с более низкой СД содержат много макромолекулярных цепей, содержащих объемные О-ацильных групп, которые препятствуют компактной агрегации макромолекул [57]. В результате чего криогели ПВС на основе полимера с более высокой СД обладают более высокой температурой плавления, поскольку количество водородных связей, стабилизирующих структуру криогелей ПВС, будет расти при увеличении степени дезацетилирования, при этом размер пор будет уменьшаться и криогели ПВС станут более упругими (рис. 6).

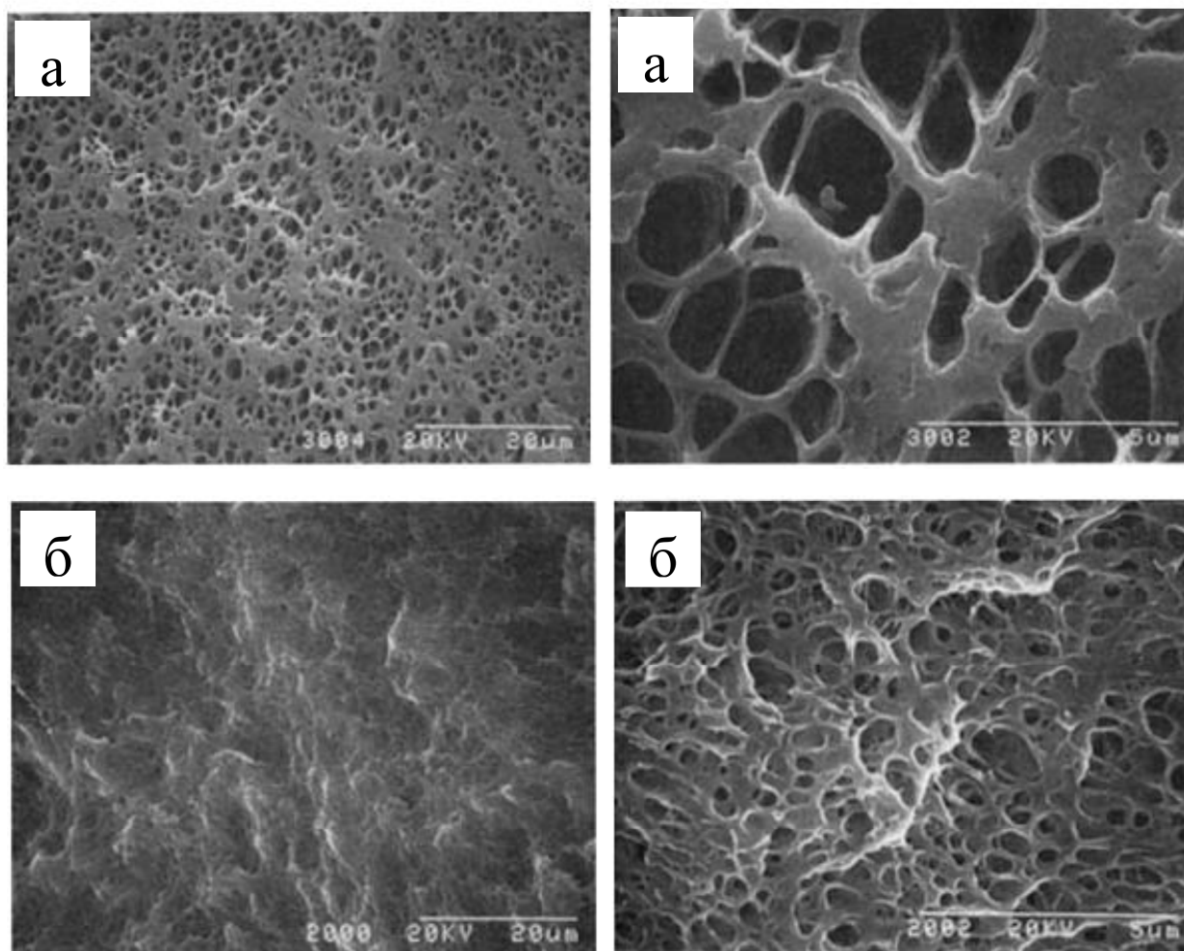


Рисунок 6. СЭМ-изображения поверхности сколов криогелей поливинилового спирта со степенью дезацетилирования 97,5% (а) и 99,9 % (б); масштабная линейка слева: 20 мкм, справа: 5 мкм [57].

Значительное влияние на свойства образующихся криогелей оказывает молекулярная масса поливинилового спирта [9,45]. Так, из высококонцентрированных ($C_{p-p}=20-40\%$) растворов ПВС низкой молекулярной массы ($M < 30000-40000$ Да) получаются довольно «слабые» криогели ПВС [1, 12,32,58,59]. Однако, с увеличением длины цепи возрастают гидродинамические размеры макромолекул, в растворе повышается степень перекрытия клубков, т.е. увеличивается количество межмолекулярных контактов, вследствие чего у формирующегося геля образуется более частая физическая сетка. Такие гели обладают более высокими температурой плавления и жесткостью (рис. 7). Но

данный эффект ограничивается повышением вязкости НЖМФ, уменьшением свободного объема и, следовательно, подвижности молекул ПВС [60].

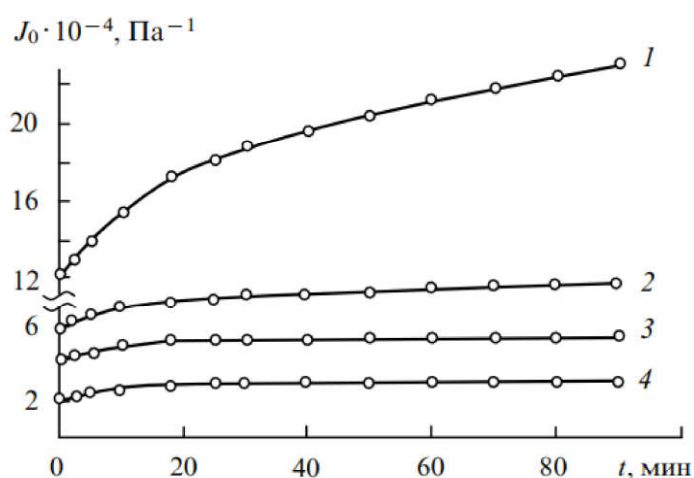


Рисунок 7. Кривые ползучести криогелей, сформированных из 10%-ных водных растворов ПВС разной молекулярной массы и СД. 1 – М=69 000 Да, СД=98%, 2 – М=90 000 Да, СД=98%, 3 – М=110 000 Да, СД=98%, 4 – М=95 000 Да, СД=99,3% [32].

При близких значениях молекулярных масс (кривые 2 и 4 на рис. 7) дополнительное присутствие в полимере даже небольших количеств (1,3%) неомыленных боковых групп делает криогель ПВС значительно более податливым (менее упругими), а в образцах с одинаковой СД поливинилового спирта (кривые 1, 2 и 3) получаются тем менее податливые криогели, чем выше молекулярная масса ПВС.

Другим фактором, влияющим на свойства получаемых гелей, является концентрация ПВС в исходном растворе. Чем выше исходная концентрация ПВС, тем меньше пористость получаемого геля [61]. Было установлено, что из растворов с высокой концентрацией ПВС образовывались более упругие гели [1, 2, 8, 11, 12, 14, 32, 33, 35, 51, 56, 58, 60, 62-70, 76]. Это связано с повышенной концентрацией присутствующих гидроксильных групп, что приводит к росту количества

межмолекулярных водородных связей и образованию большего числа кристаллических структур с большей стабильностью.

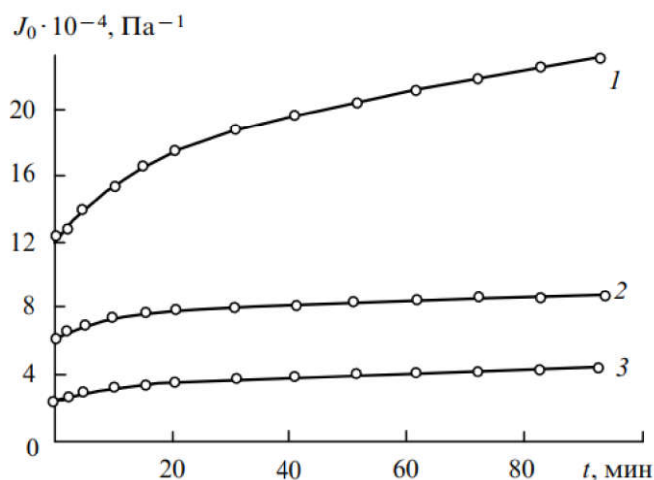


Рисунок 8. Кривые ползучести криогелей, сформированных из водных растворов ПВС ($M=69\ 000$ Да, СД=98%) с различным содержанием полимера: 1 – 10%, 2 – 14%, 3 – 16% [32].

На рисунке 8 показано, что криогель, сформированный из 10%-ного раствора ПВС, довольно податлив и заметно деформируется за время действия приложенной сдвиговой нагрузки, тогда как криогели, полученные из 14%-ного и 16%-ного растворов ПВС, при тех же напряжениях сдвига проявляют лишь незначительную ползучесть.

1.5.2. Влияние условий криогенной обработки на свойства криогелей ПВС

Практически все параметры криогенной обработки, хотя и не в одинаковой степени, оказывают влияние на характеристики криогелей ПВС и динамику их образования.

Число ЦЗО является параметром, значительно влияющим как на физические свойства [8,63,77,78] криогелей, так и на их макропористую морфологию [3,68]. Начиная со второго цикла, замораживается сам криогель, а не раствор. В течении

первого цикла замораживания кристаллизация воды и образования льда происходит в концентрированном растворе ПВС, в то время как в последующих циклах криогенной обработки кристаллизация низкомолекулярного растворителя протекает уже в массе геля.

Таблица 1. Значения условно-мгновенного модуля упругости криогелей ПВС ($M_{ПВС}=69000$ Да, $СД_{ПВС}=99\%$), сформированных многократным замораживанием-оттаиванием [77].

Концентрация ПВС в исходном растворе, г/л	Количество циклов замораживания – оттаивания	G_0 , кПа
80	1	2.56 ± 0.20
	2	11.1 ± 2.9
	3	21.5 ± 4.2
	4	31.3 ± 5.6
	5	39.4 ± 8.4
100	1	4.38 ± 0.45
	2	15.9 ± 3.5
	3	25.7 ± 5.6
	4	39.9 ± 9.1
	5	52.0 ± 10.8
120	1	7.02 ± 0.98
	2	25.7 ± 5.6
	3	39.6 ± 8.3
	4	50.2 ± 9.6
	5	72.7 ± 12.7

Увеличение числа ЦЗО способствует повышению жесткости получаемых образцов криогелей ПВС (при прочих равных условиях), что следует из данных

таблицы 1 [77]. В ряде исследований установлено, что максимальное число ЦЗО, после которого структура и свойства криогеля уже почти не изменяются, равно шести [79, 80]. Повышение жесткости криогелей ПВС с увеличением числа ЦЗО связывают с механизмом образования кристаллитов и фазовым разделением жидкость-жидкость [23]. Альтернативным объяснением является дополнительное увеличение размеров уже существующих кристаллитов в структуре криогеля с каждым дополнительным ЦЗО вплоть до максимально возможного уровня [9, 27].

Также физические характеристики и морфология криогелей ПВС зависят от температуры и длительности криогенной обработки [3,12,33,35,68,81]. Установлено, что чем продолжительнее период выдерживания образцов ниже температуры заморозки системы, тем более упругие криогели образуются. Причем, после определенного времени выдерживания образцов (>1 сут.) скорость изменения реологических характеристик, образующихся криогелей резко снижается (рис. 9) [68].

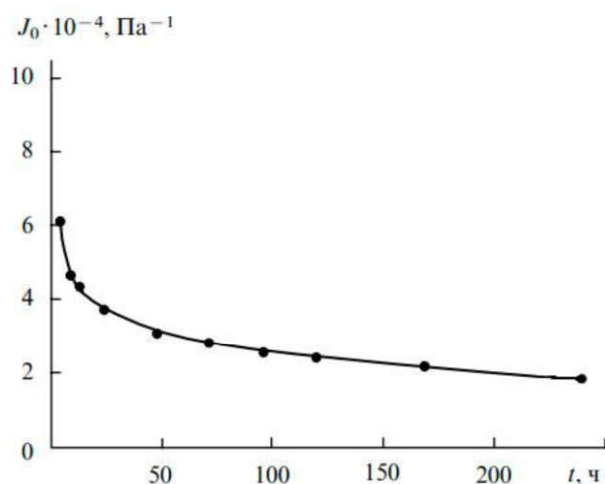


Рисунок 9. Влияние продолжительности замораживания 14%-ных водных растворов ПВС ($M=69\ 000$ Да, $СД=98\%$) на податливость образующихся криогелей [68].

Режим размораживания образцов является фактором, кардинально влияющим на свойства криогелей ПВС [33,70,74,82,83]. Чем медленнее

нагревается образец при оттаивании, тем более прочным формируется криогель ПВС при прочих одинаковых параметрах процесса (рис. 10), поскольку значительная вязкость НЖМФ требует достаточно продолжительного времени для гелеобразования.

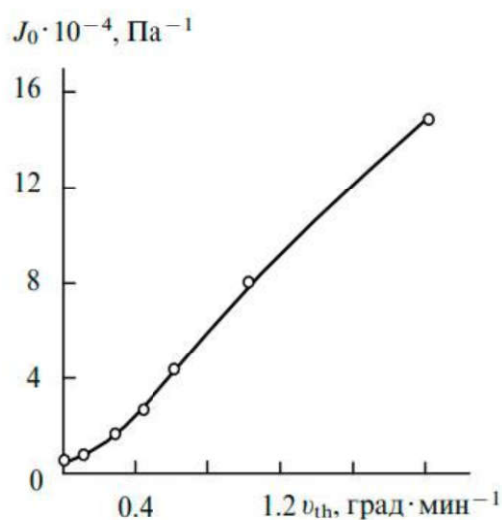


Рисунок 10. Влияние скорости нагревания образцов при их оттаивании на реологические свойства криогелей, сформированных из водных растворов ПВС ($M=69\ 000$ Да, СД=98%) [33].

Установлено [32,33,58], что при нагревании замороженных образцов со скоростью $10^\circ\text{C}/\text{мин}$, независимо от условий замораживания исходного раствора и времени выдерживания при отрицательных температурах, будет получаться мутный и вязкий коллоидный раствор. И наоборот, при медленном оттаивании ($v_{th} \leq 0.05-0.01$ $^\circ\text{C}/\text{мин}$) формируются очень упругие криогели, что продемонстрировано на рис. 10 и отражено в таблице 2 [33, 122]. Это происходит из-за того, что система дольше находится в зоне эффективного гелеобразования при оптимальной температуре, при которой вязкость раствора снижается, а подвижность сегментов макромолекул повышается [130].

Скорость охлаждения растворов ПВС при их замораживании также влияет на характеристики получаемых криогелей [122]. В таблице 2 показано влияние

скорости охлаждения водных растворов ПВС при их замораживании на модуль упругости криогелей, получаемых после оттаивания замороженных препаратов.

Таблица 2. Физико-механические свойства образцов криогелей ПВС ($M_{ПВС}=86000$ Да, $СД_{ПВС}=100\%$, $С_{ПВС}=100$ г/л), сформированных с использованием разных скоростей охлаждения исходного раствора полимера при его замораживании и последующего нагревания замороженных препаратов при их оттаивании [122].

Скорость охлаждения (v_c) раствора ПВС при его замораживании, °С/мин	Значения модуля Е (кПа) для криогелей ПВС, сформированных при нагревании замороженных образцов с разной скоростью (v_h), °С/мин		
	$v_h=0,3$	$v_h=0,03$	$v_h=0,003$
1,85	4.90 ± 0.63	10.78 ± 1.27	28.27 ± 5.96
0,3	6.66 ± 0.79	13.69 ± 1.23	37.06 ± 5.14
0,03	6.82 ± 0.59	13.64 ± 0.52	38.76 ± 3.36
0,003	7.14 ± 0.81	14.19 ± 1.86	23.84 ± 3.66

Так, оказалось, что снижение скорости охлаждения раствора ПВС с 1.85 до 0.3°С/мин, т.е. в 6.2 раза, при всех использованных затем режимах оттаивания приводило к возрастанию жесткости получающихся криогелей на 26–36%, уменьшение значения v_c в 62 раза (с 1.85 до 0.03°С/мин) при тех же условиях размораживания образцов лишь ненамного (на 27–39%) дополнительно повышало модуль упругости соответствующих криогелей ПВС, а 620-кратное замедление (с 1.85 до 0.003°С/мин) при $v_h = 0.3$ и 0.03 °С/мин приводило к еще некоторому росту значений Е (на 31.6 и 45.7%), тогда как в случае самого медленного режима нагревания замороженной системы жесткость образовавшихся криогелей, напротив, оказывалась на 15.7% ниже, чем у образцов, сформированных при $v_c = 1,85$ °С/мин [122]. Таким образом, эти данные показывают, что выбором соответствующих режимов скоростей и охлаждения, и нагревания можно в широких пределах регулировать свойства получаемых криогелей.

1.5.3. Зависимость свойств криогелей ПВС от природы и состава исходного растворителя

Использование различных растворителей для формирования криогелей ПВС на основе полимера с высокой степенью дезацетилирования может заметно влиять на свойства получаемых криогелей. Возможно использование как неорганических (например, вода), так и органических растворителей (например, диметилсульфоксид). Очевидно, что природа растворителя должна оказывать влияние как на процессы замерзания исходных растворов ПВС, так и на свойства образующихся гелевых материалов.

Закономерности криотропного гелеобразования растворов ПВС в ДМСО практически те же, что и в системе ПВС-вода, однако макропористая морфология и физико-химические свойства криогелей, полученных из водных растворов и растворов в ДМСО, сильно различаются [72, 84]. Например, слой водного криогеля ПВС толщиной 0,6мм ($M=74\ 800$ Да, $СД=99,5\%$) пропускает около 40% света с длиной волны 570нм, а такой же слой криогеля ПВС, сформированного из раствора полимера в ДМСО, в котором органический растворитель затем замещен на воду, пропускает 76% света [84]. Также криогели, полученные из растворов ПВС в ДМСО, всегда менее упругие и имеют меньшую температуру плавления, чем криогели, сформированные из водных растворов полимера при одинаковых концентрациях ПВС [74,61]. Указанные различия обусловлены тем, что ДМСО является более термодинамически выгодным растворителем для ПВС, чем вода, т. е. сродство ДМСО к данному полимеру выше по сравнению со сродством воды к ПВС [133], а это снижает эффективность гелеобразования полимера в среде ДМСО из-за конкуренции взаимодействий полимер–растворитель и полимер–полимер. Взаимодействия последнего типа при криотропном гелеобразовании ПВС за счет водородного связывания гидроксильных группировок соседних цепей индуцируют формирование зон микрокристалличности, выполняющих функцию физических узлов надмолекулярной сетки в криогелях ПВС [42,134,135].

1.5.4. Влияние низкомолекулярных добавок на свойства криогелей ПВС

Исходная система ПВС-растворитель также может содержать различные растворимые низкомолекулярные добавки, которые будут оказывать влияние на свойства и микроструктуру образующихся криогелей поливинилового спирта. В зависимости от химической природы и концентрации разные добавки могут как промотировать гелеобразование (например, усиливать водородное связывание между ОН группами), так и ингибировать его.

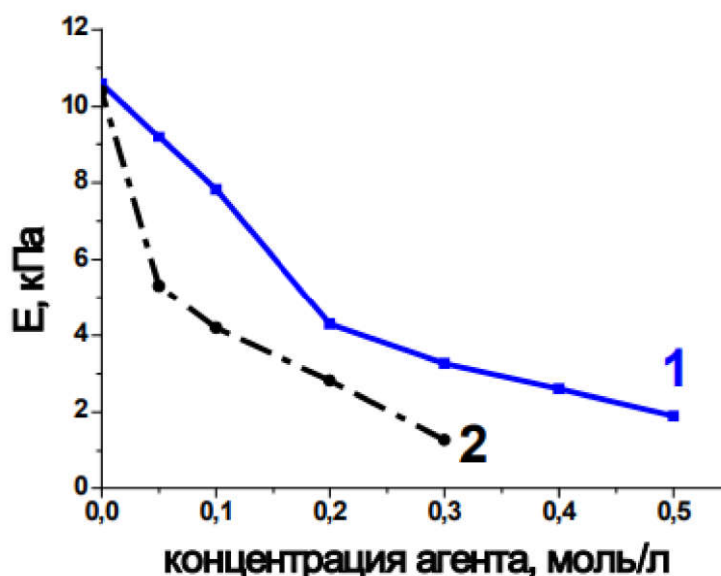


Рисунок 11. Зависимость модуля упругости криогелей от концентрации хаотропного агента. Кривая 1 – мочевина, кривая 2 – гуанидина гидрохлорид (условия формирования криогелей: концентрация ПВС 10 г/дл, температура замораживания -20°C , время замораживания 12 ч, скорость нагревания при оттаивании $0.03^{\circ}\text{C}/\text{мин}$) [85].

В частности, такие хаотропные агенты, как мочевина и гуанидин гидрохлорид, подавляют водородное связывание, что влечет за собой понижение модуля упругости криогелей ПВС, сформированных в присутствии этих веществ (рис. 11) [85].

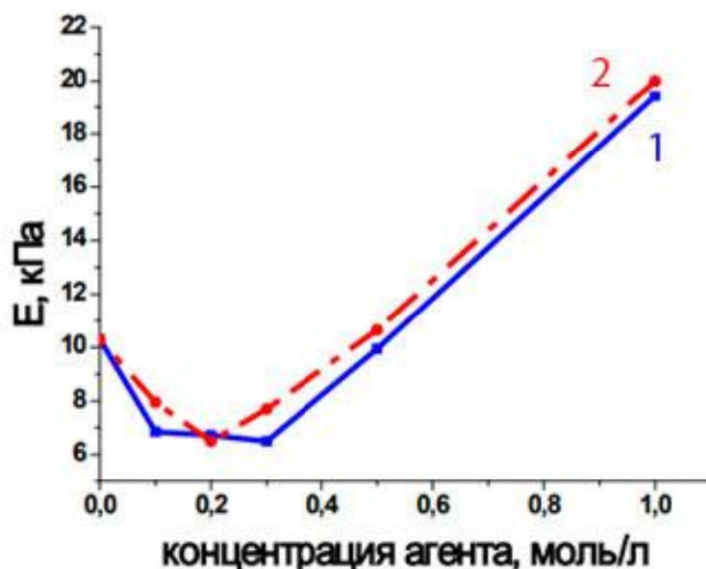


Рисунок 12. Зависимость модуля упругости криогелей от концентрации космотропного агента. Кривая 1 – треталоза, кривая 2 – гидроксипролин (условия формирования криогелей: концентрация ПВС 10 г/дл, температура замораживания -20°C , время замораживания 12 ч, скорость нагревания при оттаивании $0.03^{\circ}\text{C}/\text{мин}$) [85].

При формировании криогелей ПВС в присутствии треталозы или гидроксипролина, т.е. в присутствии космотропных агентов, наблюдается заметное возрастание модуля упругости E (рис. 12) и температуры плавления криогелей, однако с увеличением концентрации космотропов жесткость криогелей ПВС первоначально снижалась, проходила через некоторый минимум и только затем начинала расти. Причиной такого эффекта является наличие конкуренции между двумя процессами – космотропным влиянием растущей концентрации треталозы или гидроксипролин на эффективность гелеобразования ПВС за счет образования большего количества межмолекулярных Н-связей и увеличением объема НЖМФ в макроскопически замороженной системе «вода-полимер-растворенное вещество», что приводит к уменьшению концентрации ПВС в НЖМФ [85]. Данный эффект связан с промотированием водородного связывания гидроксильных групп боковых цепей ПВС в присутствии данных веществ.

Аналогичная тенденция наблюдается и в отношении неорганических солей, влияющих на Н-связь. Соли с космотропными свойствами повышали жесткость криогелей ПВС, тогда как добавки хаотропных солей оказывали противоположное влияние. Например, введение в исходную систему умеренных количеств (≤ 1 моль/л) таких простых солей, как NaF или KCl, приводило к повышению жесткости и температуры плавления криогелей ПВС, тогда как введение солей типа LiCl или NaSCN вызывали снижение прочности криогеля и его термостойкости [86, 87].

Таким образом структура, диффузионные и механические характеристики криогелей ПВС зависят от большого числа различных факторов. Поэтому, подбирая состав исходного раствора, условия формирования криогелей, число ЦЗО и т.д. можно получать криогели ПВС, обладающие необходимыми свойствами для каждого конкретного варианта их применения.

1.6. Композитные криогели поливинилового спирта

В настоящее время все более популярными и востребованными становятся полимерные композиционные материалы (ПКМ). Такой интерес к данному классу материалов обусловлен широким спектром возможностей композитов благодаря многообразию полимеров и наполнителей, неисчерпаемой вариабельности составов композитных материалов на их основе и методов их модификации. Полимерный композиционный материал – это гетерофазная полимерная система из двух или более компонентов, где один компонент (полимер) образует непрерывную фазу, в которую включен второй компонент, отделённый от матрицы межфазной границей раздела, при этом композитные материалы обладают свойствами, отличными от суммарных свойств компонентов [88].

Свойства различных ПКМ в первую очередь зависят от свойств полимера, образующего матрицу матрицы [88]. В то же время очевидно, что все разнообразие ПКМ на основе одного полимера определяется химической природой второй фазы, формой ее частиц, их количеством, размерами, возможной ориентацией коротких или непрерывных армирующих волокон наполнителя, а также морфологией.

Благодаря введению наполнителя можно добиться усиления желательных и ослабления нежелательных свойств полимерной матрицы, гибридизации полезных свойств матрицы и наполнителя, синергии и получения новых свойств, не характерных для компонентов по отдельности.

Композитные криогели ПВС получают путем введения наполнителей или компонентов, которые могут быть преобразованы в дисперсную фазу, включаемую в основную массу дисперсионной среды [89-110]. Композитные криогели ПВС, как и ненаполненные криогели ПВС, также считаются перспективными биомедицинскими и биотехнологическими материалами [29,45,27,97–99,101,104,110,111].

Поскольку в данной диссертационной работе исследовались композитные криогели ПВС, наполненные частицами поли-3-оксималяной кислоты, то и в данном разделе литературного обзора будут рассматриваться композитные криогели ПВС с включениями другого полимера в виде дисперсной фазы.

1.6.1. Особенности свойств полимерных композиционных материалов, содержащих дисперсные частицы

Преимуществами дисперсных наполнителей являются широкий интервал размеров частиц от 2 до 300 мкм (для нанокompозитов размер частиц не превышает 1 мкм), разнообразие – дисперсные частицы могут быть получены из различных полимеров, и относительно простые методы получения необходимых наполнителей [112]. Наряду с указанными ранее факторами, способными влиять на свойства ненаполненных криогелей ПВС, на физико-химические параметры и микроструктуру композитных криогелей ПВС влияют также и характеристики наполнителя: химическая природа, размер и количество частиц, собственная пористость дискретной фазы, ее физико-механические характеристики, совместимость с непрерывной фазой [29,45,27,91–100,102-109,111].

По совместимости с непрерывной фазой дисперсные наполнители можно разделить на инертные, которые не оказывают существенное влияние на свойства материала, активные, улучшающие физико-механические характеристики

композитов, а также наполнители, которые ухудшают жесткость и прочность композитных материалов. Активность наполнителя в основном определяется тремя факторами: соотношением между энергией адгезии матрицы к наполнителю, которая может быть повышена путем введения в состав связующего активных соединений, и энергией когезии полимера; степенью дисперсности частиц наполнителя, которая определяет площадь поверхности контакта матрицы с наполнителем; количеством вводимого наполнителя. Важно отметить, что инертные наполнители могут стать активными при количествах, больших так называемого критического содержания [88,90].

Интенсивность межфазного взаимодействия играет важную роль в формировании свойств ПКМ. Межфазный слой (МФС) – это определенный объем полимера-матрицы, прилегающий непосредственно к границе раздела фаз полимер-наполнитель и имеющий структуру и свойства, отличающиеся от таковых в объеме матрицы (рис. 13). Граница раздела фаз определяет интенсивность взаимодействия полимер-наполнитель посредством двух структурных параметров: прямого адгезионного взаимодействия контактирующих фаз и модификации структуры матричного полимера в области контакта. Очевидно, что структура и свойства МФС для данного ПКМ целиком определяются величиной адгезионного взаимодействия, но в то же время изменение структуры и свойств полимера в объеме МФС изменяет адгезионное взаимодействие на поверхности контакта [88].

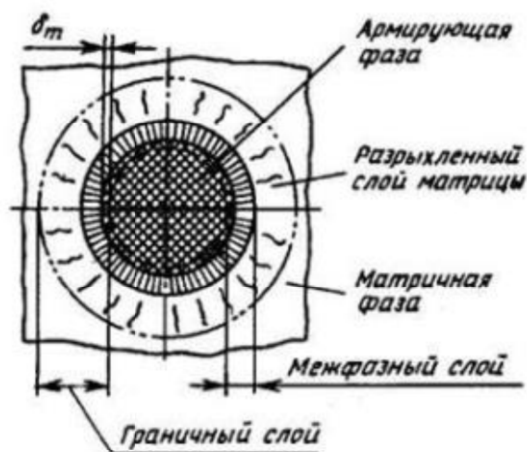


Рисунок 13. Модель межфазного слоя в системе полимер–наполнитель [88].

Граница раздела фаз очень часто является наиболее слабым местом ПКМ, и именно здесь начинается разрушение материала как при механических нагрузках, так и при других воздействиях.

Как уже было отмечено ранее, размер и количество частиц на единицу объема влияют на свойства композитного материала. Поскольку межфазный слой всегда перенапряжен, то, как только число частиц достигает определенного количества, соответствующего перекрыванию межфазных слоев, то композитный материал резко теряет в прочности.

В соответствии с теорией хрупкого разрушения (теория Гриффита) прочность (σ_p) определяется удельной энергией (α) вновь образованной поверхности разрушения [88]:

$$\sigma_p = \left(\frac{2\alpha E}{\pi l_0} \right)^{1/2}$$

где E – модуль упругости материала, l_0 – начальная длина микродефекта, от которого начала расти трещина.

Если разрушение не идеально хрупкое и в вершине роста трещины успевают развиться заметная деформация, то удельная энергия образования новой поверхности многократно возрастает из-за наличия микроориентационных процессов (упрочнение полимера в вершине трещины, диссипация энергии в виде тепла). Если к тому же путь распространения трещины искривлен, то фактическая площадь разрушения много больше, чем определяемая геометрией поперечного сечения образца, а значит, возрастают значения α и σ_p .

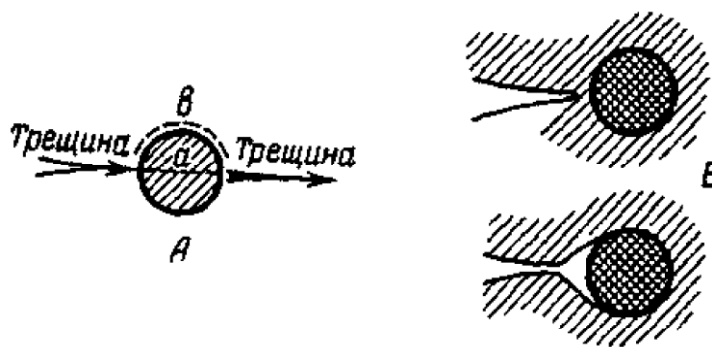


Рисунок 14. Схема распространения трещины в среде с наполнителем:

А – большая прочность связи в МФС: в – трещина огибает частицу, а – разрушает;
 Б – малая прочность связи в МФС: трещина прекращает рост из-за отслаивания матрицы от частицы [88].

Образовавшаяся трещина, встретившись с частицей твердого наполнителя, может либо обогнуть ее, либо разрушить (рис. 14, А). В первом случае существенно искривляется путь трещины, а во втором трещина проходит через частицу с более высокой энергией поверхности разрушения. В обоих случаях резко возрастает величина энергии α и, следовательно, прочность.

Распространение трещины может приостановиться или вовсе прекратиться при встрече с межфазным слоем (МФС) полимера на поверхности твердой частицы. Этому могут быть две причины.

Первая причина заключается в следующем – поверхность активного наполнителя обладает высокой адсорбционной способностью. Фиксация на его поверхности сегментов макромолекул приводит к деформации макромолекулярного клубка и ориентации нефиксированных сегментов по направлению от частицы в объем полимера. Возникает упорядоченный, частично ориентированный межфазный слой полимера с повышенной прочностью. Это замедляет рост трещины, приводя к дополнительному значительному росту энергии вновь образуемой поверхности α [88].

Вторая причина заключается в том, что если взаимодействие полимера с поверхностью наполнителя мало, МФС ослаблен, то при встрече трещины с таким слоем перенапряжения в вершине трещины быстро релаксируют за счет

облегченной деформации полимера в МФС или даже за счет отслоения матрицы от поверхности частицы (рис. 14, Б) [88].

1.6.2. Композитные криогели ПВС с дисперсными наполнителями в виде полимерных сферических частиц

Криогели ПВС, содержащие дисперсный наполнитель, – известный класс композитных материалов. Для них справедливы все особенности, обозначенные в предыдущем разделе. Однако, пористость наполнителя является несколько более значимым фактором, влияющим на свойства композитных криогелей ПВС, поскольку раствор ПВС может проникнуть в дисперсные частицы через их поры, имеющие такое сечение, через которое возможна диффузия макромолекул полимера, и после процесса криотропного гелеобразования внутри частиц также образуется криогель, который будет связан с основной частью криогеля ПВС, такая частица вместе с образованным внутри нее криогелем будет выполнять роль макроскопического узла гелевой сетки [123, 124, 125]. Например, при изучении влияния пористых частиц опилок сосны и более плотных частиц микрокристаллической целлюлозы на модуль упругости криогелей ПВС оказалось, что для композитных криогелей ПВС, наполненных частицами высокопористых опилок, характерны более высокие значения модуля упругости, чем для композитов с аналогичным содержанием частиц менее пористой микрокристаллической целлюлозы [123]. Другим примером данного эффекта являются криогели ПВС, где в качестве дисперсного наполнителя использовали сшитый декстрановый гидрогель (гранулы сефадекса) [126]. На стадии приготовления суспензии частиц наполнителя в растворе ПВС из-за ситового эффекта гранул сефадекса раствор ПВС проникает внутрь дисперсных частиц через их поры. При этом в случае использования более крупнопористого наполнителя (G-100) после процесса формирования криогеля увеличивается объем областей контакта частиц сефадекса со связующей гелевой матрицей, что в свою очередь повышало значения модуля сдвига композитных образцов (табл. 3) [126].

Таблица 3. Модуль сдвига криогелей ПВС, полученных из растворов гелеобразующего полимера с различными типами дисперсных частиц [126].

Тип наполнителя	Концентрация наполнителя (массовая доля %)	Концентрация ПВС в растворе (%)	G_0 (кПа)
	0	10,1±0,2	1,9±0,4
G-25f	20	9,9±0,2	4,8±0,5
G-100f	20	10,2±0,2	11,3±1,4

Другой характеристикой дисперсного наполнителя, которая оказывает влияние на свойства получаемых композитных криогелей ПВС, является наличие ионогенных групп у материала наполнителя [127, 128]. Показано [127], что наполнение криогелей ПВС дисперсными частицами, содержащими ионогенные группы, не снижает жесткость композитных криогелей ПВС по сравнению с ненаполненными криогелями. Однако наличие ионогенных групп вызывает эффект, при котором образуются менее жесткие композиты, чем наполненные криогели ПВС, содержащие частицы немодифицированных сефадексов. Свойства композитных криогелей ПВС, содержащих наполнитель с ионогенными группами, зависят от природы и концентрации противоиона, переносимого с ионитом. Значительное повышение жесткости и температуры плавления композитов наблюдается при использовании сильных анионитов в OH^- форме и сильных катионитов в H^+ форме, поскольку сильное протонирование ведет к образованию сильной водородной связи, либо ионной связи в случае депротонирования [127, 128]. Подобные композиты представляют определенный интерес в качестве ионообменных сорбентов для биотехнологических целей, когда ионит необходимо использовать для обратимого связывания некоторых соединений (например, ферментов).

В качестве дисперсного наполнителя в криогелях ПВС использовались частицы из различных полимеров, например, хитозана [113, 116], полилактидгликолида [115], бактериальной целлюлозы [48] и других. Например,

при изучении влияния микрочастиц хитозана на свойства композитных криогелей ПВС было установлено какой эффект они оказывают на физико-механические и теплофизические свойства образующихся гелевых материалов (рис.15 и рис.16) [113].

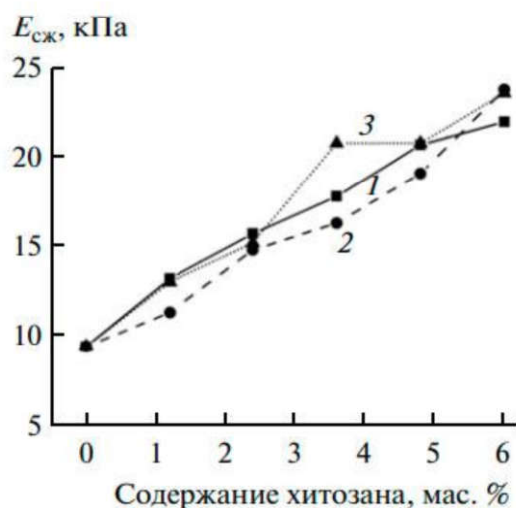


Рисунок 15. Зависимость модуля сжатия образцов композитных криогелей ПВС от концентрации и размера микрочастиц хитозана. Кривая 1 соответствует размеру частиц ≤ 80 мкм, кривая 2 – 80 – 100 мкм, кривая 3 – 160 – 250 мкм [113].

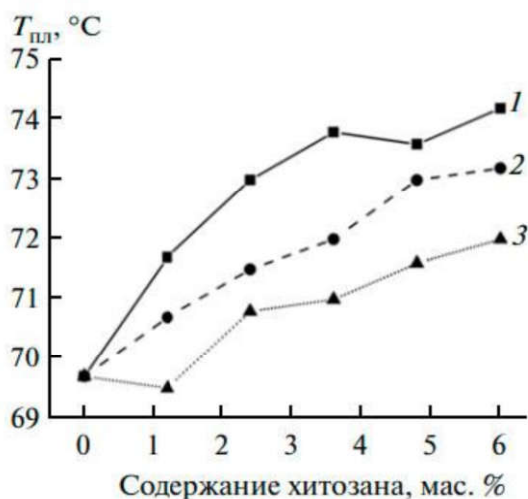


Рисунок 16. Зависимость температуры плавления образцов композитных криогелей ПВС от концентрации и размера микрочастиц хитозана. Кривая 1 соответствует размеру частиц ≤ 80 мкм, кривая 2 – 80 – 100 мкм, кривая 3 – 160 – 250 мкм [113].

Из приведенных на рисунке 15 и 16 результатов следует, что введение частиц хитозана повышало как модуль упругости, так и температуру плавления композитных образцов. Такое влияние добавок хитозана на свойства композитных криогелей ПВС объясняется тем, что оба полимера, т. е. ПВС и хитозан, содержат схожие структурные элементы, а именно гидроксильные группы, которые склонны к образованию множественных водородных связей. Отметим, что на жесткость получающихся образцов также влияют механические свойства дисперсных частиц хитозана.

Композитные криогели ПВС, наполненные микросферами на основе полимеров, являются потенциальными материалами для таргетной доставки лекарственных веществ (ЛВ). Преимуществом использования микросфер для доставки соответствующих соединений является контролируемая скорость высвобождения и уменьшение дозы используемого ЛВ. Также, благодаря подобным дисперсным наполнителям, становится возможным использование относительно гидрофобных ЛВ. Например, была показана возможность использования дисперсных частиц полилактидгликолида (ПЛГА) в качестве носителей таких соединений, как 4-аллил-2-метоксифенол (эвгенол) и транс-циннамальдегид (транс-коричный альдегид), т.к. в связи с плохой растворимостью данных веществ в воде не представляется возможным просто добавить их в исходный раствор ПВС и, соответственно, получить криогель ПВС с включениями данных веществ [114]. К тому же в случае использования микросфер благодаря тому, что ЛВ заключено в систему доставки, его биоактивность и стабильность защищены «инкапсуляцией», т.е. ЛВ изолировано от окружающей его биологической среды [115].

Важными параметрами при исследовании систем доставки ЛВ являются кинетические особенности их высвобождения (релиза). По данным релиза можно определить адекватность используемой системы в каждом конкретном случае. Например, было изучено высвобождение такого вещества, как левоноргестрел, из микросфер хитозана и из тех же микросфер, но заключенных в криогель ПВС [116]. При этом, были выявлены зависимости процента высвобожденного исследуемого

соединения как от размера микросфер (рис. 17), так и от концентрации ПВС в исходном растворе (рис. 18).

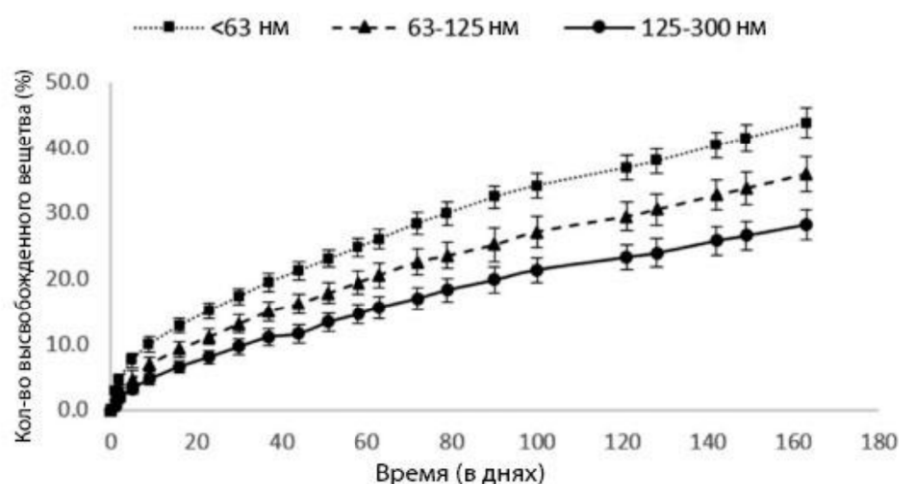


Рисунок 17. График зависимости количества высвобожденного вещества от времени при определенных размерах микросфер хитозана [116].

Было показано, что чем меньше размер частиц хитозана, тем быстрее и в большей степени происходило выделение ЛВ. Маленькие микросферы обеспечивают более короткую длину пути диффузии для молекул ЛВ и большее отношение площади поверхности к объему, что обеспечивает большую площадь контакта с высвобождающей средой [116].

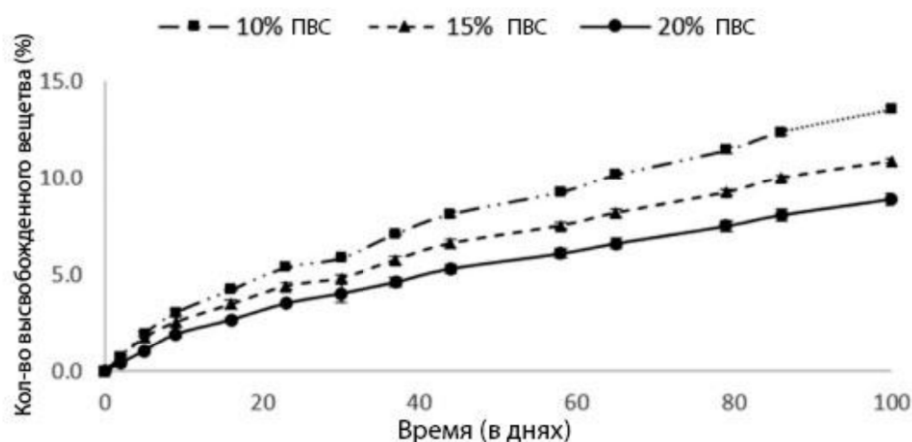


Рисунок 18. График зависимости количества высвобожденного вещества от времени при разных исходных концентрациях ПВС [116].

Зависимость количества высвобожденного вещества от концентрации ПВС в исходном растворе имеет ту же закономерность, что и в случае с размером микрочастиц. Чем ниже исходная концентрация ПВС, тем больший процент ЛВ высвобождался за единицу времени из образца. Это связано с тем, что криогель ПВС, по мнению авторов работы [115], является своего рода дополнительным барьером для релиза молекул ЛВ, увеличивающим длину диффузионного пути ЛВ и ограничивающим его контакт с окружающей средой.

При исследовании высвобождения дексаметазона, заключенного в дисперсные частицы ПЛГА (рис. 19), и высвобождения того же вещества из тех же частиц ПЛГА, которые были включены в криогель ПВС (рис. 20), причем при разных концентрациях гелеобразующего материала, было обнаружено, что в обоих случаях наблюдается схожесть кривых релиза. Важно учитывать, что количество дисперсных частиц во всех случаях было одинаковым, т.е. корреляция возникла между количеством высвобожденного ЛВ и концентрацией ПВС [115].

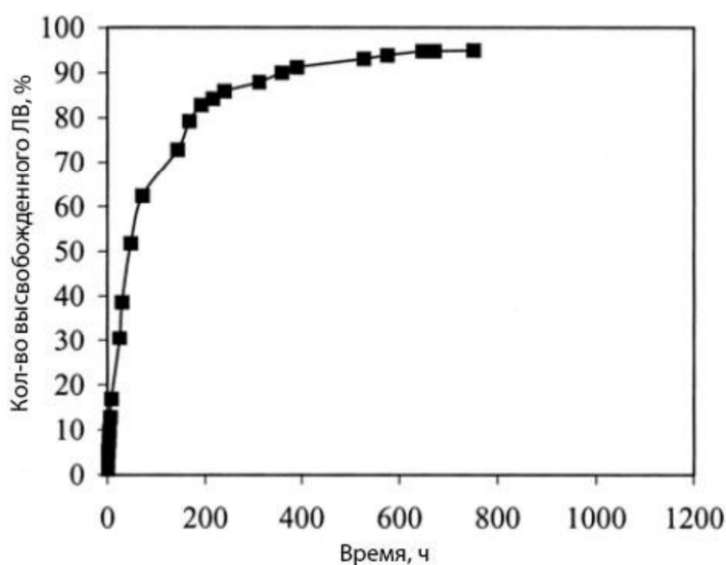


Рисунок 19. График зависимости количества высвобожденного вещества из частиц ПЛГА от времени [115].

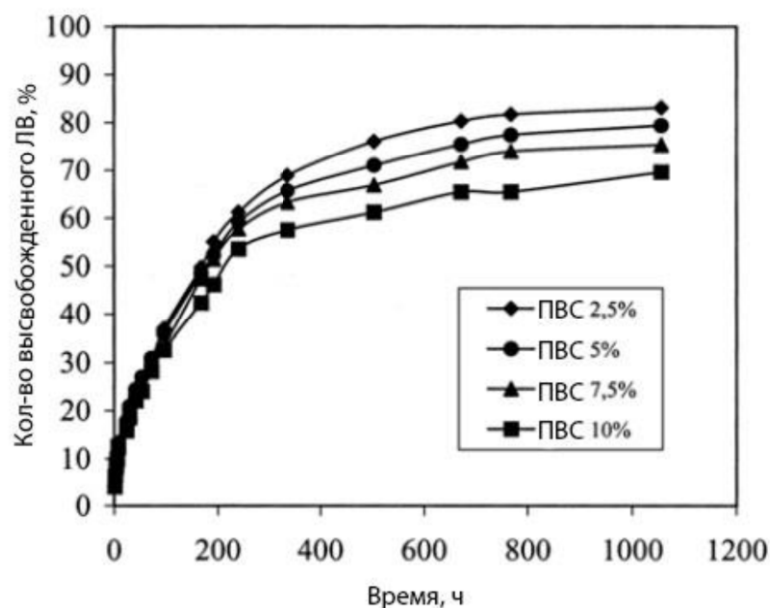


Рисунок 20. График зависимости количества высвобожденного вещества от времени при разных исходных концентрациях ПВС [115].

Таким образом было установлено, что механизм высвобождения ЛВ из композитов на основе ПВС/ПЛГА практически совпадал с таковым в случае высвобождения дексаметазона, которым были нагружены свободные частицы ПЛГА. Т.е. было доказано, что отсутствуют значительные препятствия для диффузии ЛВ, связанные с макропористой структурой дисперсионной среды криогеля ПВС, релиз идет по Фиковскому механизму диффузии [115].

В дополнении к вышесказанному, следует отметить, что такие композиты могут быть использованы для доставки как хорошо растворимых биоактивных агентов, в частности, пентамидина [117] и пептидов (например, гормона роста) [118], альбумина [119], так и для малорастворимых веществ [120].

1.6.3. Композитные криогели ПВС с дисперсными наполнителями в виде коротких волокон

Помимо сферических частиц для формирования композитных криогелей ПВС можно использовать и короткие волокна. Свойства таких композитных криогелей ПВС зависят от характеристик волокна: химической природы, длины и

количества волокон, их механической жесткости, совместимости с непрерывной фазой. Чем длиннее волокно, тем полнее передается напряжение с матрицы на частицу наполнителя, тем в большей степени в механических свойствах композита реализуются свойства наполнителя.

В литературе описаны композитные криогели ПВС, армированные волокнами целлюлозы, в частности нановолокнами бактериальной целлюлозы (БЦ) [48, 80]. Было обнаружено, что добавление нановолокон бактериальной целлюлозы к раствору ПВС, который впоследствии подвергался криотропному гелеобразованию, привело к формированию композитного криогеля ПВС-БЦ, свойства которого можно настроить таким образом, чтобы он обладал механическими характеристиками сердечно-сосудистой ткани. БЦ и ПВС имитируют роль коллагена и эластина в мягких тканях, что делает композитный криогель ПВС-БЦ перспективным материалом для возможного использования в качестве протеза сердечно-сосудистой ткани [80]. При добавке 0,6 мас. % БЦ в исходных раствор, полученный нанокompозитный материал имел более высокую жесткость (для ЦЗО 1–3), а диапазон регулирования механических свойств нанокompозитов был более широким. Поскольку БЦ имеет очень большую площадь поверхности на единицу массы, существует возможность образования значительного числа водородных связей с матрицей ПВС. Это приводит к высокой прочности нанокompозитного материала. Данный материал при различных соотношениях исходных концентраций полимеров продемонстрировал превосходное соответствие свойствам аорты и сердечного клапана свиньи при испытаниях растяжение-деформация. Кроме того, материал обладал более быстрой релаксацией и более низким остаточным напряжением, что является желательными характеристиками для замены мягких тканей сердечно-сосудистой системы [80].

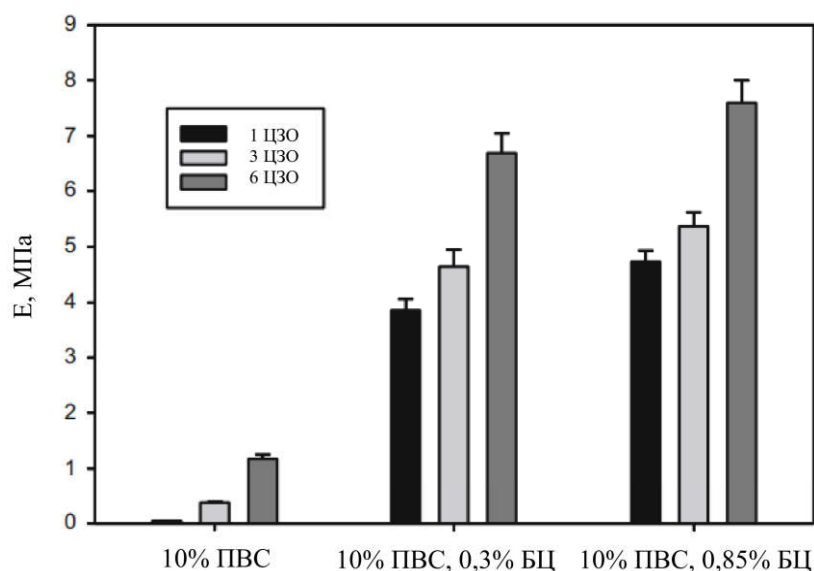


Рисунок 21. Влияние добавок бактериальной целлюлозы на компрессионный модуль упругости композитных криогелей ПВС-БЦ в зависимости от количества ЦЗО при деформации 45 % и скорости деформации 100 %/с [48].

В другом исследовании композитных криогелей ПВС-БЦ изучалась возможность их потенциального применения при замене хрящевой ткани суставов. В этом случае механические свойства должны быть подобраны так, чтобы воспроизводить свойства суставного хряща, состоящего из коллагеновых фибрилл и протеогликанов. Путем испытаний на сжатие было установлено, что с увеличением числа ЦЗО жесткость композитного материала повышалась. Это соответствовало результатам, описанным на предыдущей странице. Кроме того, жесткость возрастала с увеличением количества БЦ в матрице ПВС. Небольшое повышение массовой доли БЦ (от 0 до 0,3 %) приводило к значительному росту упругости композитного материала, что показано на рисунке 21.

Исследования релаксации напряжения таких композитных криогелей ПВС показывают, что остаточное относительное напряжение понижается с увеличением концентрации БЦ. Эти результаты в работе [48] объясняют тем фактом, что добавление высококристаллического гидрофильного полимера в качестве армирующей фазы вызывает сильное межфазное взаимодействие с матрицей ПВС,

что приводит к образованию значительного количества водородных связей и, таким образом, приводит к повышению прочности материала. Это может иметь потенциал для некоторых биомедицинских применений [48].

Композитные криогели ПВС с полимерными дисперсными наполнителями различной химической природы, формы и размера являются перспективными кандидатами для использования в качестве материалов биомедицинского назначения. Введение в матрицу криогеля ПВС частиц другого полимера позволяет еще более специфично настраивать физико-механические и диффузионные характеристики криогелей ПВС, а также получить новые свойства, такие как возможность пролонгированного высвобождения лекарственных веществ из данных материалов.

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Материалы и препараты

В работе без дополнительной очистки использовали следующие вещества: поливиниловый спирт с молекулярной массой 86 кДа и степенью деацетилирования 99-100% (AcrosOrganics, США), поливиниловый спирт (ПВС_c) марки 18/11 с молекулярной массой 65 кДа и степенью деацетилирования 86-88% (ПО «Азот», СССР), диметилсульфоксид (хч) (Компонент Реактив, РФ), диметилформамид (хч) (Компонент Реактив, РФ), мочеви́на (“ultrapure”; Sigma, USA), краситель Конго красный (Sigma-Aldrich, США), желатин марки «фото», фенол (ч.д.а.) и глицерин (ч.д.а.) (все ООО «Реахим», РФ), 50% водный раствор глутарового альдегида (Acros Organics, Бельгия), ацетон (хч) (Компонент Реактив, Россия), хлороформ (х. ч.) («Компонент-Реактив», Россия), карбонат аммония (х. ч.) («Химмед», Россия), диэтиловый эфир (ч. д. а.) (АО «База №1 Химреактивов», Россия), натриевую соль ибупрофена (Sigma Aldrich, США). Для работы с водными системами использовали деионизованную воду.

Симвастатин был выделен из лекарственного препарата «Симвастатин» производства ООО «Озон фарм» (Россия) путем экстракции хлороформом. Полученный раствор фильтровали, после чего симвастатин осаждали диэтиловым эфиром, отделяли фильтрованием и сушили на воздухе.

Поли-3-оксималяную кислоту с молекулярной массой 30 кДа (ПОМК₃₀) и 300 кДа (ПОМК₃₀₀) производства Biomer (Германия) дополнительно очищали растворением в хлороформе с дальнейшим осаждением в избытке изопропилового спирта, с последующим фильтрованием и сушкой.

2.2. Оборудование

При приготовлении растворов ПВС и микросфер ПОМК использовали механическую мешалку RZR 1 (Heidolph, Германия). Исследования растворов ПВС и ПОМК проводили методом дифференциально-сканирующей калориметрией на приборе DSC 204 F1 (NETZSCH, Германия). Для удаления пузырьков воздуха из

растворов ПВС использовали ультразвуковую ванну UNITRA (Unitra, Польша). Замораживание растворов для формирования образцов криогелей ПВС проводили с помощью программируемых криостатов FP 45 HP (Julabo, Германия) и Proline RP 1840 (Lauda, Германия). Значения модуля Юнга (*E*) образцов измеряли с помощью автоматического анализатора текстуры TA-Plus (Lloyd Instruments, Великобритания). Массу образцов криогелей ПВС определяли с помощью аналитических весов Adventurer AX224 (Ohaus Corporation, США). Геометрические размеры (диаметр и высоту) образцов криогелей измеряли с помощью штангенциркуля. Тонкие (10 мкм) срезы криогелей готовили с помощью криомикротомы SM-1900 (Leica, Германия). Визуализацию микрогранул ПОМК проводили с помощью оптического стереомикроскопа SMZ1000 (Nikon, Япония), оснащенного системой цифровой регистрации изображений MMC-50C-M (MMCSOFT, Россия). Макропористую морфологию полученных образцов криогелей изучали с помощью оптического микроскопа Eclipse 55i (Nikon, Япония), оснащенного электронной системой записи изображения. Микрофотографии сферических частиц ПОМК и поверхностей сколов образцов криогелей получали с помощью сканирующих электронных микроскопов CamScan Series 4 (Applied Beams LLC, США) и JSM-6380LA (JEOL Ltd., Япония), предварительно напылив образцы золотом с помощью устройства ионного распыления IB3 (Giko Engineering. Co., Япония). Высвобождение лекарственных веществ определяли, записывая УФ-спектры жидкой фазы с помощью UV/VIS-спектрофотометра T70 (PG Instruments Ltd., Великобритания).

2.3. Методики проведения экспериментов

2.3.1. Ненагруженные и нагруженные лекарственным веществом микросферы ПОМК

Ненагруженные микросферы с макропорами и без макропор на основе поли-3-оксималяной кислоты, не содержащие симвастатин, получали по разработанной ранее методике [131]. Для этого готовили 12 мл раствора ПОМК концентрацией 45 мг/мл в хлороформе. После интенсивно смешивали с 6,6 мл

водного раствора карбоната аммония концентрацией 50 мг/мл (для получения микросфер без крупных пор данный этап пропускался). Полученный раствор добавляли к 210 мл водного раствора ПВС_с концентрацией 10 мг/мл с перемешиванием при 750 об/мин механической мешалкой. Перемешивание продолжали до полного испарения хлороформа с последующим отделением образовавшихся микросфер ПОМК, которые отфильтровывали и промывали дистиллированной водой (7 x 30 мл). Такие микросферы были включены в криогели ПВС и в дальнейшем использованы для физико-механических испытаний. В свою очередь, при изготовлении симвастатин-содержащих микросфер ПОМК, 27 мг симвастатина растворяли в 12 мл раствора ПОМК концентрацией 45 мг/мл в хлороформе. Полученный раствор добавляли к 210 мл водного раствора ПВС_с концентрацией 10 мг/мл при перемешивании при 750 об/мин механической мешалкой. Перемешивание продолжали до полного испарения хлороформа с дальнейшим отделением образовавшихся нагруженных симвастатином микросфер ПОМК фильтрованием и последующей их промывкой дистиллированной водой (7 x 30 мл).

2.3.2. Приготовление растворов ПВС

При получении растворов полимера навеску его сухого порошка диспергировали в расчетном объеме ДМСО, либо воды, либо смеси ДМСО/ДМФА для достижения необходимой концентрации ПВС. Полимер выдерживали в растворителе 18 ч при комнатной температуре для набухания, а затем нагревали 1 ч на кипящей водяной бане при перемешивании до полного растворения ПВС. Образец взвешивали до и после нагревания, а количество испарившейся воды компенсировали после охлаждения раствора до комнатной температуры. При приготовлении растворов, содержащих добавки мочевины, необходимое ее количество растворяли в растворе полимера при комнатной температуре. Полученные растворы, для удаления пузырьков воздуха, обрабатывали ультразвуком в течение 20 мин при комнатной температуре в ультразвуковой ванне.

2.3.3. Получение суспензий микрофер ПОМК в растворе ПВС

Сначала готовили водные растворы ПВС с концентрацией полимера в диапазоне 73–138 г/л по методике, описанной выше (раздел 2.3.2). При этом в соответствующих расчетах также учитывалось количество воды, которая содержалась во влажных микроферах ПОМК. Затем необходимые порции влажных микрофер ПОМК смешивали с необходимым количеством соответствующего раствора ПВС для получения суспензий, содержащих ПОМК в нужной концентрации.

2.3.4. Приготовление растворов ПВС/ПОМК в общем растворителе

Для получения растворов ПВС в ДМСО известное количество сухого полимера диспергировали в расчетном объеме ДМСО для достижения концентраций ПВС, равной 100 г/л, 150 г/л и 200 г/л. Смесь выдерживали 18 ч при комнатной температуре, чтобы полимер набух, а затем нагревали 1 ч на кипящей водяной бане при перемешивании до полного растворения ПВС. Готовые растворы, для удаления пузырьков воздуха, обрабатывали ультразвуком в течение 20 мин при комнатной температуре в ультразвуковой ванне.

Для получения растворов ПВС/ПОМК в ДМСО, нужное количество ПОМК оставляли набухать в расчетном объеме растворителя в течении трех дней. После выдерживания, полимер растворяли при нагревании и перемешивании. Затем, в полученный раствор, добавляли ПВС так, чтобы его концентрация в растворе была равна 100 г/л. Полученную смесь также нагревали и перемешивали до полного растворения ПВС. Растворы взвешивали до и после нагревания, а количество испарившегося растворителя компенсировали.

Для получения растворов ПВС/ПОМК в смеси ДМСО/ДМФА, нужное количество ПОМК оставляли набухать в расчетном количестве ДМФА в течении трех дней. После выдерживания полимер растворяли при нагревании и перемешивании. Отдельно готовили раствор ПВС в ДМСО по описанной выше методике (раздел 2.3.2). Растворы ПОМК взвешивали до и после нагревания, а количество испарившегося растворителя компенсировали. Далее растворы этих

полимеров смешивали так, чтобы содержание растворителей в полученной смеси было 75% ДМСО и 25% ДМФА.

2.3.5. Дифференциально-сканирующая калориметрия растворов ПВС и ПОМК

Исследование растворов ПВС/ДМСО, ПОМК/ДМСО, ПВС/ПОМК/ДМСО, ДМСО/ДМФА, ПВС/ДМСО/ДМФА, ПОМК/ДМСО/ДМФА, ПВС/ПОМК/ДМСО/ДМФА проводили с помощью дифференциально-сканирующей калориметрией. Измерительную систему калибровали согласно норме ISO 11357-1 по параметрам фазовых переходов стандартных веществ (C_6H_{12} , Hg, бензойная кислота, Ga, KNO_3 , In, Sn, Bi, CsCl, чистота 99.99%). Систематическая ошибка температурной калибровки (определена по In) составляет 0.1 °C.

Образцы тестировали в стандартных алюминиевых ячейках ($V = 56 \text{ мм}^3$, $d = 6 \text{ мм}$), завальцованных крышкой с отверстием (отношение площади дна ячейки к площади отверстия составляло порядка 40) в потоке (40 мл/мин) азота (ВЧ) в интервале температур 20-80 °C при скорости нагревания 10°/мин.

Экспериментальные данные обрабатывали с помощью пакета анализа NETZSCH Proteus Analysis согласно стандарту ISO/CD 11358.

Взвешивание образца проводили на аналитических весах AND GH 202 с точностью $\pm 1 \cdot 10^{-2}$ мг. Материал не подвергали механической обработке перед измерениями во избежание дегидратации.

Термические измерения проводили совместно с лабораторией прогнозирования устойчивости наносистем ЦКП МГУ на оборудовании Центра Коллективного Пользования Химического факультета МГУ.

2.3.6. Формирование криогелей ПВС и композитных криогелей ПВС/ПОМК

Для формирования криогелей растворы ПВС без и с добавками мочевины, суспензии микросфер ПОМК в растворах ПВС, а также растворы ПВС/ПОМК

заливали в разборные дюралюминиевые цилиндрические формы (внутренний диаметр 15 мм, высота 10 мм) [77, 93–95], которые помещали в камеру прецизионного программируемого криостата, где образцы были заморожены и проинкубированы в течение 12 часов при $-21,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ в случае использования ДМСО в качестве растворителя и при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в случае использования воды в качестве растворителя. После этого температуру повышали до $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ со скоростью $0,03\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$, регулируемой микропроцессором криостата.

2.3.7. Общая методика измерения физико-механических свойств ненаполненных и композитных криогелей ПВС

Значения компрессионного модуля Юнга (E) образцов криогелей измеряли в режиме одноосного сжатия с помощью автоматического анализатора текстуры по линейному участку зависимости напряжения от деформации. Скорость нагружения – $0,2\text{ мм}/\text{мин}$. Испытания проводили до степени деформации 30%. Значения E были измерены для трех параллельных образцов; образцы готовили в 3–5 независимых экспериментах. Полученные результаты усредняли.

Измерения проводили как для «первичных» криогелей, сформированных в среде ДМСО, либо ДМСО/ДМФА, так и для образцов, в которых органическая жидкая фаза была заменена чистой водой. В последнем случае образцы криогелей инкубировали при комнатной температуре в стеклянных стаканах, каждый из которых содержал или 30, или 90 мл деионизированной воды. Воду заменяли свежей порцией каждый день, предварительно измеряя характеристики образцов. Такие КГПВС, т.е. гидратированные гелевые препараты, далее мы будем называть «вторичными» криогелями.

2.3.8. Изменение массы и объема образцов криогелей ПВС

Массу образцов измеряли с помощью аналитических весов. Объем образцов измеряли с помощью штангенциркуля и рассчитывали по формуле объема цилиндра.

2.3.9. Определение количества ПОМК в образцах композитных криогелей после замены растворителя

Для определения количества ПОМК в композитных криогелях после замены органического растворителя на воду, взвешенный образец помещали в стакан с избытком воды и расплавляли на водяной бане до получения раствора. Затем полученный раствор центрифугировали и отделяли осадок ПОМК от супернатанта. Данную процедуру повторяли два раза. После чего остатки воды выпаривали на водяной бане. Далее стакан с осадком ПОМК помещали в вакуумный эксикатор и высушивали в течении суток. Массу осадка в стакане определяли с помощью аналитических весов за вычетом массы самого стакана.

2.3.10. Оптическая микроскопия

Визуализацию микросфер ПОМК проводили с помощью оптического стереомикроскопа, оснащенного системой цифровой регистрации изображений. Размер сфер определяли анализом полученных изображений с помощью программы Image J (National Institutes of Health, США).

Микроструктуру образцов криогелей ПВС изучали в их тонких (10 мм) срезах с использованием оптического микроскопа, оснащенного цифровой фото камерой. В свою очередь, эти срезы, ортогонально оси цилиндрических образцов, готовили с помощью криомикротомы согласно методике [77, 87, 103, 105, 128], окрашивали красителем Конго красный и заливали «фиксирующей средой» (раствор 1 г желатина в 12 мл 50% водного глицерина и 0,2 г фенола в качестве бактериостатического агента). Микроструктуру ненаполненных и композитных криогелей ПВС изучали после замены в них ДМСО на воду, поскольку, в наших предыдущих исследованиях было найдено [129], что препараты «первичных» криогелей ПВС для микроскопии не удавалось контрастировать для выявления их микроструктуры.

2.3.11. Сканирующая электронная микроскопия образцов криогелей ПВС и микросфер ПОМК

Препараты криогелей для электронно-микроскопических исследований готовили согласно ранее описанной методике [68]. С этой целью образцы сначала фиксировали 2.5%-ным раствором глутарового альдегида в 0.1 N HCl в течении суток, затем промывали водой, далее замещали воду на летучий растворитель последовательной обработкой образцов растворами с повышающейся концентрацией (10, 30, 50, 80, 100%) ацетона, после чего образцы высушивали в критической точке. Далее каждый препарат погружали в жидкий азот и проводили скалывание, а затем на поверхность сколов с помощью ионного распылителя в среде аргона наносили слой золота. Структуру приготовленных таким образом препаратов изучали в сканирующем электронном микроскопе при ускоряющем напряжении 20 кВ.

Изображения СЭМ сухих микросфер ПОМК, предварительно напыленных золотом, также были получены с использованием сканирующего электронного микроскопа.

2.3.12. Насыщение образцов криогелей ПВС натриевой солью ибупрофена

Для насыщения гидратированных, т.е. «вторичных» криогелей ПВС, и композитных криогелей ПВС с микросферами ПОМК, модельным лекарственным веществом каждый цилиндрический образец криогеля помещали во флакон с 5 мл водного раствора натриевой соли ибупрофена концентрацией 1 мг/мл. Далее в течении 5 дней с интервалом в 24 часа с помощью UV/VIS-спектрофотометра записывали УФ-спектры жидкой фазы, чтобы зафиксировать достижение равновесия распределения растворенного вещества в системе гель-жидкость.

2.3.13. Изучение кинетики высвобождения лекарственных веществ из образцов криогелей ПВС

При исследовании кинетики высвобождения лекарственных веществ (натриевой соли ибупрофена и симвастатина) из насыщенных ими образцов криогелей ПВС каждый образец криогеля погружали в 5 мл 0.05М Na-фосфатного буферного раствора (рН 7.4) и инкубировали при комнатной температуре в течение определенных промежутков времени, когда измеряли оптическое поглощение супернатанта при нужной длине волны, а образец криогеля помещали в свежую порцию (5 мл) буферного раствора. Эти операции повторяли необходимое количество циклов. Содержание симвастатина в жидкой фазе определяли, используя предварительно построенный калибровочный график. Содержание натриевой соли ибупрофена в жидкой фазе определяли по закону Бугера-Ламберта-Бера, используя известные значения коэффициентов экстинкции этого вещества при 264 нм, равное $373 \text{ л} * \text{моль}^{-1} * \text{см}^{-1}$.

ГЛАВА 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1. Криогели ПВС, сформированные из растворов в ДМСО с добавками мочевины

При изучении криогелей ПВС, полученных из растворов в ДМСО с добавками мочевины, концентрация ПВС была равна 10 г/дл, температура криогенной обработки во всех случаях была одинаковой $-21,6\text{ }^{\circ}\text{C}$, что на 40 градусов ниже ($\Delta T = -40\text{ }^{\circ}\text{C}$) относительно точки кристаллизации чистого ДМСО ($T_0 = +18,4\text{ }^{\circ}\text{C}$) [136]. В предварительных опытах было найдено, что в этих условиях растворы всех вышеуказанных составов гарантированно замерзали, тогда как при более высоких отрицательных температурах, в частности при ΔT в диапазоне от -20 до -10 градусов, образцы с 4-молярным содержанием мочевины часто не кристаллизовались из-за эффектов переохлаждения.

3.1.1. Влияние добавок мочевины на свойства криогелей ПВС

Как уже отмечалось ранее [132], органические хаотропы, в частности мочевины, растворенные в водных растворах ПВС, вызывают прогрессирующее снижение значений модуля Юнга и температуры плавления криогелей ПВС, образованных методом криотропного гелеобразования. Чем выше концентрация хаотропного агента, тем ниже модуль упругости и температура плавления соответствующих криогелей. В частности, при начальной концентрации ПВС 10 г/дл можно было получить образцы геля только при концентрациях мочевины не более 0,5 моль/л, поскольку полученные криогели были очень слабыми или вообще не образовывались при более высоком содержании добавки.

Когда образцы криогелей ПВС формировались в среде ДМСО, мы смогли получить криогели в присутствии гораздо более высоких концентраций мочевины (до 4 моль/л). Дальнейшее увеличение концентрации этой добавки было ограничено пределом ее растворимости в растворах ПВС/ДМСО.

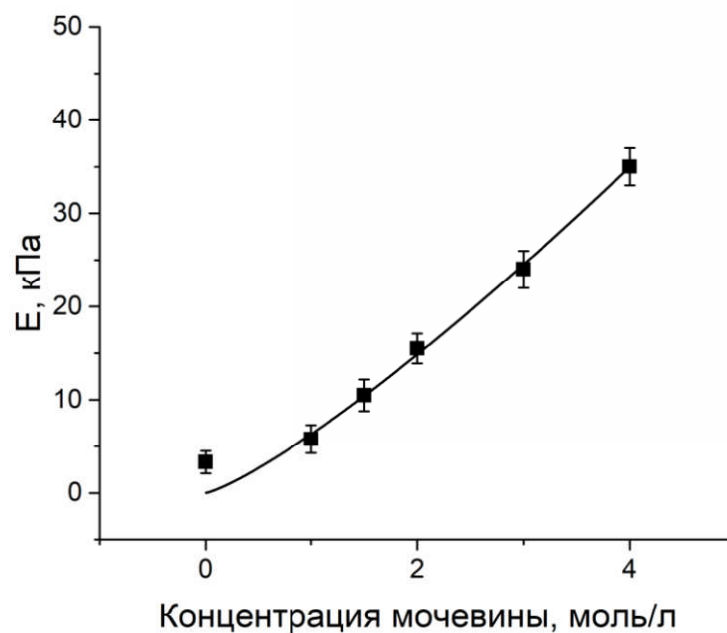


Рисунок 22. Зависимость модуля упругости криогелей ПВС от концентрации мочевины в исходном ДМСО растворе полимера.

При введении мочевины в растворы ПВС/ДМСО оказалось, что данный хаотроп действует космотропным образом по отношению к криотропному гелеобразованию ПВС в ДМСО, то есть оказывал прямо противоположное действие, чем в воде. Значения модулей упругости (рис. 22) и температуры плавления (рис. 23) криогелей ПВС повышались с ростом концентрации мочевины.

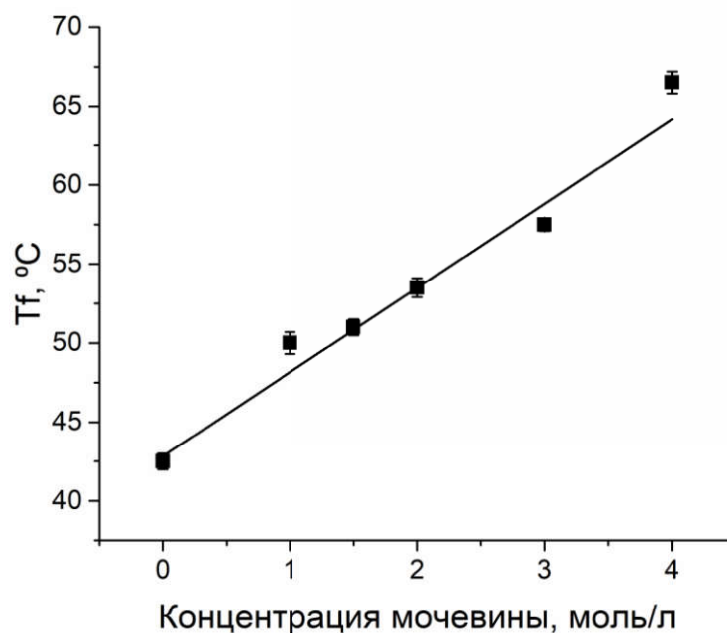


Рисунок 23. Зависимость температуры плавления криогелей ПВС от концентрации мочевины в исходном ДМСО растворе полимера.

Температура плавления нековалентных (физических) криогелей, образующихся за счет межмолекулярных водородных связей, является функцией их удельного (в расчете на единицу объема) количества. Для криогелей ПВС, сформированных из водных растворов, значение $T_f = 65 \pm 0,5$ °C. Поэтому из сравнения приведенных выше значений T_f следует вывод о заметно меньшем числе водородных связей в структуре криогелей ПВС, формирующихся в среде замороженного ДМСО без добавок мочевины. С другой стороны, если по мере увеличения доли добавки мочевины в исходном водном растворе полимера и жесткость, и температура плавления криогелей состава ПВС–вода–мочевина монотонно снижались [85], то те же характеристики гелевых образцов состава ПВС–ДМСО–мочевина существенно возрастали.

Для применения в медико-биологических областях криогелей ПВС, полученных в среде ДМСО, необходимо произвести замену органического растворителя на воду. После измерения характеристик первичных криогелей провели исчерпывающую промывку образцов водой, в ходе которой из пор были

вымывты все добавки и ДМСО (такие криогели в дальнейшем будут называться «вторичные»), после чего повторно был измерен модуль Юнга и его значение резко возросло (рис. 24). Такие результаты скорее всего объясняются тем, что сольватирующая способность воды по отношению к ПВС ниже, чем у ДМСО, что способствует образованию новых водородных связей в гелевой сетке.

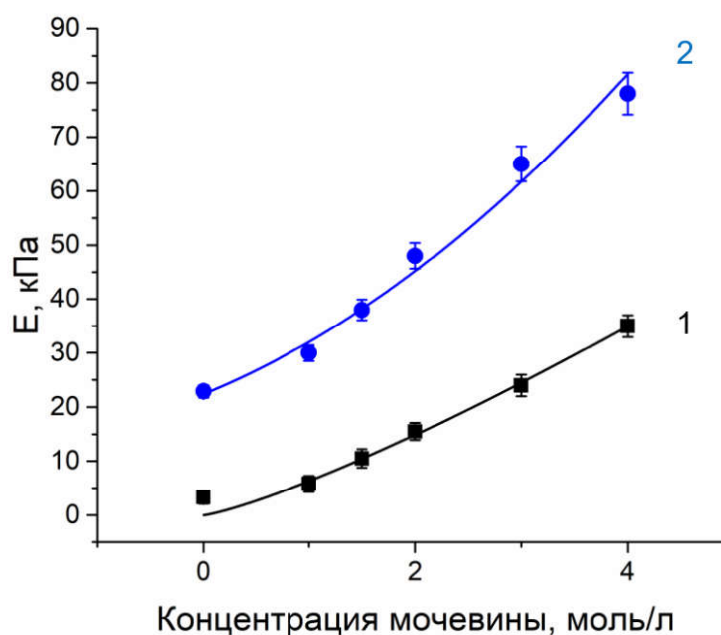


Рисунок 24. Зависимость модуля упругости криогелей ПВС от исходной концентрации мочевины до (кривая – 1) и после (кривая – 2) замены ДМСО на воду.

При этом основной характер тенденций влияния исходной концентрации мочевины на значения модуля упругости, наблюдавшийся для "первичных" криогелей ПВС, образованных в ДМСО (рис. 22), был сохранен и для "вторичных" криогелей (рис. 24). Однако механическая прочность криогелей ПВС зависит не только от плотности гелевой сетки, но и от макропористой морфологии таких гетерофазных гелевых матриц.

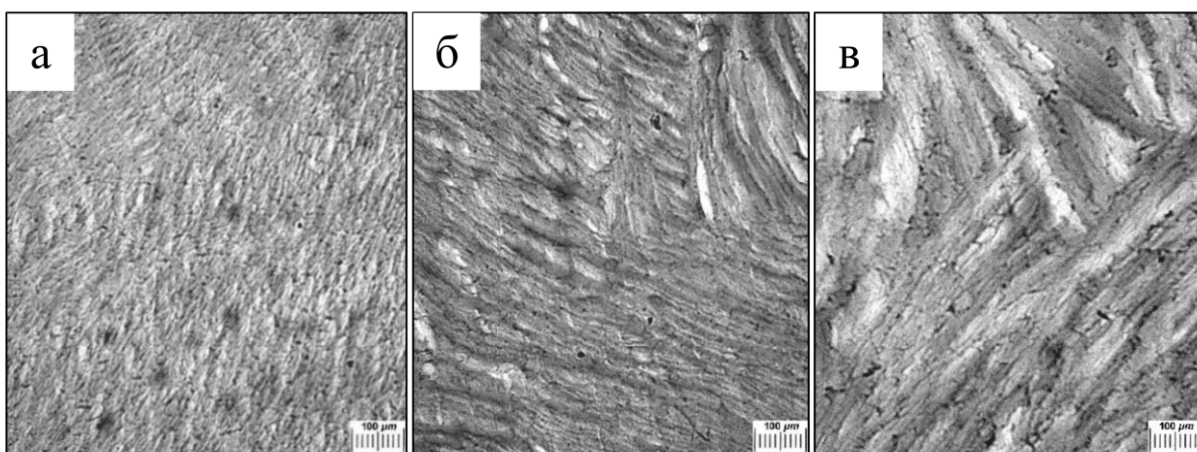


Рисунок 25. Микрофотографии тонких срезов образцов криогелей ПВС, полученных в присутствии мочевины с $C = 0$ моль/л (а), $C = 1$ моль/л (б), $C = 3$ моль/л (в).

На рисунке 25 приведены микрофотографии тонких срезов образцов криогелей ПВС, полученных в присутствии мочевины с различной её концентрацией. Темные области - стенки полимерной сетки гелевой фазы криогеля. Светлые участки - макропоры. Исходя из микрофотографий можно сказать, что влияние мочевины на пористую морфологию кригелей ПВС, сформированных из растворов в ДМСО, зависит от ее концентрации. Тем не менее, наблюдалось снижение структурной упорядоченности по сравнению с кригелями ПВС без добавок. Увеличение концентраций мочевины вызвало заметное увеличение разнообразия форм и размеров пор.

3.1.2. Механизм «космотропного» влияния мочевины на криотропное гелеобразование ПВС в среде ДМСО

Возможным механизмом аномального влияния мочевины на свойства криогелей, полученных в среде ДМСО, является индуцированное данным хаотропом снижение сольватационной способности ДМСО по отношению к ПВС. Мы полагаем, что этот эффект может быть обусловлен специфическими обратимыми взаимодействиями ДМСО–мочевина следующего рода (рис. 26).

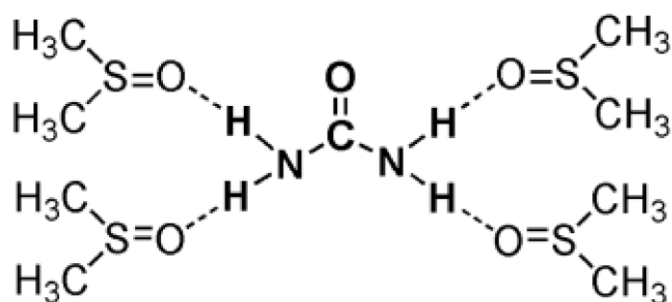


Рисунок 26. Возможная схема комплексообразования мочевины с ДМСО.

Здесь молекула мочевины может связывать четыре молекулы ДМСО посредством образования Н-связей. Следовательно, например, при [мочевина] = 3 моль/л концентрация “Н-связанных” молекул ДМСО должна составлять около 12 моль/л. Если концентрация ПВС в растворе, который будет подвергаться криотропному гелеобразованию в процессе замораживания–оттаивания, составляет 10 г/дл, то концентрация ОН–групп полимера в этой системе составляет почти 2,27 моль/л, то есть конкуренция между ОН-группами ПВС и мочевиной за связывание с ДМСО должна смещать конечный результат в сторону образования комплексов мочевины-ДМСО, а не сольватации ПВС. Следует также отметить, что это влияние мочевины на ДМСО сохраняется и при снижении температуры до 15 °С, которая в наших экспериментах была критической температурой переохлаждения ДМСО. Это позволяет предположить, что более низкое качество ДМСО как растворителя для ПВС в присутствии мочевины сохраняется и при температурах криогенной обработки растворов ПВС–ДМСО–мочевина, что является основным фактором усиления структурообразования при криотропном гелеобразовании этих систем.

3.1.3. Изменение свойств криогелей ПВС, полученных в среде ДМСО с добавками мочевины, в процессе замены органического растворителя на воду

Замещение органической среды на воду инкубацией образцов «первичных» криогелей в избытке водного экстрагента с периодической его заменой на свежую порцию приводило к трансформации «первичных» криогелей ПВС во «вторичные». В ходе такой трансформации мы измеряли текущие значения объема (V_i), массы (m_i) и компрессионного модуля Юнга (E_i) соответствующих гелевых образцов (рис. 27-29), чтобы оценить характер изменений данных показателей, вызываемых сменой среды, сольватирующей трехмерную надмолекулярную сетку ПВС. После помещения образцов «первичных» криогелей ПВС в воду уже через сутки наблюдалось существенное уменьшение их геометрических размеров. И далее, обычно после третьей смены воды, величина подобного эффекта отбухания практически стабилизировалась. Данный эффект иллюстрируется диаграммами рисунков 27 и 28 как выраженное в процентах отношение, соответственно, объема и массы цилиндрических образцов – текущего (V_i и m_i) и исходного (V_0 и m_0). При этом абсолютное значение параметров V_i/V_0 и m_i/m_0 зависело от концентрации мочевины, введенной в начальный ДМСО-раствор полимера. В наименьшей степени сокращение объема и массы криогелей ПВС в результате замещения в них ДМСО на воду происходило для образцов криогелей, приготовленных без добавок мочевины (рис. 27а и 28а). Более выражен данный эффект был для криогелей, полученных с 2-х молярным содержанием мочевины (рис. 27б и 28б), и в наибольшей степени – в случае образцов, сформированных из растворов ПВС с содержанием мочевины 4.0 моль/л (рис. 27в и 28в). При этом абсолютная величина сокращения геометрических размеров и массы образцов в некоторой степени еще зависела и от объема воды, куда был погружен соответствующий криогель, т.е. зависела от соотношения его объема и объема внешнего жидкого экстрагента.

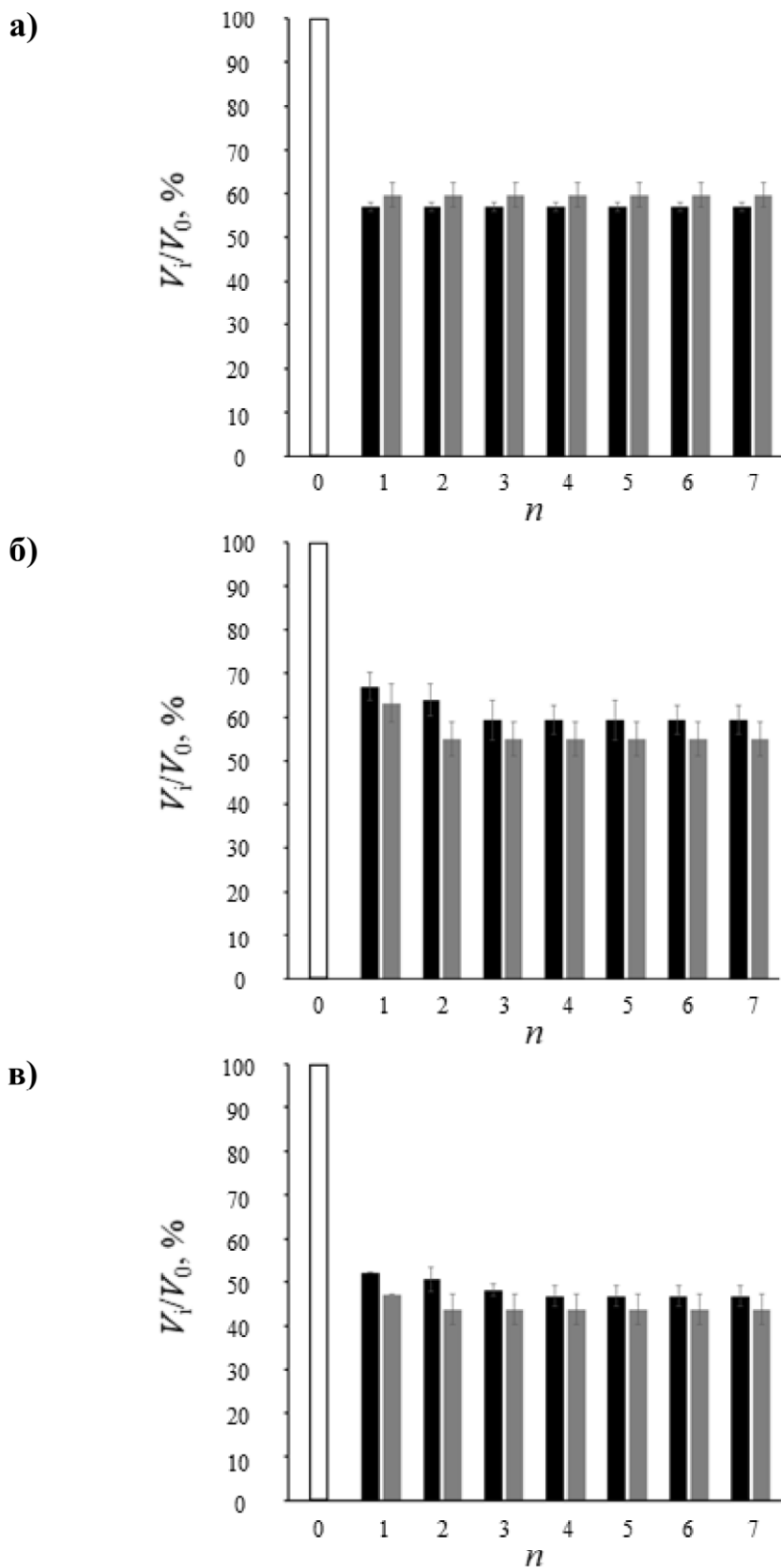


Рисунок 27. Относительное изменение объема цилиндрических образцов криогелей ПВС, помещенных в различные объемы жидкости для замещения ДМСО на воду (неокрашенный столбик – объем криогеля до гидратации, черный столбик – объем воды 30 мл, серый столбик – 90 мл; n – число циклов смены воды).

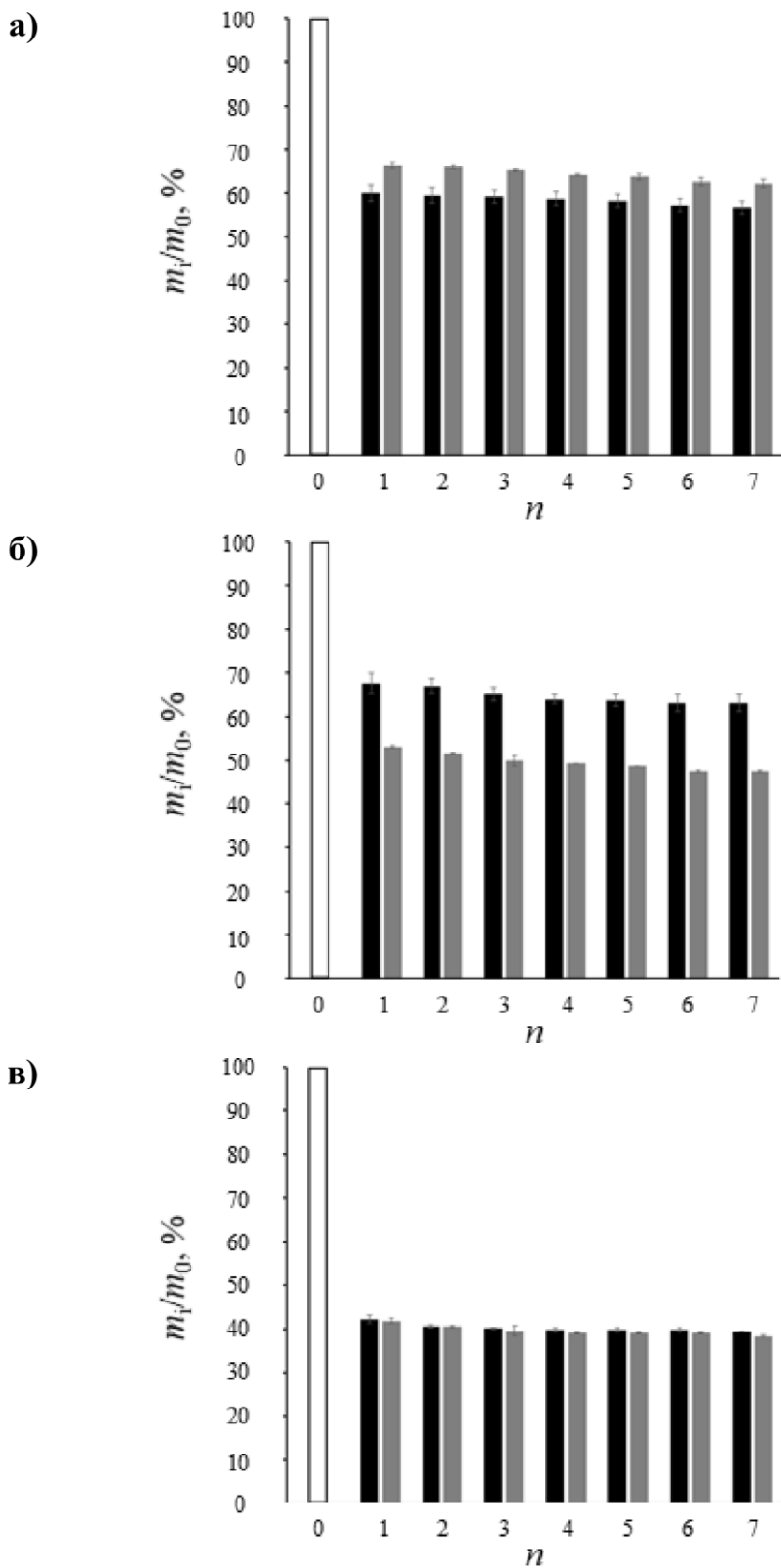


Рисунок 28. Относительное изменение массы цилиндрических образцов криогелей ПВС, помещенных в различные объемы жидкости для замещения ДМСО на воду (неокрашенный столбик – масса криогеля до гидратации, черный столбик – объем воды 30 мл, серый столбик – 90 мл; n – число циклов смены воды).

Так, для цилиндрических криогелей ПВС, полученных на основе ДМСО-растворов полимера без добавок мочевины, показатель V_i/V_0 у образцов, инкубированных в сменяемых 30-мл-порциях воды, оказался примерно на 5%, а отношение m_i/m_0 – на ~7% ниже, чем для аналогичных криогелей, но обработанных 90-мл-порциями такого же экстрагента (рис. 27а и 28а). Можно предположить, что из-за меньшей степени разбавления ДМСО в первом варианте процесс отбухания надмолекулярной сетки ПВС протекал медленнее, т.е. в более равновесных условиях, и поэтому с несколько большей эффективностью по сравнению со вторым вариантом, когда сродство растворителя к полимеру снижалось быстрее в менее равновесном режиме. Иначе говоря, в более равновесном режиме образование дополнительных межмолекулярных контактов (новых водородных связей) приводило к большему уплотнению надмолекулярной сетки КГПВС в ходе замещения ДМСО на воду.

Когда же криогели формировались в присутствии добавок мочевины, способствовавшей в ДМСО водородному связыванию цепей ПВС и, как результат, повышению упругости образующихся криогелей (рис. 24), то при замене органической среды на воду количество действующих на систему факторов возрастало: с одной стороны, уже обсуждавшееся понижение термодинамического сродства растворителя к полимеру по мере разбавления ДМСО водой индуцировало процесс отбухания надмолекулярной сетки криогеля. С другой стороны, в водной среде, даже не смотря на постепенное разбавление мочевины, «вступали в силу» ее хаотропные свойства, наоборот способствующие дополнительной сольватации цепей ПВС [132], и, как следствие, вызывающие повышение набухаемости полимерной сетки. Таким образом, имела место конкуренция разнонаправленных факторов. При этом, абсолютная величина наблюдаемых в результате эффектов при замещении ДМСО на воду и отмывании мочевины из объема криогелей ПВС зависела от содержания мочевины в исходном растворе ПВС. В частности, объем и масса криогелей, сформированных при 2-молярной концентрации этой добавки (рис. 27б и 28б), убывали в меньшей степени, чем те же показатели для образцов, приготовленных при концентрации мочевины

4 моль/л (рис. 27в и 28в). Причем, различия в значениях V_i/V_0 и m_i/m_0 для криогелей ПВС, экстрагируемых 30- и 90-мл порциями воды, именно в случае криогелей, сформированных при концентрации мочевины 2 моль/л, оказались наиболее выраженными (рис. 27б и 28б). Эти данные свидетельствуют о принципиальном влиянии концентрации мочевины в исходном ДМСО-растворе ПВС на те структурные особенности формируемых криогелей, скорее всего даже и на молекулярном уровне, которые определяют осмотическое поведение криогелей ПВС на макроскопическом уровне при замещении диметилсульфоксида на воду. Несомненно, что выяснение тонких механизмов процессов, «работающих» в ходе такой замены жидкой среды, требует дальнейшего изучения.

В этом контексте, весьма показательны данные об изменении физико-механических характеристик полученных в этой работе криогелей ПВС при замещении в них ДМСО на воду (рис. 29).

Прежде всего, сравнение значений E для «первичных» и «вторичных» (7 циклов смены воды) криогелей, полученных без добавок мочевины, показывает, что в результате замещения ДМСО на воду модуль упругости соответствующих образцов возрастал от 2,8 кПа (рис.24) до 23,9 кПа (рис.29), т.е. примерно в 8,5 раз, что являлось следствием уплотнения гелевой матрицы и повышения концентрации ПВС в единице объема при отбухании надмолекулярной полимерной сетки. Характерно, что гидратация действием сменяемых 30-мл порций воды, т.е. в обсуждавшемся выше более равновесном режиме, приводила к примерно в 1,4 раза более упругим образцам криогелей ПВС, чем при использовании 90-мл порций водного экстрагента (рис. 29а). Такой результат хорошо согласуется с данными по сокращению объема (рис. 27а) и массы (рис. 28а) аналогичных криогелей в ходе замещения в них ДМСО на воду, т.е. чем в большей степени при этом сжимался соответствующий образец, тем выше у него оказывался модуль упругости.

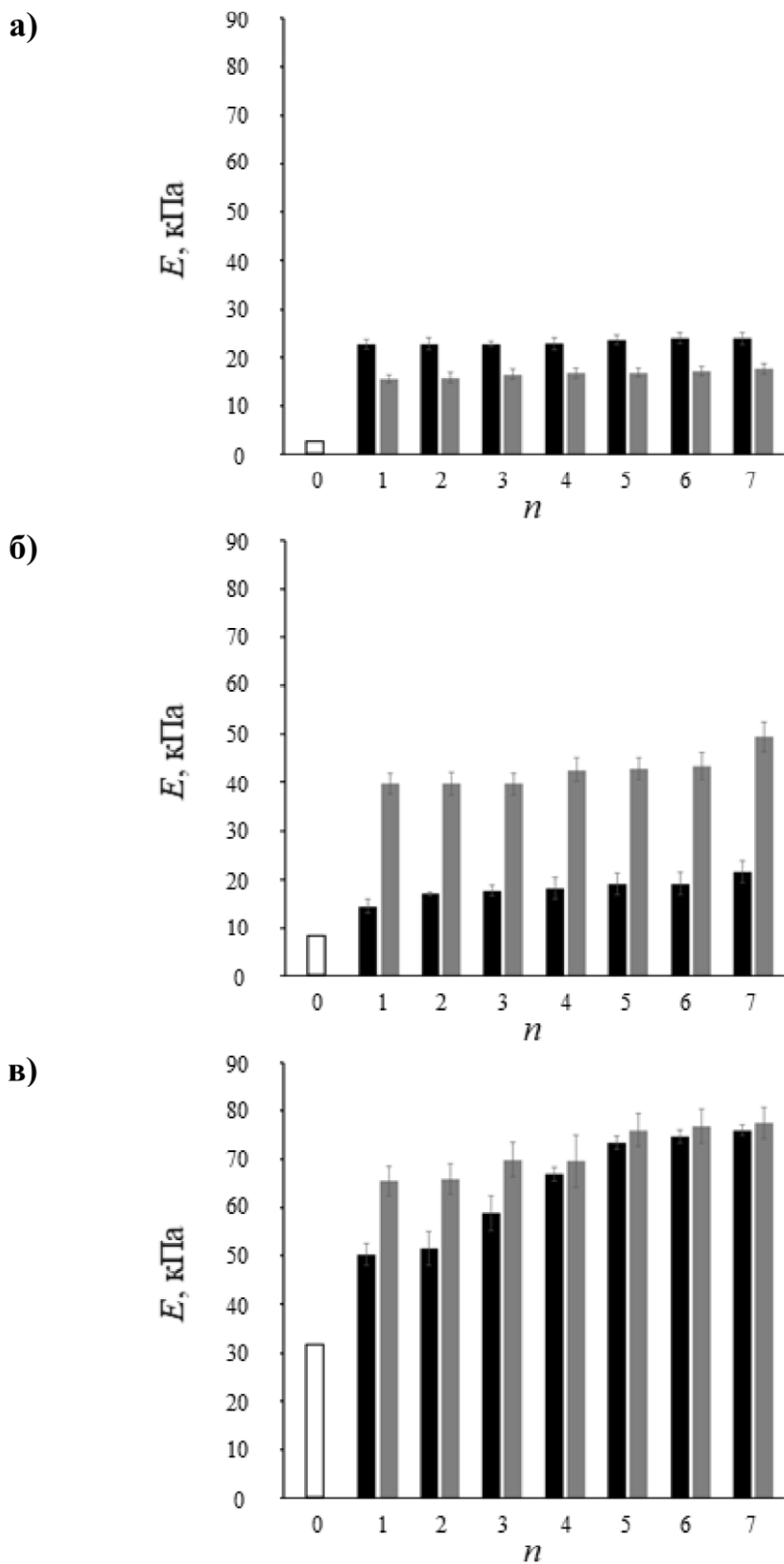


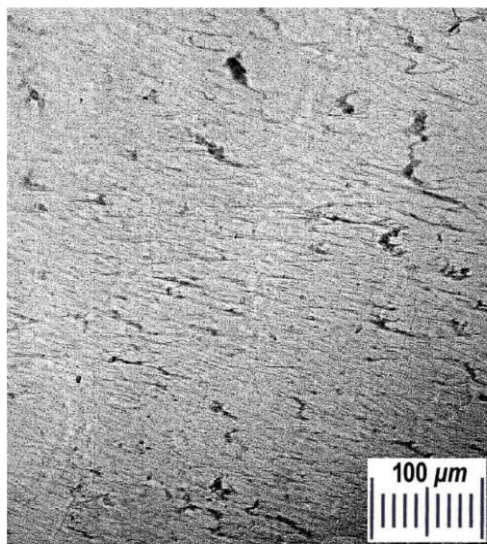
Рисунок 29. Изменение компрессионного модуля Юнга образцов криогелей ПВС, помещенных в различные объемы жидкости для замещения ДМСО на воду (неокрашенный столбик – значение E криогеля до гидратации, черный столбик – объем воды 30 мл, серый столбик – 90 мл; n – число циклов смены воды).

В случае криогелей ПВС, полученных в среде замороженного ДМСО с добавками мочевины, а затем отмытых водой, их жесткость после гидратации также существенно возрастала (рис. 29б,в). При этом, в большей степени этот эффект наблюдался, как и в отношении параметров V_i/V_0 (рис. 27б,в) и m_i/m_0 (рис. 28б,в), когда образцы криогелей ПВС обрабатывались 90-мл порциями экстрагента, т.е. в менее равновесных условиях замещения ДМСО на воду. Особенно явно это имело место в случае криогелей, сформированных при 2-х молярной концентрации мочевины (рис. 29б). В целом, характер изменения осмотических (рис. 27, 28) и физико-механических (рис. 29) свойств криогелей ПВС при гидратации образцов, сформированных из ДМСО-растворов полимера в отсутствие и с добавками мочевины разной концентрации, мог свидетельствовать об определенных различиях не только микроструктуры полимерной фазы таких гетерофазных гелевых матриц, но и их макропористой морфологии. В этой связи нами с помощью оптической микроскопии было проведено изучение тонких срезов соответствующих криогелей.

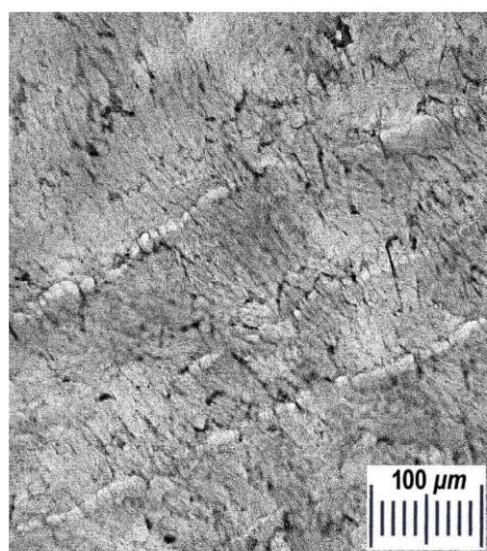
3.1.4. Структурно-морфологические особенности «вторичных» криогелей ПВС

На рисунке 30 приведены изображения микроструктуры образцов «вторичных» криогелей ПВС, формирование которых происходило в среде замороженного ДМСО без добавок мочевины (рис. 30а) и при ее 2-молярной (рис. 30б) или 4-молярной (рис. 30в) концентрации в исходном растворе полимера. На этих микрофотографиях темные области – полимерная фаза, т.е. гелевые стенки макропор, светлые участки – макропоры, заполненные водой.

а)



б)



в)

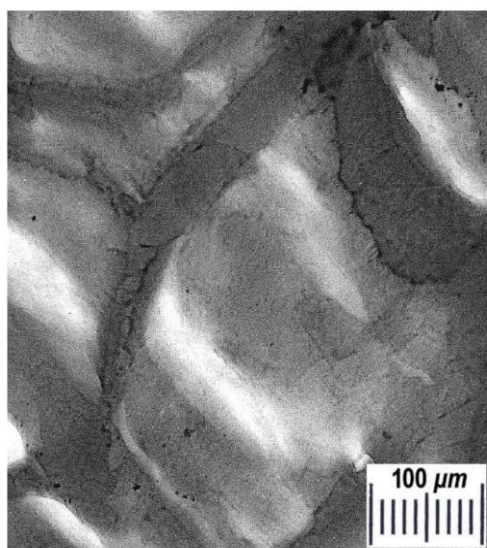


Рисунок 30. Оптические микрофотографии окрашенных Конго красным тонких срезов образцов «вторичных» криогелей ПВС, сформированных в среде замороженного ДМСО без добавок мочевины (а) и при ее концентрации в исходном растворе полимера 2 (б) и 4 (в) моль/л.

Даже на качественном уровне хорошо прослеживаются различия в макропористой морфологии этих образцов. Характер структуры криогелей, полученных без мочевины (рис. 30а) и при 2-молярном содержании этой добавки (рис. 30б), в основном был аналогичен и включал чередующиеся анизометричные поры и их гелевые стенки. Скорее всего, малое (1-3 мкм) поперечное сечение самих пор в этих «вторичных» криогелях ПВС обусловлено сжатием образцов при замещении ДМСО на воду (рис. 27а,б). Практически аналогичная картина наблюдалась ранее для криогелей ПВС без добавок, полученного из ДМСО раствора такого же полимера, но при более высокой (-11.6°C), чем в настоящем исследовании, температуре криогенной обработки [137]. По-видимому, такая макропористая морфология является характерной особенностью подобных криогелей, приготовленных в замороженном ДМСО и затем после оттаивания промытых водой. При исходной концентрации мочевины 2 моль/л макропористая морфология полученного криогеля ПВС претерпела некоторую модификацию (рис. 30б): структурные элементы увеличились, а текстура криогеля стала более неоднородной. В свою очередь, повышение до 4 моль/л содержания мочевины в исходном растворе ПВС кардинальным образом трансформировало морфологию получающегося криогеля с образованием системы очень крупных пор размером от ~50 до ~350 мкм (рис. 30в). Можно предположить, что это эффект является следствием ограниченной растворимости мочевины в ДМСО. Согласно справочным данным [138], при +25 °С предельная концентрация мочевины в такой органической среде составляет 292 г в 1 л раствора, т.е. около 4,9 моль/л. Поэтому замораживание раствора ПВС с 4-молярным содержанием мочевины должно сопровождаться ее частичной кристаллизацией как вследствие ухудшения растворимости при понижении температуры, так и из-за эффектов криоконцентрирования растворенного вещества при вымерзании большей части растворителя. Дальнейшее образование криогеля ПВС вокруг частиц закристаллизовавшейся мочевины, а затем размораживание системы приводят к получению криогеля ПВС с очень крупными порами, а при последующем вымывании водой ДМСО-раствора мочевины из объема криогеля силы

поверхностного натяжения будут округлять форму этих крупных пор. Отсюда следует, что вещества ограниченной растворимости, такие как мочевины при ее 4-молярной концентрации в ДМСО-растворе ПВС, в ходе криотропного гелеобразования этого полимера в среде данного состава действуют как пороги, дополнительные к поликристаллам замороженного растворителя. Количество и размер крупных пор, сформированных подобным дополнительным порообразователем в объеме криогелей ПВС, конечно будет определяться химической природой вещества, его концентрацией, растворимостью в зависимости от температуры и режимами проведения стадий замораживания-оттаивания.

3.1.5. Динамика насыщения «вторичных» криогелей ПВС лекарственным веществом и последующего его высвобождения из полимерного носителя

Поскольку различные криогели ПВС в настоящее время рассматриваются как очень перспективные материалы биомедицинского назначения, например, при их применении в качестве носителей для систем доставки лекарственных веществ, то в этом аспекте представлялось целесообразным оценить функциональные возможности полученных «вторичных» криогелей ПВС, приобретающих повышенную жесткость после экстракции водой «первичных» криогелей. Для этой цели как модель лекарственного вещества была использована водорастворимая натриевая соль ибупрофена (Na-ИБПФ), концентрацию которой в растворах легко определять фотометрически.

Кинетические кривые рисунка 31 отображают характер изменения концентрации Na-ИБПФ в растворе, контактирующем с образцами «вторичных» криогелей ПВС в ходе их насыщения этим лекарством. Во всех случаях концентрация Na-ИБПФ примерно через сутки переставала изменяться, т.е. достигалось примерное равновесие в содержании этого вещества в соответствующем образце криогеля и окружающем его растворе. При этом, больше всего Na-ИБПФ поглощалось вторичными криогелями сформированными из

ДМСО-раствора ПВС без добавок мочевины и затем отмытыми водой (1, рис. 31), а в наименьшей степени – образцами «вторичных» криогелей ПВС, полученных из растворов полимера с 2-молярной концентрацией мочевины (2, рис. 31). В свою очередь, «вторичные» криогели, для формирования которых использовался ДМСО-раствор ПВС с содержанием мочевины 4 моль/л и которые в результате приобретали принципиально иную макропористую морфологию (рис. 30в), при насыщении раствором Na-ИБПФ поглощали это вещество (3, рис. 31) меньше, чем первые (1, рис. 31) из перечисленных КГПВС, но больше, чем вторые (2, рис. 31). Мы полагаем, что такие различия могут быть обусловлены неодинаковой плотностью собственно гелевой фазы этих гетерофазных криогелей, т.е. стенок их макропор, и разным соотношением объемов полимерной и жидкой фаз у образцов криогелей ПВС, сформированных без добавок мочевины и при ее концентрации в исходном растворе 2 или 4 моль/л.

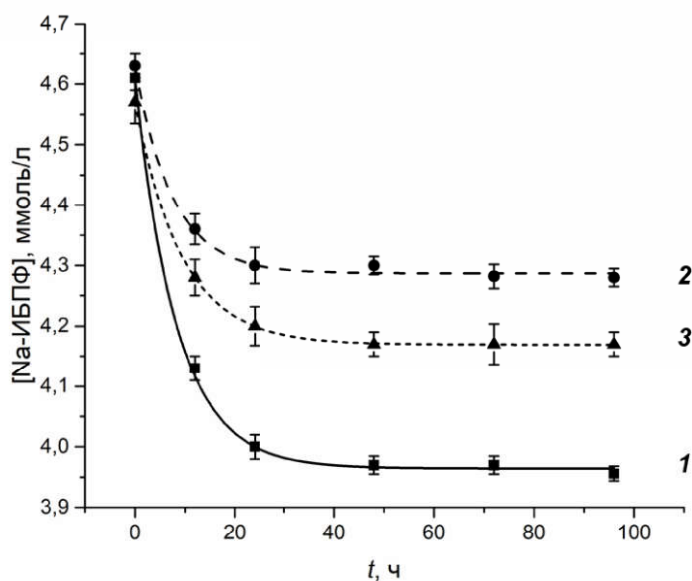


Рисунок 31. Динамика изменения концентрации Na-ИБПФ в жидкой фазе при насыщении лекарственным «вторичных» КГПВС, сформированных в среде замороженного ДМСО без добавок мочевины (кривая 1) и при ее 2- (кривая 2) и 4-молярной (кривая 3) концентрации в исходном растворе полимера.

В этом плане важно было получить ответ на вопрос: будут ли такие неодинаковые «сорбционные» свойства обсуждаемых криогелей отражаться на характере высвобождения (релиза) Na-ИБПФ из нагруженного этим лекарством соответствующего полимерного носителя? И действительно, оказалось, что подобные различия в динамике высвобождения Na-ИБПФ во внешний буферный раствор наблюдаются. Полученные экспериментальные данные были обработаны нами с использованием функции Вейбулла [139]:

$$M_t/M_\infty = 1 - \exp(-a * t^b) \quad (1)$$

где M_t/M_∞ – доля растворенного вещества, выделившаяся из матрицы за время t ; параметры a и b являются константами, численные значения которых были определены с помощью программы ORIGIN PRO внесением в нее формулы (1) и экспериментальных данных. Уравнение Вейбулла является известным инструментом для анализа особенностей высвобождения лекарственных веществ из различных полимерных матриц [140], а полученные в результате такой обработки кинетические кривые для объектов нашего исследования приведены на рисунке 32.

Этот график показывает, что наблюдалась положительная корреляция в кинетике насыщения образцов криогелей ПВС и высвобождения Na-ИБПФ из них. Быстрее всего оба процесса протекали в случае криогелей, сформированных без добавок мочевины (кривые 1, рис. 31 и 32), несколько медленнее это происходило в случае гелевых образцов, полученных в присутствии мочевины в концентрации 4 моль/л (кривые 3, рис. 31 и 32), и еще медленнее для криогелей ПВС, сформированных с 2-молярной добавкой мочевины (кривые 2, рис. 31 и 32). Поскольку наблюдавшиеся кинетические различия при насыщении таких «вторичных» криогелей раствором Na-ИБПФ (рис. 7) были, как отмечалось выше, скорее всего обусловлены существенной разницей в микроструктуре данных гелевых матриц, то эти же факторы должны были влиять и на кинетику

высвобождения лекарственного вещества из соответствующим полимерных носителей.

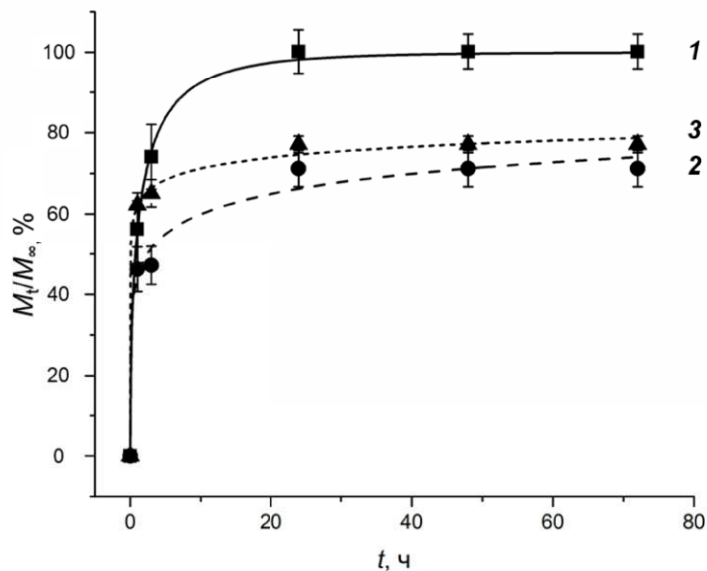


Рисунок 32. Экспоненциальные кривые (с применением уравнения Вейбулла) кинетических профилей высвобождения Na-ИБПФ из насыщенным лекарственным веществом «вторичных» криогелей ПВС, сформированных в среде замороженного ДМСО без добавок мочевины (кривая 1; $b = 0,50$) и при ее 2- (кривая 2; $b = 0,21$) и 4-молярной (кривая 3 $b = 0,11$) концентрации в исходном растворе полимера.

В этой связи, определенную информацию дает анализ величин параметра b уравнения Вейбулла, значения которых для исследованных нами объектов приведены в подписи к рисунку 32. Как известно [140], данный параметр связан с микроструктурой носителя. В частности, когда $b < 0,35$, то это свидетельствует о диффузии растворенного вещества в пространстве сильно неупорядоченной матрицы. Когда же значения параметра b находятся в пределах от 0,39 до 0,69, то считается, что диффузия протекает во фрактальном или неупорядоченном пространстве, значения параметра b выше 0.7 свидетельствуют о механизме фактически свободной диффузии растворенного вещества из объема носителя.

Кроме того, параметр b отражает не только структурные особенности матрицы, но он чувствителен и к взаимодействию диффузанта собственно с полимерным веществом носителя. Например, в работе [141] была показана связь значений b с гидрофобными взаимодействиями между карбоцепным каркасом ПВС в объеме криогеля на его основе и высвобождающихся из такого носителя аминокислот общей формулы $H_2N-(CH_2)_n-COOH$, когда с возрастанием числа метиленовых групп в таких молекулах, а значит и повышением их гидрофобности, значения параметра b снижались. В свою очередь, в рассматриваемом в настоящем исследовании случае высвобождения Na-ИБПФ из серии «вторичных» криогелей ПВС параметр b имел низкие (0.11-0.50) значения (см. подписи к рис. 32), не смотря на макропористую морфологию таких носителей (рис. 30), размер пор в которых на несколько порядков превышал гидродинамический диаметр молекул лекарственного вещества, т.е. архитектура матрицы не могла стерически как-то препятствовать его свободной диффузии. Вместе с тем, хорошо известен механизм образования сильно поляризованных водородных связей между гидроксильными и карбоксилатными группами соответствующих веществ в водных средах [142]. Отсюда следует, что именно такое, причем обратимое, водородное связывание ионизированной карбоксильной группы соли ибупрофена и OH-функций макромолекул ПВС являлось причиной замедления высвобождения Na-ИБПФ из матрицы «вторичных» криогелей ПВС. Различия же в кинетике высвобождения лекарства (рис. 32) между носителями, сформированными без добавок мочевины и в ее присутствии, скорее всего, были, как и при нагружении таких же криогелей солью ибупрофена (рис. 31), обусловлены уже неодинаковой микроструктурой полимерной фазы стенок их макропор, тем самым влияющей на эффективность протекания обсуждаемых процессов водородного связывания. Вполне очевидно, что тонкие механизмы такого влияния еще предстоит выяснить.

3.2. Композитные криогели ПВС/ПОМК, полученные в среде ДМСО

Если в исходной жидкой системе помимо растворенного ПВС присутствуют дисперсные наполнители (как органической, так и неорганической природы) или компоненты, способные перейти в дискретную фазу, включенную в объем непрерывной фазы, то криотропное гелеобразование приводит к получению гетерофазных композитных (наполненных) криогелей. В качестве второго полимера в данной работе была использована поли-3-оксимасляная кислота. Этот биополимер микробиологического происхождения имеет ряд преимуществ перед другими полиэфирами: экологически чистые условия получения ПОМК, биосовместимость в организмах млекопитающих, биоразлагаемость биополимера до образования нетоксичных метаболитов, хорошие механические свойства материалов на основе ПОМК и др. [143-145]. Например, при имплантации тканевая реакция на присутствие образцов, содержащих ПОМК, слабая или умеренная, тогда как на имплантированные материалы из синтетических полиэфиров, такие как полимолочная кислота, полигликолевая кислота, часто наблюдается выраженный хронический воспалительный эффект [143, 144]. Другой причиной выбора именно ПОМК является возможность получения растворов данного полимера в ДМСО [146], что делает возможным получение композитных криогелей на основе ПВС/ПОМК из общего растворителя. ПОМК не растворима в воде [146], а значит, если провести процедуру замены органического растворителя на воду, как это было сделано с образцами криогелей ПВС, сформированных в среде ДМСО с добавками мочевины, то ПОМК начнет коагулировать и таким образом перейдет в дискретную фазу, включаемую в объем криогеля ПВС.

3.2.1. Дифференциально-сканирующая калориметрия растворов используемых полимеров в ДМСО

Для определения температур фазовых переходов растворов ПВС и ПОМК₃₀ (ММ = 30 кДа) в ДМСО при их замораживании был использован метод дифференциально-сканирующей калориметрии (рис. 33). Так, раствор ПВС в ДМСО при концентрации полимера 10 г/дл замерзал при -3,25 °С, раствор ПОМК₃₀

в ДМСО аналогичной концентрации замерзал при положительной температуре, а именно 2,11 °С. В свою очередь раствор ПВС и ПОМК₃₀ с концентрацией каждого полимера 10 г/дл (суммарная концентрация 20 г/дл) в ДМСО замерзал при -14,9 °С. Таким образом ДМСО во всех растворах кристаллизовался при используемом в эксперименте температурном режиме криотропного гелеобразования.

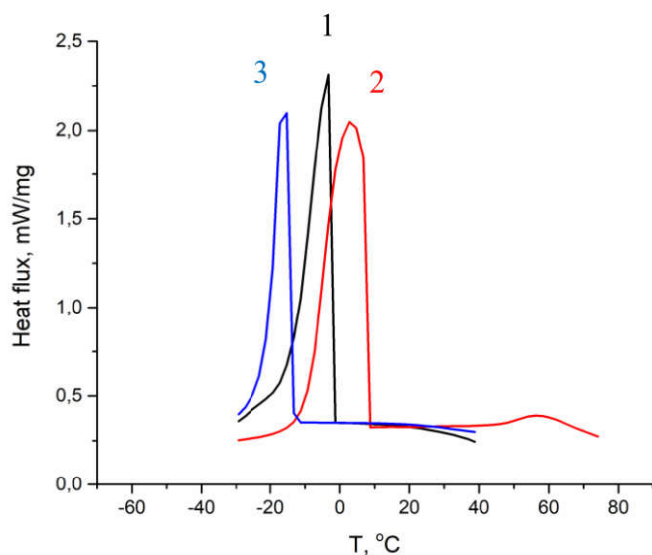


Рисунок 33. Термограммы растворов полимеров ($C = 10\text{г/дл}$) в ДМСО. 1 - раствор ПВС, 2 - раствор ПОМК, 3- раствор ПВС/ПОМК.

3.2.2. Изменение свойств композитных криогелей ПВС/ПОМК, полученных в среде ДМСО, в процессе замены органического растворителя на воду

Как и в случае с мочевиной полученные образцы криогелей ПВС/ПОМК₃₀ подвергали замещению органической среды на воду путем инкубации образцов «первичных» комплексных криогелей в избытке водного экстрагента с периодической его заменой на свежую порцию. Это приводило к трансформации «первичных» комплексных криогелей ПВС/ ПОМК₃₀ во «вторичные» композитные криогели ПВС\ ПОМК₃₀.

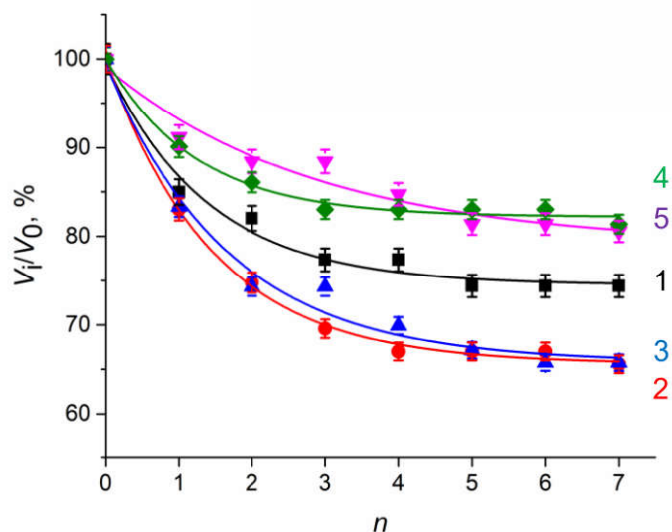


Рисунок 34. Относительное изменение объема цилиндрических образцов криогелей ПВС/ПОМК при замещении ДМСО на воду. 1 – ПВС 10 г/дл, 2 – ПВС 15 г/дл, 3 – ПВС 20 г/дл, 4 – ПВС 10 г/дл + ПОМК₃₀ 5 г/дл ($\Sigma C=15$ г/дл), 5 – ПВС 10 г/дл + ПОМК₃₀ 10 г/дл ($\Sigma C=20$ г/дл). n – число циклов смены воды.

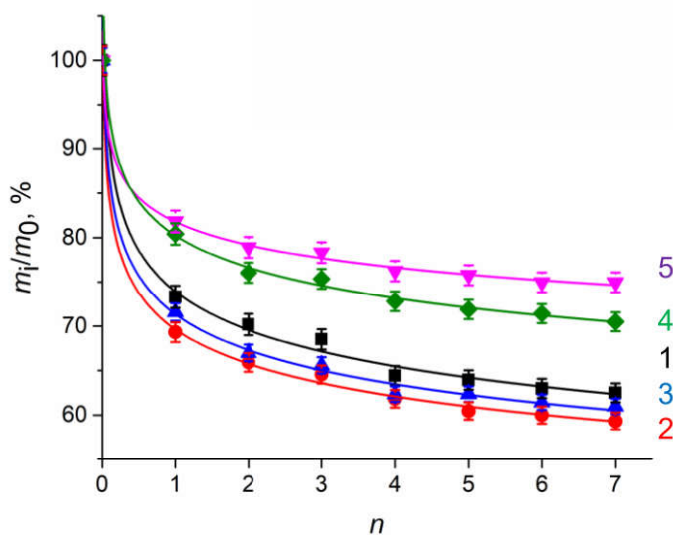


Рисунок 35. Относительное изменение массы цилиндрических образцов криогелей ПВС/ПОМК при замещении ДМСО на воду. 1 – ПВС 10 г/дл, 2 – ПВС 15 г/дл, 3 – ПВС 20 г/дл, 4 – ПВС 10 г/дл + ПОМК₃₀ 5 г/дл ($\Sigma C=15$ г/дл), 5 – ПВС 10 г/дл + ПОМК₃₀ 10 г/дл ($\Sigma C=20$ г/дл). n – число циклов смены воды.

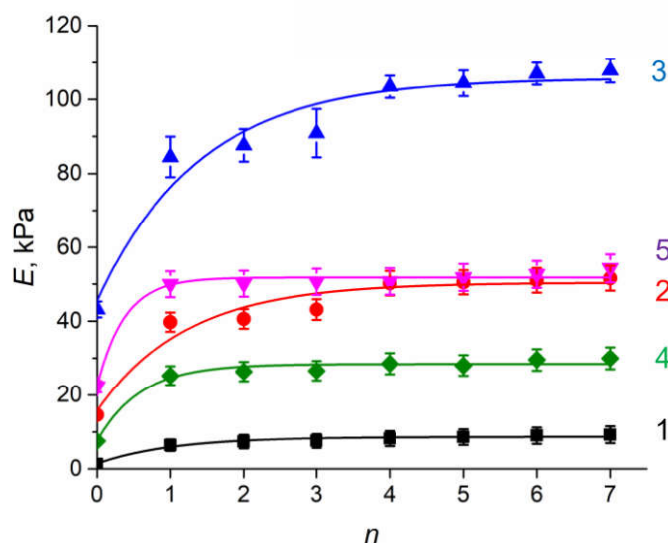


Рисунок 36. Изменение компрессионного модуля Юнга образцов криогелей ПВС/ПОМК при замещении ДМСО на воду. 1 – ПВС 10 г/дл, 2 – ПВС 15 г/дл, 3 – ПВС 20 г/дл, 4 – ПВС 10 г/дл + ПОМК₃₀ 5 г/дл ($\Sigma C=15$ г/дл), 5 – ПВС 10 г/дл + ПОМК₃₀ 10 г/дл ($\Sigma C=20$ г/дл). n – число циклов смены воды.

Для каждого типа криогелей объем (рис. 34), масса (рис. 35) и компрессионный модуль Юнга (рис. 36) были измерены до замены органического растворителя на воду, во время проведения смены растворителя и после нее.

Полученные данные свидетельствуют о том, что повышение концентрации как ПВС, так и ПОМК₃₀, приводило к росту упругости соответствующих образцов (рис. 36). Эта тенденция хорошо известна по влиянию концентрации гелеобразующего полимера на физико-механические свойства ненаполненных криогелей ПВС.

Исходные концентрации полимеров в растворе были подобраны так, чтобы оценить влияние суммарной концентрации полимеров ($\Sigma C=15$ г/дл и $\Sigma C=20$ г/дл) на упругость полученных образцов. Таким образом, наибольший вклад в повышение упругости образцов вносит именно ПВС, однако значения модуля Юнга образцов, содержащих ПОМК₃₀, также повышаются в зависимости от концентрации ПОМК₃₀ по сравнению с образцами без него при равной

концентрации ПВС. При этом образцы без добавок ПОМК₃₀, но сформированные из растворов с большей концентрацией ПВС (15 г/дл и 20 г/дл), обладают более высокой жесткостью по сравнению с образцами, в которых суммарная концентрация обоих полимеров равна 15 г/дл и 20 г/дл. Это происходит из-за того, что наибольший вклад в повышение упругости криогелей вносит именно ПВС, поскольку чем выше его концентрация в исходном растворе, тем больше образуется межмолекулярных водородных связей и число кристаллических структур с большей стабильностью, что является превалирующим фактором. В то время как повышение концентрации ПОМК в исходном растворе ведет к образованию дисперсных частиц, выступающих в роли активного наполнителя, в процессе замены органического растворителя на воду.

Значения массы и объема образцов при замене растворителя на воду понижались во всех случаях (рис. 34 и рис. 35). При этом наименьшим изменениям подвержены образцы, содержащие ПОМК₃₀, и чем выше была концентрация ПОМК₃₀ в исходных растворах, тем меньше образец подвержен «усадке».

При изучении изменения физико-механических характеристик в динамике, то есть при каждой смене воды в сосудах с образцами, можно отследить момент, когда происходят наиболее значимые изменения в характеристиках образцов. В данном случае они происходят на следующий день после начала процесса, это можно объяснить тем, что наибольшее количество растворителя в образцах заменяется на воду как раз в первые сутки. При последующих сменах изменения не такие интенсивные и значения характеристик начинают выходить на плато.

После исчерпывающей промывки водой было определено, что количество ПОМК₃₀ в образцах составляет $95,4 \pm 1,9\%$ от его количества в исходном растворе перед формированием Криогелей. Более того, его масса по отношению к массе образца после замены органического растворителя на воду повышается (таблица 4).

Таблица 4. Отношение массы ПОМК₃₀ к массе образца композитного криогеля ПВС.

	[ПОМК ₃₀] = 8 г/дл	[ПОМК ₃₀] = 6 г/дл	[ПОМК ₃₀] = 4 г/дл
Масса ПОМК ₃₀ (г) на 1 г образца до замены ДМСО на воду	0,063±0,001	0,048±0,001	0,032±0,001
Масса ПОМК ₃₀ (г) на 1 г образца после замены ДМСО на воду	0,082±0,004	0,068±0,003	0,047±0,002

Как указывалось выше, ПОМК₃₀ не растворим в воде, поэтому до замены органического растворителя на воду данный полимер растворен в ДМСО в порах образца криогеля ПВС, однако в процессе замены растворителя ПОМК₃₀ начинает коагулировать, что приводит к образованию им новой фазы. Этим можно объяснить влияние ПОМК₃₀ на изменение физико-механических характеристик образцов, в частности на повышение модуля упругости.

3.2.3. Влияние молекулярной массы ПОМК на свойства композитных криогелей ПВС

В предыдущем разделе было описано влияние ПОМК₃₀ с ММ = 30 кДа на свойства композитных криогелей ПВС. Для более четкого понимания влияния ПОМК на свойства наполненных криогелей ПВС была также использована поли-3-оксимасляная кислота с ММ = 300 кДа (ПОМК₃₀₀). Для образцов композитных криогелей, сформированных в присутствии ПОМК₃₀₀ с той же концентрацией, что и ПОМК₃₀, были измерены объем (рис. 36), масса (рис.37) и модуль упругости (рис. 38) полученных композитных криогелей.

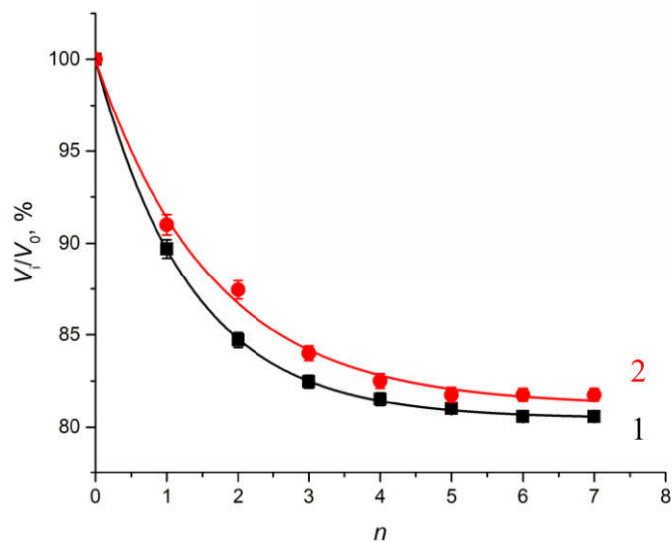


Рисунок 37. Относительное изменение объема цилиндрических образцов криогелей ПВС/ПОМК при замещении ДМСО на воду. 1 - ПОМК₃₀, 2 - ПОМК₃₀₀.
 n – число циклов смены воды.

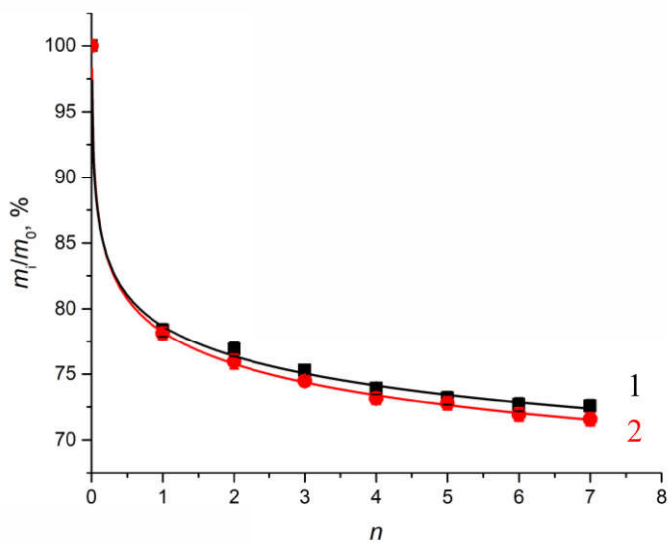


Рисунок 38. Относительное изменение массы цилиндрических образцов криогелей ПВС/ПОМК при замещении ДМСО на воду. 1 - ПОМК₃₀, 2 - ПОМК₃₀₀.
 n – число циклов смены воды.

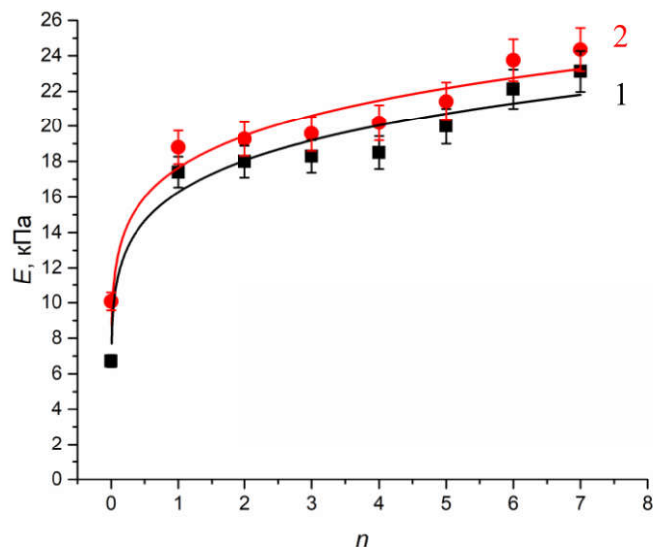


Рисунок 39. Изменение компрессионного модуля Юнга образцов криогелей ПВХ/ПОМК при замещении ДМСО на воду. 1 - ПОМК₃₀, 2 - ПОМК₃₀₀.

n – число циклов смены воды.

Из полученных данных следует, что молекулярная масса ПОМК в диапазоне 30 – 300 кДа практически не влияет на изменение объема (рис. 37) и массы (рис. 38) образцов композитных криогелей ПВХ/ПОМК в процессе замены органического растворителя на воду. Существенной разницы в абсолютных значениях модулей упругости образцов (рис. 39), содержащие ПОМК₃₀ и ПОМК₃₀₀, также не наблюдается.

В целях лучшего понимания влияния поли-3-оксимаслянной кислоты на характеристики композитных образцов было важно выявить характер распределения ПОМК внутри матрицы криогелей, т.е. получить информацию об основной микроструктуре композиционных криогелей, являющихся предметом настоящего исследования.

3.2.4. Структурная морфология композитных криогелей ПВХ/ПОМК

Оптически-микроскопические исследования проводили на образцах криогелей промытых водой. Необходимость работы с «вторичными», «водными»

криогелями была описана ранее, однако в данном случае, ко всему сказанному ранее, добавляется еще один фактор – это необходимость рассмотрения именно фазы, образуемой ПОМК в процессе смены растворителя.

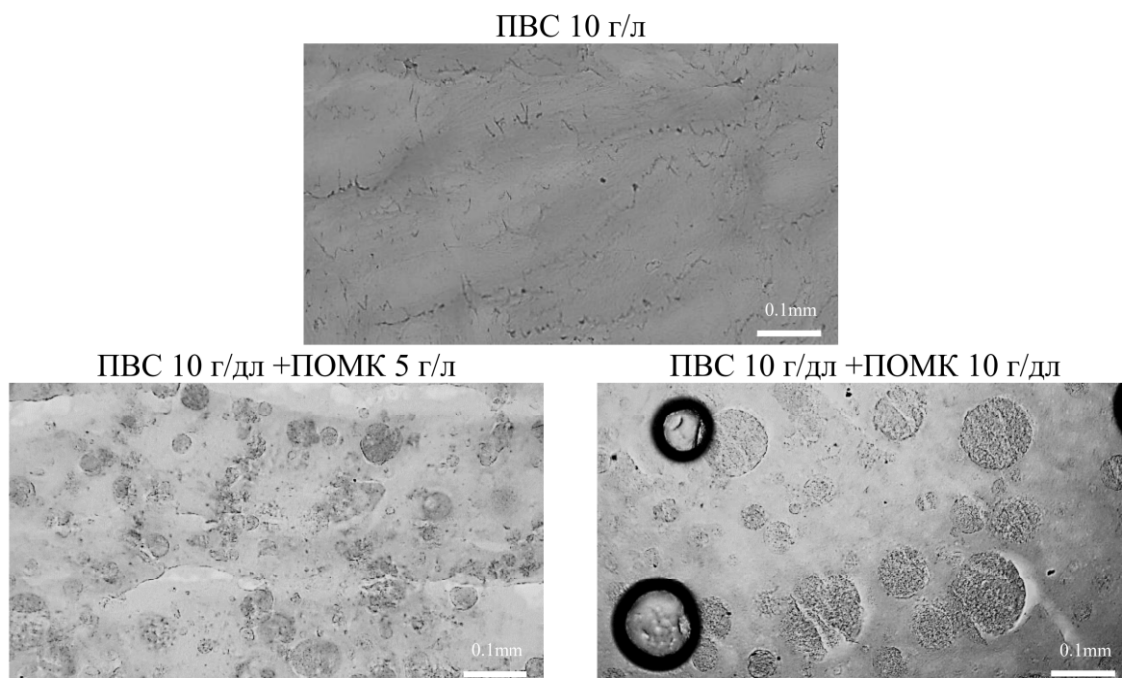


Рисунок 40. Микрофотографии тонких поперечных срезов образцов.

При рассмотрении микрофотографий тонких срезов (рис. 40) полученных образцов композитных криогелей ПВС/ПОМК установлено, что при замене ДМСО на воду ПОМК коагулирует с образованием частиц близких к сферической форме, но также присутствуют и бесформенные частицы. Все частицы ПОМК хаотично распределены по объему геля и обладают разными размерами. Некоторые темные круги на этих изображениях представляют собой небольшие пузырьки воздуха (т. е. артефакты), которые, очевидно, содержались в «фиксирующей среде», используемой для закрепления соответствующего тонкого среза на предметном стекле. Для лучшего понимания формы и характера распределения частиц ПОМК в матрице криогеля, образцы были также исследованы с помощью сканирующей электронной микроскопии (рис. 41).

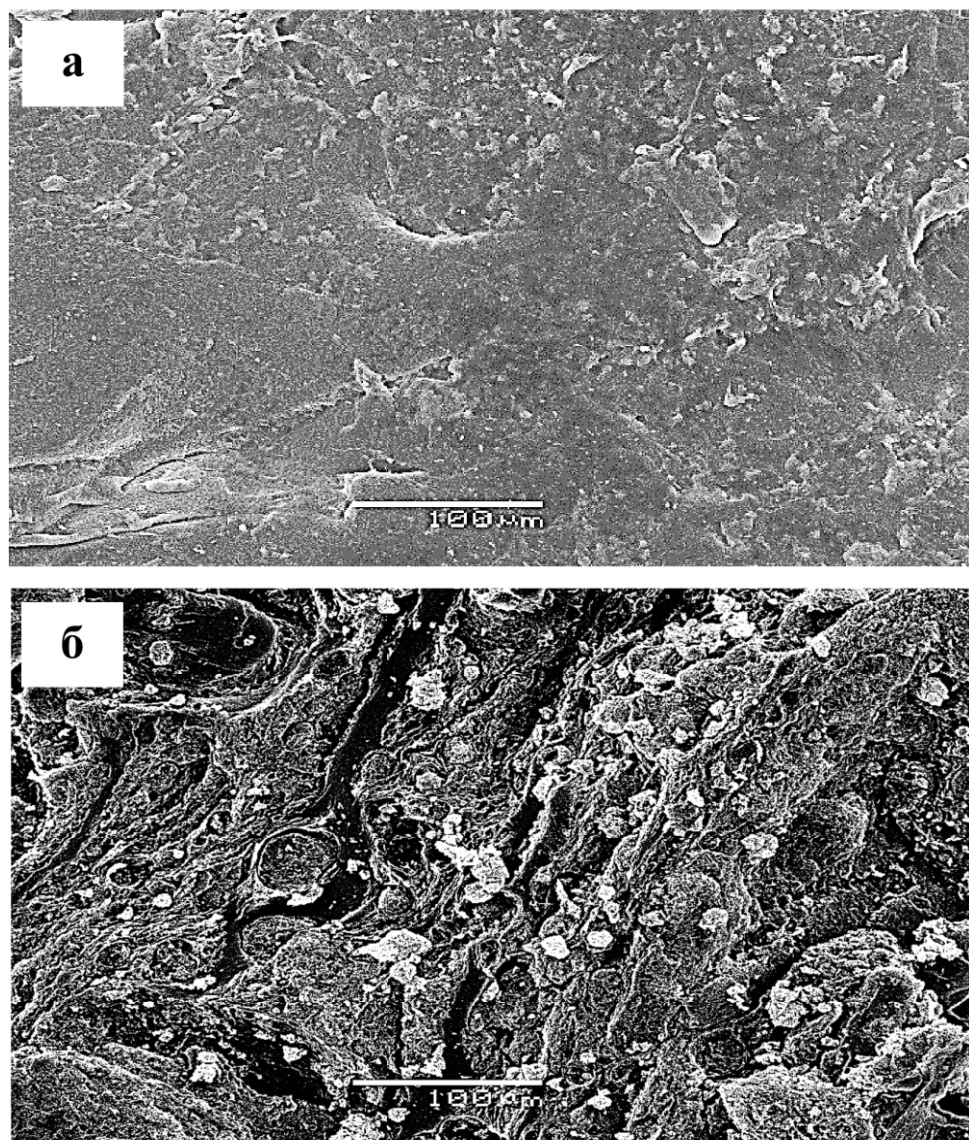


Рисунок 41. Микрофотографии СЭМ сколов образцов. а – ПВХ 10 г/дл, б - ПВХ 10 г/дл +ПОМК 10 г/дл.

Было найдено (рис. 41), что частицы ПОМК принимают около «сферическую» форму. Образованные ПОМК при коагуляции частицы выступают в качестве армирующих компонентов, в свою очередь это означает, что после промывки водой ПОМК становится активным дисперсным наполнителем, способным повышать упругость полимерных материалов, что показано на рис. 36. Этот эффект обусловлен более высокой жесткостью дискретной фазы по сравнению с непрерывной фазой, а также эффект обеспечивается хорошей совместимостью этих двух фаз.

3.2.5. Введение натриевой соли ибупрофена в состав композитных криогелей ПВС/ПОМК и кинетика высвобождения лекарственного вещества

Насыщение образцов натриевой солью ибупрофена проводили по методике, описанной в разделе 2.3.12. Во всех случаях через сутки достигалось примерное равновесие в содержании ЛВ в соответствующем образце криогеля и окружающем его растворе. Количество Na-ИБПФ, включенного гелевой матрицей, определяли путем измерения поглощения растворов Na-ИБПФ, в которых насыщали образцы. После, зная исходную концентрацию растворов и их концентрацию после насыщения образцов, можно определить количество Na-ИБПФ, находящегося в образцах. Больше всего Na-ИБПФ поглощалось композитными криогелями ПВС, что, скорее всего, происходило из-за адсорбции ЛВ частицами ПОМК.

Для анализа кинетики высвобождения Na-ИБПФ из образцов использовали функцию Вейбулла (1).

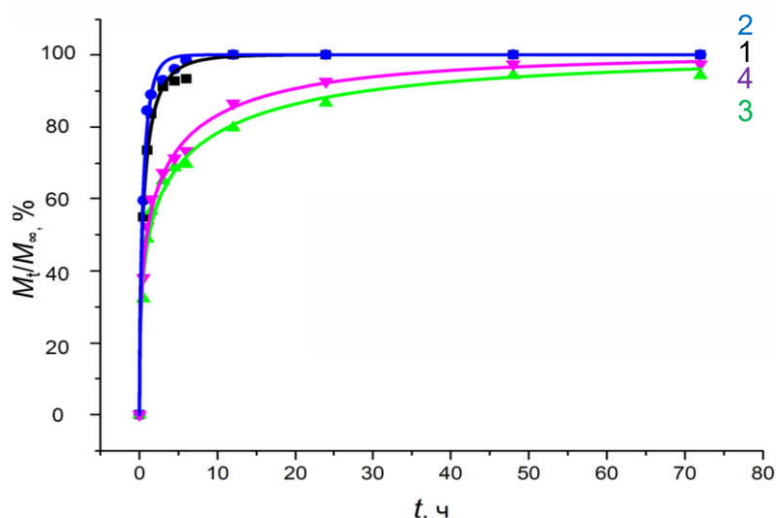


Рисунок 42. Экспоненциальные кривые (с применением уравнения Вейбулла) кинетических профилей высвобождения Na-ИБПФ из насыщенным лекарственным веществом криогелей ПВС. 1 - ПВС 10 г/дл, 2 - ПВС 20 г/дл в ДМСО, 3 - ПВС 10 г/дл + ПОБ 5 г/дл в ДМСО, 4 - ПВС 10 г/дл + ПОБ 10 г/дл в ДМСО.

На рисунке 42 приведены кривые высвобождения Na-ИБПФ из образцов криогелей. Наиболее быстро релиз происходил из криогелей не содержащих ПОМК, это можно объяснить тем, что в образцах без ПОМК лекарственное вещество просто находится в порах, в то время, как в композитных криогелях происходит сорбционное связывание Na-ИБПФ частицами ПОМК, что тормозит процесс высвобождения. Если обращаться к дескриптору b (таблица 5), то помимо описания структуры матрицы его значение может говорить о наличии взаимодействий между гелевой матрицей и высвобождающимся агентом. Так, чем выше значение b , тем взаимодействие меньше. Для системы №2 $b=0,742$, что соответствует евклидовой структуре матрицы, это в свою очередь объясняет высокую скорость релиза, а также свидетельствует о наименьшем взаимодействии между ибупрофеном и стенками пор, то есть матрица не оказывает заметного влияния на процесс диффузии, к тому же в данный образец было введено наименьшее количество соли ибупрофена. Для системы №3 $b=0,380$, что говорит о фрактально кластерной структуре, а также о наличии взаимодействия между лекарственным веществом и матрицей носителя, т.е. с частицами ПОМК. Для системы №4 b находится в диапазоне от 0,39 до 0,69, а значит, что диффузия протекает во фрактальном или неупорядоченном субстрате. При этом, для систем, содержащих частицы ПОМК (№4) значение дескриптора b меньше, чем для систем без него (№1), а значит сродство матрицы к Na-ИБПФ выше.

Таблица 5. Значения коэффициентов функции Вейбулла.

№	Исходная система при формировании	R^2	b
1	ПВС 10 г/дл в ДМСО	0.995	0.576
2	ПВС 20 г/дл в ДМСО	0.993	0.742
3	ПВС 10 г/дл + ПОБ 5 г/дл в ДМСО	0.989	0.380
4	ПВС 10 г/дл + ПОБ 10 г/дл в ДМСО	0.995	0.410

3.3. Композитные криогели ПВС, содержащие дисперсные частицы ПОМК

Помимо композитных криогелей ПВС/ПОМК, полученных в среде ДМСО, при коагуляции ПОМК в процессе замены органического растворителя на воду можно получить композитные криогели ПВС, содержащие дисперсные частицы ПОМК, введенные в матрицу криогеля путем создания суспензии заранее сформированных сферических частиц ПОМК (рис. 43) в водном растворе ПВС.



Рисунок 43. Микрофотографии оптической микроскопии сухих сферических частиц на основе ПОМК, приготовленных, как описано в разделе 2.3.1.

3.3.1. Влияние микросфер ПОМК на физико-механические характеристики композитных криогелей ПВС

При исследовании влияния микросфер поли-3-оксимасляной кислоты на свойства композитных криогелей ПВС было выявлено их усиливающее воздействие на механические свойства гелевых материалов, т.е. наблюдалось повышение упругости композитов по сравнению с ненаполненными криогелями ПВС (рис. 44). Более того, повышение концентрации наполнителя способствовало еще большему росту модуля Юнга наполненных образцов.

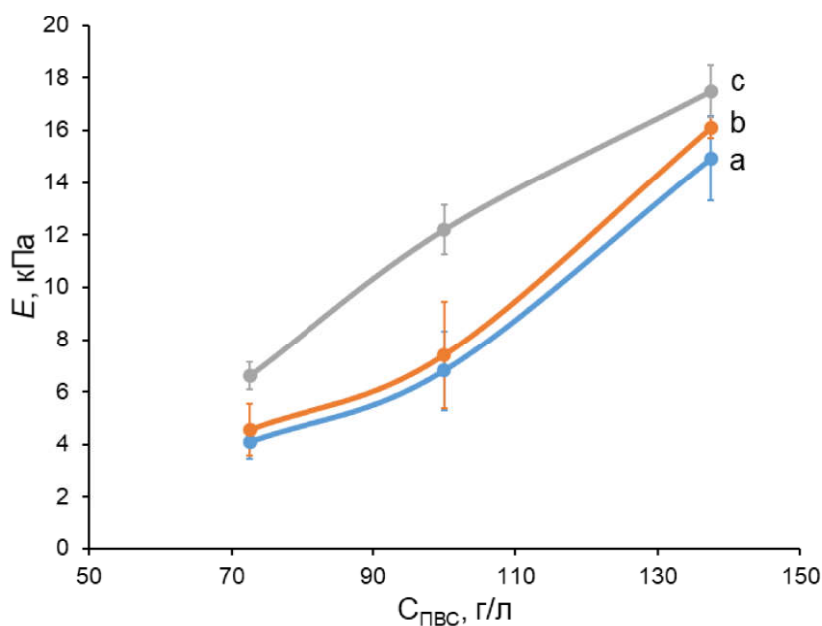


Рисунок 44. Зависимость значений модулей упругости от концентрации ПВС в исходном растворе. Кривая а соответствует криогелю ПВС без наполнителя, кривая б – композитному криогелю ПВС с концентрацией наполнителя 11.4 г/л, кривая с – композитному криогелю ПВС с концентрацией наполнителя 22.8 г/л.

Рост модуля упругости композитных криогелей ПВС при повышении концентрации наполнителя свидетельствует о том, что такие твердые частицы, как микросферы на основе ПОМК, относятся к так называемым «активным» наполнителям [150], способным повышать жесткость полимерных композитных материалов. Таким образом, полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о том, что включение относительно гидрофобных микросфер ПОМК в матрицу криогелей ПВС не приводит к ухудшению механических свойств полученных композитных криогелей ПВС, как это наблюдалось ранее при использовании гидрофобных наполнителей (частиц полистирола или гидрофобизированных производных кремнезема), которые вводили в объем композитных криогелей ПВС [93]. При этом частицы последних дисперсных наполнителей агломерировали в водной среде, образуя «крупные» бесформенные включения, неравномерно распределенные внутри непрерывной фазы геля. Это явление стало еще одной причиной ухудшения физико-механических свойств таких композитных криогелей. Поэтому в нашем случае важно было также выявить

характер распределения микросфер ПОМК внутри криогелей ПВС, т.е. получить информацию об основной микроструктуре композиционных криогелей, являющихся предметом настоящего исследования.

3.3.2. Структурные особенности композитных криогелей ПВС, наполненных микросферами ПОМК

Структурные особенности композитных криогелей ПВС, наполненных микросферами ПОМК, были исследованы методом оптической микроскопии тонких срезов этих криогелей (рис. 45). Некоторые темные круги на этих изображениях представляют собой небольшие пузырьки воздуха (т. е. артефакты), которые, очевидно, содержались в «фиксирующей среде», используемой для герметизации соответствующего тонкого среза на предметном стекле микроскопа. Кроме того, на микрофотографиях видны вертикальные прозрачные каналообразные структурные элементы; последние представляют собой микротрещины, образующиеся при приготовлении срезов замороженных образцов криогеля с помощью криомикротомы. Основной причиной образования этих артефактов является большая разница в жесткости непрерывной и дискретной фаз внутри этих композитов.

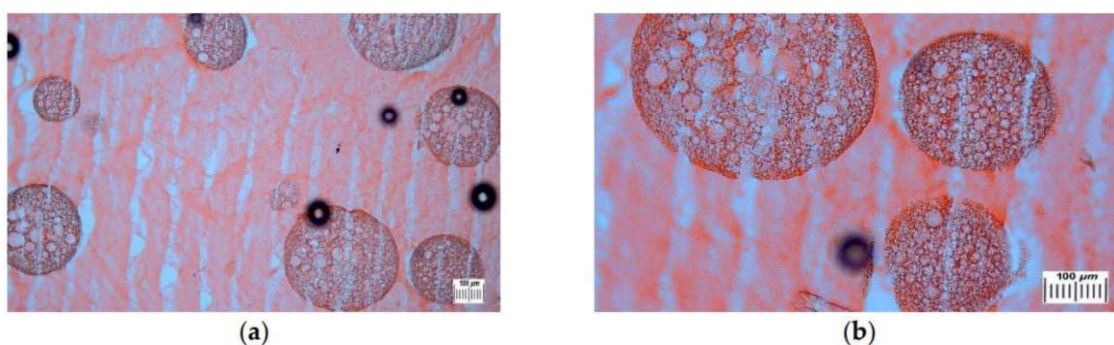


Рисунок 45. Оптические микрофотографии при малом (а) и большем (б) увеличении тонких срезов композитных криогелей ПВС, окрашенных красителем конго красный. Условия формирования: концентрация ПВС – 100 г/л, концентрация микросфер ПОМК – 22,8 г/л.

Тем не менее, хорошо видна морфология микросфер ПОМК (т.е. пористость таких наполнителей) и их распределение (т.е. отсутствие агломерации частиц) внутри объема криогеля ПВС. Последний факт еще раз подтверждает отмеченную выше совместимость непрерывной и дискретной фаз в составе композитных криогелей ПВС, наполненных влажными микросферами на основе поли-3-оксималяной кислоты. Что касается микроструктуры частиц самой этой дискретной фазы, то отчетливо видна высокая ажурная пористость, а диаметр круглых пор находится в довольно широком диапазоне от ~3 до ~45 мкм. Эти значения примерно в два раза выше, чем для сухих частиц (рис. 43); что, скорее всего, свидетельствует об определенной способности относительно гидрофобных пористых микросфер ПОМК несколько набухать в водных средах.

3.3.3. Сравнение микросфер на основе ПОМК с макроскопическими порами и без макроскопических пор

Помимо микросфер ПОМК, обладающих пористостью в макроскопических масштабах (ММП), по описанной в разделе 2.3.1. методике могут быть получены и сферические частицы ПОМК без макроскопических пор (МБМП). Внешний вид обоих типов микросфер в сухом состоянии приведен на рис. 46 (оптические микрофотографии в отраженном свете при одинаковом увеличении) и рис. 47 (СЭМ-изображения).

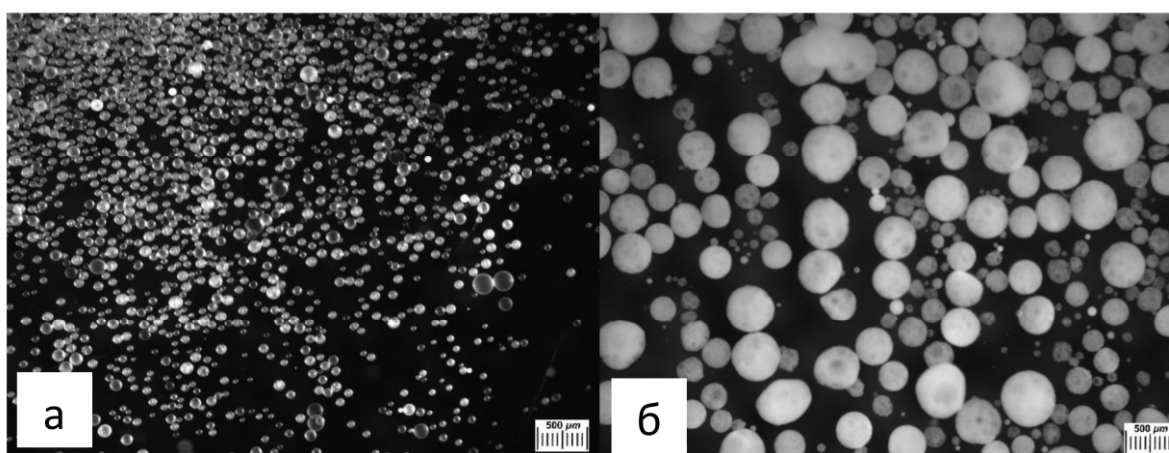


Рисунок 46. Фотографии микросфер ПОМК: МБМП (а) и ММП (б).

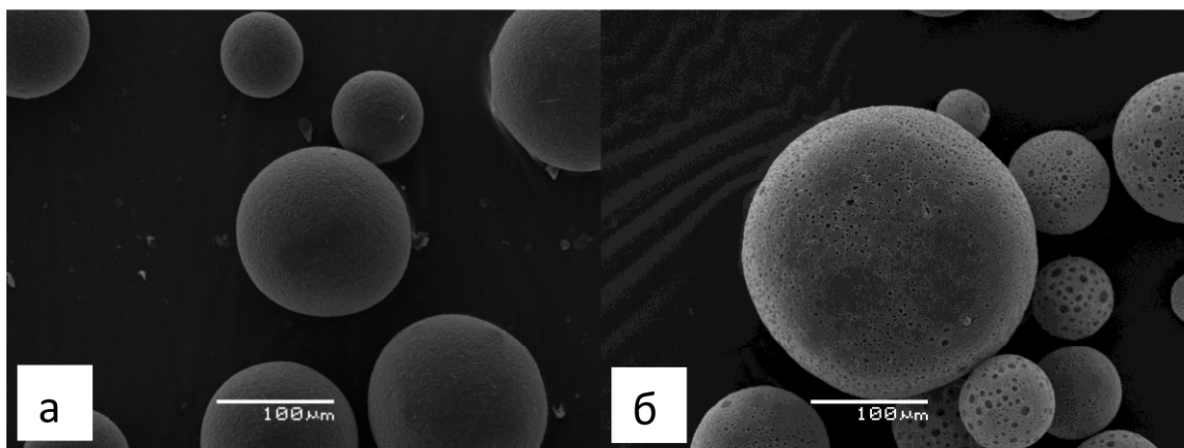


Рисунок 47. Изображения СЭМ микросфер ПОМК: МБМП (а) и ММП (б).

На поверхности ММП (рис. 47.б) можно различить многочисленные округлые полости (поры) диаметром 2–20 мкм. Известно [131], что эти структурные элементы образуются при внедрении мелких капель водной фазы в органическую фазу (раствор ПОМК в хлороформе) при эмульгировании раствора ПОМК/хлороформ в водных растворах карбоната аммония. При этом, если не использовать карбонат аммония, в процессе формирования микросфер получают частицы, которые не содержат макропор (рис. 47.а). Наличие пор в объеме частиц ПОМК увеличивает внутреннюю поверхность микросфер, повышая тем самым их емкость по отношению к сравнительно гидрофобным веществам. В тоже время, отсутствие макропор, помимо уменьшения количества включаемого в микросферы вещества, должно оказывать влияние на кинетику высвобождения веществ из непористых микросфер замедляя скорость релиза.

Сравнение размеров этих дисперсных частиц с помощью оптической микроскопии показало, что МБМП значительно меньше по размеру, чем ММП (рис. 46). Для более детального сравнительного анализа размеров микросфер использовалась функция Гаусса (2).

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2} \quad (2)$$

где параметр μ — математическое ожидание (среднее значение), а параметр σ —среднеквадратическое отклонение.

При обработке изображений на рис. 46 с помощью программы Image J были определены диаметры МБМП и ММП микросфер. На рис. 48 приведено распределение частиц ПОМК по размерам с использованием функции нормального распределения Гаусса (2).

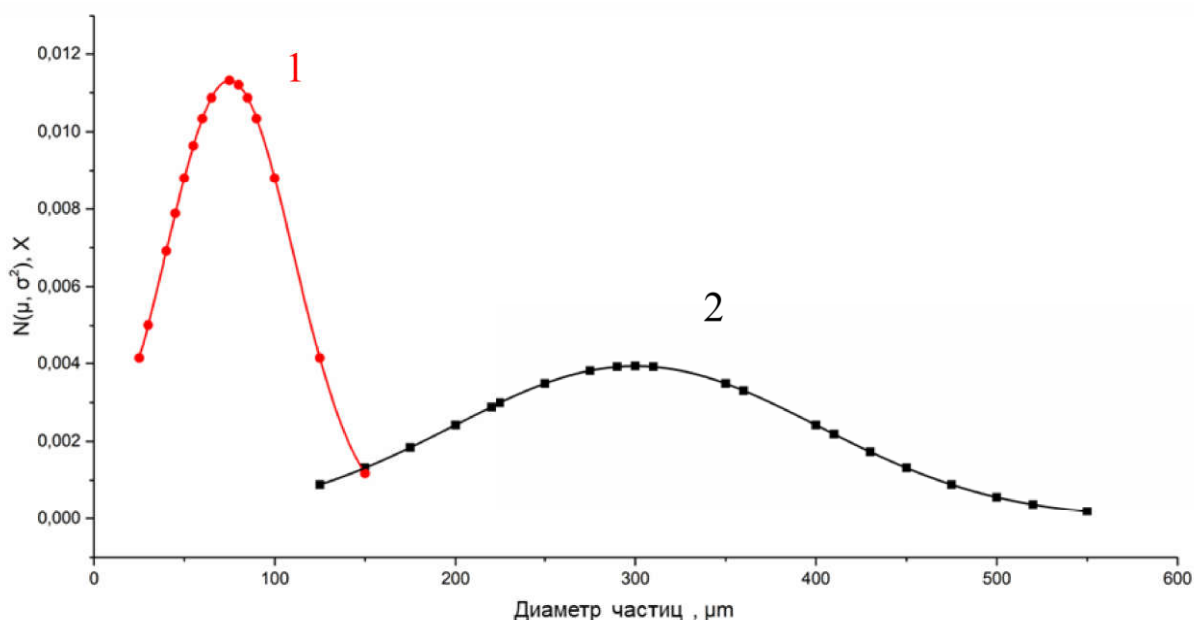


Рисунок 48. Распределение частиц ПОМК по размерам. Кривая 1 соответствует МБМП, кривая 2 – ММП.

Таблица 6. Значения коэффициентов при расчете размеров частиц по функции Гаусса.

	МБМП	ММП
μ	75	299,99
σ	35,26	101,45
R^2	0.99	0.99

Так, средний диаметр (μ) МБМП был 75 мкм, а ММП – 299 мкм. Размеры МБМП лежат в более узком диапазоне, в то время как ММП получают со значительно большим отклонением в размерах. Значения коэффициентов математического ожидания (σ) и среднеквадратичного отклонения (R^2), полученных при использовании функции Гаусса, указаны в таблице 6. Таким

образом можно сделать вывод, что при одинаковой массе сферических частиц ПОМК число микросфер без макроскопических пор будет больше, чем с макроскопическими порами.

3.3.4. Физико-механические характеристики ненаполненных и композитных криогелей ПВС, содержащих ММП и МБМП

При формировании композитных криогелей варьировали концентрации гелеобразующего полимера, т.е. ПВС, а количество частиц на основе ПОМК, включенных в объем криогеля, было одинаковым для всех типов микросфер. Составы соответствующих исходных растворов и суспензий приведены в табл. 7.

Таблица 7. Состав исходных растворов и суспензий, используемых в дальнейшем для приготовления ненаполненных и композитных криогелей ПВС.

Образец	С _{ПВС} , г/л	С _{ПОМК (МБМП)} , г/л	С _{ПОМК (ММП)} , г/л
1	72,6	—	—
1а	72,6	—	11,4
1б	72,6	11,4	—
2	100	—	—
2а	100	—	11,4
2б	100	11,4	—

Известно, что при определенном способе добавления микросфер в исходные растворы ПВС их распределение по объему криогеля после его формирования является равномерным, для этого необходимо использовать невысушенные микросферы.

Для каждого типа криогелей, сформированных из растворов ПВС различной концентрации с добавками как ММП, так и МБМП, был измерен компрессионный модуль упругости (E); полученные результаты приведены на рисунке 49.

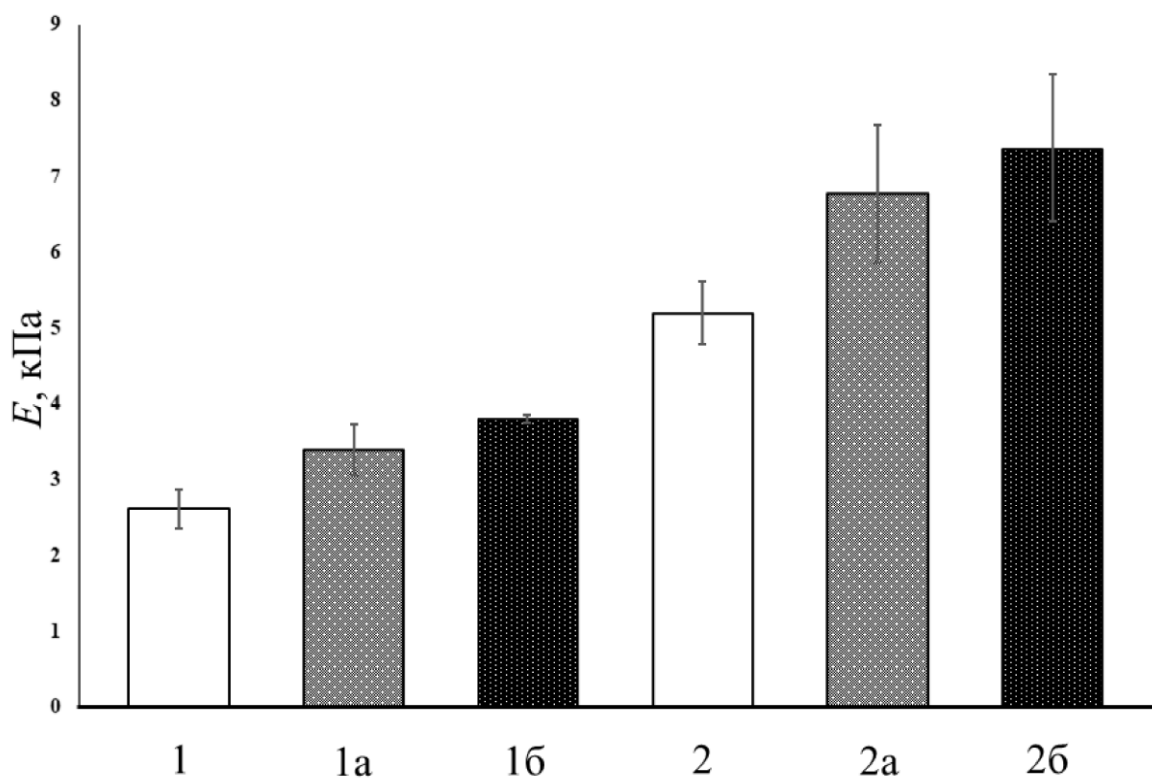


Рисунок 49. Зависимости модуля Юнга образцов от исходного состава систем, приведенных в Таблице 7.

Повышение жесткости образцов обычных (т.е. ненаполненных) криогелей ПВС при возрастании концентрации гелеобразующего полимера хорошо известно [3]. Как отмечалось ранее, такие дисперсные наполнители, как микросферы ПОМК, в рассматриваемом случае действуют как так называемые “активные” наполнители [150], способные повышать прочность полимерных материалов. Этот эффект обусловлен более высокой жесткостью дискретной фазы по сравнению с непрерывной фазой, а также эффект обеспечивается хорошей совместимостью этих двух фаз [151]. Таким образом, данные, полученные в настоящей работе, свидетельствуют о том, что включение относительно гидрофобных микросфер ПОМК в матрицу криогелей ПВС не вызывало ухудшения механических свойств полученных композитных криогелей. Кроме того, использование МБМП оказывало несколько большее влияние на модуль упругости образцов по сравнению с ММП, что, вероятно, объясняется разницей в их размерах и,

соответственно, количестве самих частиц в единице объема криогеля ПВС, что повышает площадь контакта матрицы с дисперсными частицами.

3.3.5. Исследование высвобождения лекарственных веществ из ненаполненных и композитных криогелей ПВС

В качестве лекарственных веществ были выбраны натриевая соль ибупрофена и симвастатин. Данный выбор обусловлен тем, что оба соединения легко детектировать с помощью спектрофотометрии, а также их различием в липофильности, количественной характеристикой, которой может служить коэффициент распределения, представляющий отношение концентраций вещества между двумя растворителями. Если одним из растворителей является вода, а другим – неполярный растворитель, то LogP является мерой липофильности. Так, натриевая соль ибупрофена является достаточно гидрофильным соединением ($\text{LogP} \sim 0.92$), в то время как симвастатин – гидрофобным ($\text{LogP} \sim 4.68$). Исследование высвобождения лекарственных веществ проводилось из образцов, сформированных из исходных систем 2, 2а и 2б (таблица 7).

3.3.5.1. Высвобождение натриевой соли ибупрофена

В отличие от симвастатина, который был загружен в микросферы ПОМК на стадии их образования, натриевую соль ибупрофена загружали в образцы криогелей уже после их формирования, поскольку при введении этого вещества в микросферы в момент их образования оказалось, что лишь малая часть натриевой соли ибупрофена остается в частицах ($\sim 1 - 3\%$ в случае ММП и $\sim 17 - 19\%$ в случае МБМП). Данная «потеря» вещества происходит из-за выделения натриевой соли ибупрофена на различных стадиях образования частиц ПОМК. Полученные образцы композитного криогеля погружали в раствор ЛВ, в котором их выдерживали определенное время. Количество ЛВ, включенного в гелевую матрицу, определяли измерением оптического поглощения жидкости над криогелем. Далее, зная исходную концентрацию растворов, а также концентрацию ЛВ во время и после насыщения образцов, можно определить количество

ибупрофена, находящегося в криогелях (рис. 50). Показано, что количество ЛВ в растворе перестает резко изменяться после примерно 24 часов. Образцы криогелей ПВС объемом ~2.1 мл, сформированные без наполнителя, абсорбировали меньшее количество ЛВ (~0,375 мг) по сравнению с композитными образцами (~0,75 мг натривеой соли ибупрофена для образцов с ММП, и ~1 мг для образцов с МБМП). Такая разница в количестве вещества, включаемого в матрицу композитного криогеля и ненаполненного криогеля ПВС, объясняется наличием микросфер на основе ПОМК, который абсорбирует ЛВ, а разница между композитными криогеля с ММП и МБМП объясняется большей площадью поверхности МБМП. Поскольку непористых микросфер больше на единицу объема композита, то и площадь взаимодействия тоже больше, что позволяет связать большее количество ЛВ.

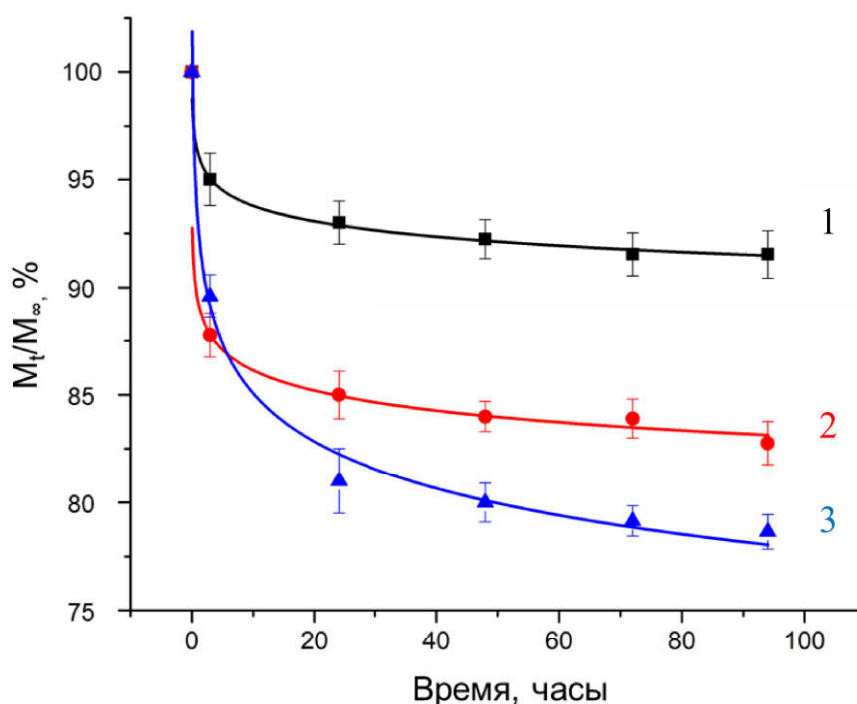


Рисунок 50. Изменение количества натривеой соли ибупрофена в растворе при насыщении образцов. Кривая 1 – образец криогеля без наполнителя, кривая 2 – образец криогеля с добавками ММП, кривая 3 – образец криогеля с добавками МБМП.

Кинетику высвобождения ЛВ из нагруженных образцов криогелей анализировали с помощью модели Пеппаса-Корсмейера (3), примененной к нелинейному участку кривой релиза (рис. 51). Данная модель позволяет определить механизм высвобождения ЛВ.

$$M_t/M_\infty = Kt^n \quad (3)$$

где M_t/M_∞ — доля лекарственного средства, высвобождаемого в каждый момент времени (t), K — кинетическая константа, включающая структурные и геометрические характеристики матрицы (также считается константой скорости высвобождения), n — показатель степени высвобождения, указывающий на механизм высвобождения лекарственного средства. Для цилиндрических образцов $n \leq 0,45$ — фиковская диффузия, $n > 0,45$ — нефикианские механизмы (аномальный транспорт) [152, 153].

В нашем случае значения показателя степени высвобождения n для всех исследуемых образцов были меньше 0,45 (таблица 8). Это означает, что релиз проходит по фиковскому механизму диффузии. Значение кинетической константы K указывают на снижение скорости высвобождения ЛВ при включении в матрицу криогеля ПВС микросфер ПОМК, при этом особо явное влияние оказывает наличие в матрице криогеля ПВС именно МБМП.

Таблица 8. Значения коэффициентов для модели Пеппаса-Корсмейера.

Тип носителя ЛВ	R^2	n	K
Без микросфер	1	0,30	0,50
С ММП	0,99	0,30	0,48
С МБМП	0,99	0,33	0,43

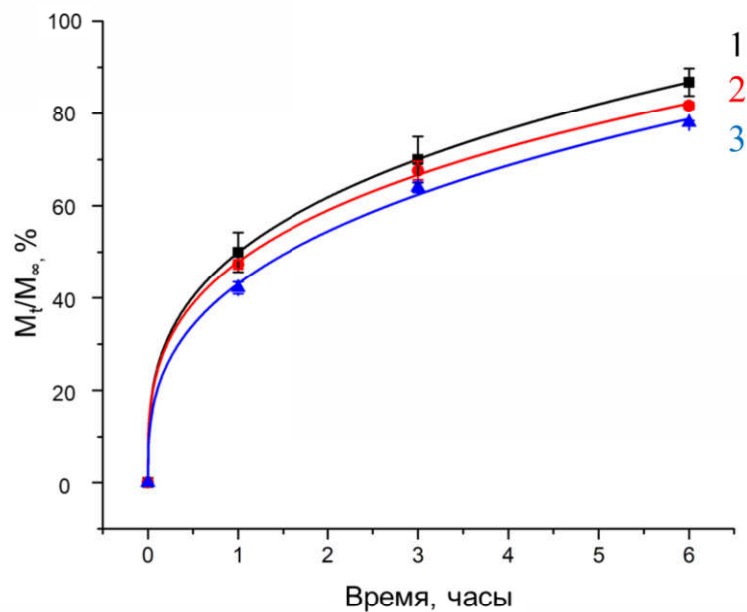


Рисунок 51. График высвобождения (с применением модели Пеппаса-Корсмейера) натриевой соли ибупрофена. Кривая 1 – образец криогеля без наполнителя, кривая 2 – образец криогеля с добавками ММП, кривая 3 – образец криогеля с добавками МБМП.

При изучении кинетики высвобождения натриевой соли ибупрофена из образцов криогелей ПВС и композитных криогелей ПВС, наполненных ПОМК-микросферами, установлено, что на раннем этапе релиза медленнее всего ЛВ высвобождается из образцов, содержащих МБМП. Как и в случае с насыщением образцов криогелей ПВС этим лекарственным веществом, ключевую роль играет размер микросфер, их распределение и количество на единицу объема криогеля, что позволяет лучше взаимодействовать ЛВ с частицами наполнителя и, тем самым, пролонгировать высвобождение веществ из матрицы композитного криогеля.

Для дальнейшего исследования кинетики релиза натриевой соли ибупрофена из полученных образцов применяли функцию Вейбулла (1) (рис. 52).

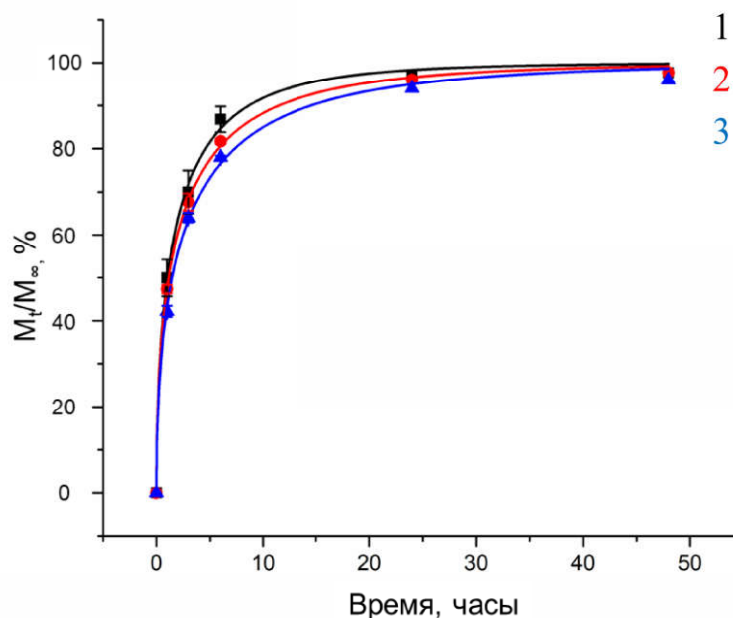


Рисунок 52. График высвобождения (с применением модели Вейбулла) натриевой соли ибупрофена. Кривая 1 – образец криогеля без наполнителя, кривая 2 – образец криогеля с добавками ММП, кривая 3 – образец криогеля с добавками МБМП.

Таблица 9. Значения коэффициентов для модели Вейбулла.

Тип носителя ЛВ	R^2	a	b
Без микросфер	0,99	0,68	0,56
С ММП	0,99	0,64	0,53
С МБМП	0,99	0,56	0,52

При анализе всей картины релиза с помощью функции Вейбулла (рис. 52) установлено, что тенденции высвобождения сохраняются на протяжении всего исследуемого периода релиза ЛВ. Натриевая соль ибупрофена быстрее всего высвобождается из образцов, не содержащих микросферы, в то время как наличие

в образце микрочастиц ПОМК оказывает пролонгирующий эффект на процесс релиза. Данный вывод подтверждается значением коэффициента a (табл. 9), который является константой скорости высвобождения [140]. Параметр b для всех образцов лежит в области 0,39 - 0,69, что говорит о том, что диффузия протекает в неупорядоченном субстрате. Но помимо описания структуры матрицы значение коэффициента b может говорить о наличии взаимодействий между гелевой матрицей и высвобождающимся агентом. Так, чем выше значение b , тем взаимодействие слабее [141]. В данном случае наибольшие значения коэффициента b соответствовали образцам, не содержащим микросферы ПОМК (табл. 9). Таким образом наличие в матрице криогелей ПВС сферических частиц ПОМК способствует замедлению высвобождения натриевой соли ибупрофена благодаря адсорбции данного ЛВ на поверхности микросфер, при этом, чем больше количество микросфер на единицу объема криогеля, тем больше ЛВ адсорбируется на их поверхности.

3.3.5.2. Высвобождение симвастатина

При формировании микросфер ПОМК в систему вводили симвастатин в количестве 4,35 мг симвастатина на 1 г полимера. После завершения процесса спектрофотометрический анализ показал, что в 1 г сухих ММП содержал $3,76 \pm 0,74$ мг симвастатина (~86 %), в то время как сухие МБМП содержали $4,17 \pm 0,57$ мг (~96%). Некоторая «потеря» ЛВ по сравнению с исходным количеством, скорее всего, произошла из-за частичного выделения вещества на таких стадиях процесса, как приготовление первичной эмульсии, отверждение ПОМК при выпаривании хлороформа из микрокапельной фазы и последующая промывка образовавшихся микросфер водой. Контрольные образцы криогелей ПВС без микросфер ПОМК нагружали примерно таким же количеством симвастатина (~ 4,17 мг) путем его растворения в исходном водном растворе ПВС. Результаты релиза обрабатывались с помощью описанной ранее модели Пеппаса-Корсмейера (3) (рис. 53).

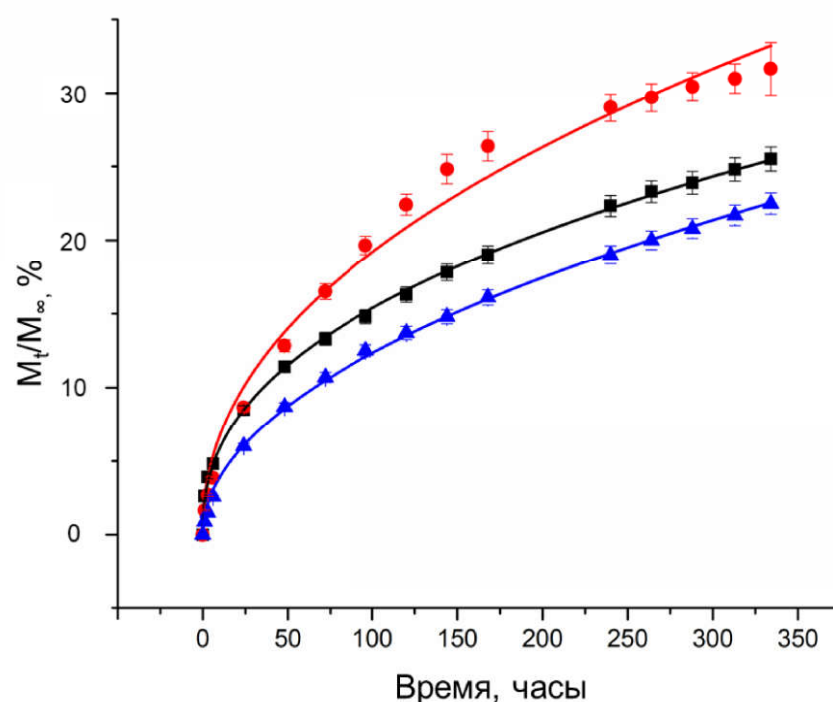


Рисунок 53. График высвобождения (с применением модели Пеппаса-Корсмейера) симвастатина. Кривая 1 – образец криогеля без наполнителя, кривая 2 – образец криогеля с добавками ММП, кривая 3 – образец криогеля с добавками МБМП.

Таблица 10. Значения коэффициентов для модели Пеппаса-Корсмейера.

Тип носителя ЛВ	R^2	n	K
Без микросфер	0,99	0,41	0,022
С ММП	0,98	0,45	0,023
С МБМП	0,99	0,45	0,012

Из полученных данных можно сделать вывод, что релиз симвастатина из образцов криогелей ПВС и композитных криогелей ПВС носит пролонгированный характер, поскольку за период в 350 часов высвободилось не более 30% вещества. Для всех исследуемых образцов $n \leq 0,45$ (таблица 10), это означает, что релиз проходит по фиковскому механизму диффузии. Наиболее медленно

высвобождение ЛВ происходило из образцов, содержащих МБМП. Такая разница в кинетике выхода симвастатина из образцов, содержащих микросферы ПОМК с макроскопическими порами и без макроскопических пор, объясняется тем, что молекулам ЛВ необходимо сначала продиффундировать через фазу материала микросфер. В случае МБМП скорость этого процесса значительно более медленная, чем в случае ММП, что косвенно подтверждается полученными значениями константы K , которая является кинетической константой, отражающей структурные и геометрические характеристики матрицы и скорость процесса.

3.4. Криогели ПВС, полученные в среде смеси ДМСО/ДМФА

Помимо водных и ДМСО растворов полимера, криогели ПВС также могут быть получены из смесей этих двух растворителей, а в данной работе впервые были получены криогели ПВС в среде смеси ДМСО и ДМФА. В предварительных опытах было найдено что объемное отношение этих жидкостей, равное 75% и 25%, оказалось наиболее подходящим для получения растворов ПВС нужной концентрации. ДМСО и ДМФА являются взаиморастворимыми веществами, но при этом ПВС не растворяется в ДМФА. Методом ДСК было определено, что смесь ДМСО/ДМФА в процентном соотношении их объемов 75:25 кристаллизуется при $-10,12$ °С, а раствор ПВС с концентрацией 10 г/дл в данной смеси замерзает при $-19,34$ °С. В результате замораживания этих растворов при $-21,6$ °С в течении 12 часов и последующего оттаивания были получены образцы криогелей, свойства которых затем были изучены.

3.4.1. Изменение свойств криогелей, полученных в среде смеси ДМСО/ДМФА, в процессе замены органического растворителя на воду

Для образцов криогелей ПВС, сформированных в среде смеси ДМСО/ДМФА, были измерены объем (рис. 54), масса (рис. 55) и модуль упругости (рис. 56) в ходе замены смеси органических растворителей на воду. В качестве контрольных образцов были выбраны криогели ПВС, сформированные в среде чистого ДМСО.

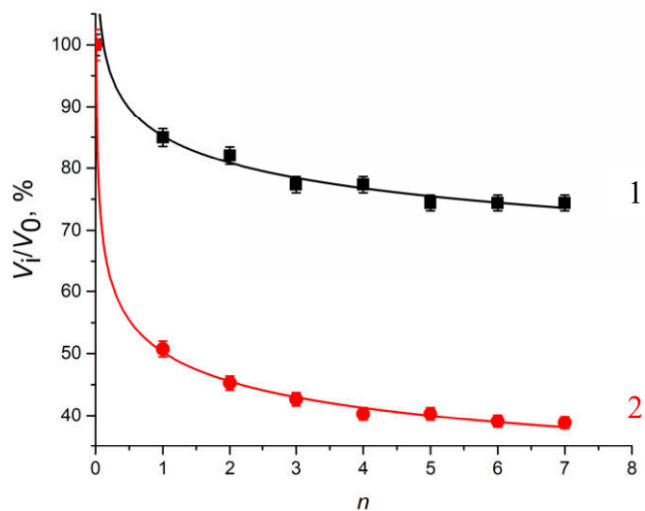


Рисунок 54. Относительное изменение объема цилиндрических образцов криогелей ПВС при замещении органического растворителя на воду. 1 – криогели ПВС, полученные в среде ДМСО, 2 – криогели ПВС, полученные в среде ДМСО/ДМФА.

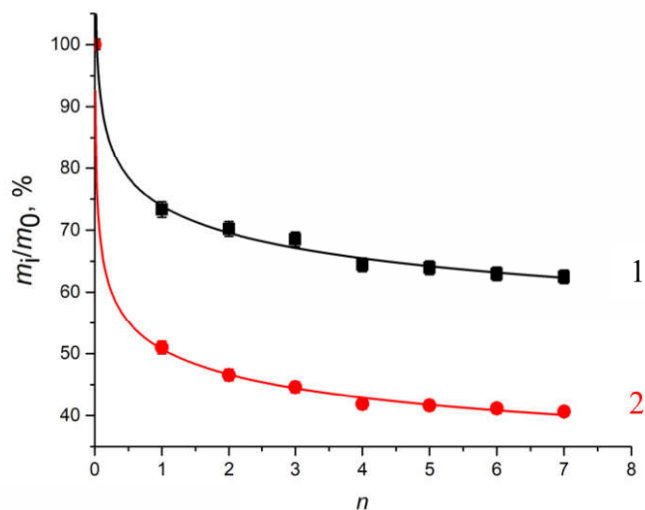


Рисунок 55. Относительное изменение массы цилиндрических образцов криогелей ПВС при замещении органического растворителя на воду. 1 – криогели ПВС, полученные в среде ДМСО, 2 – криогели ПВС, полученные в среде ДМСО/ДМФА.

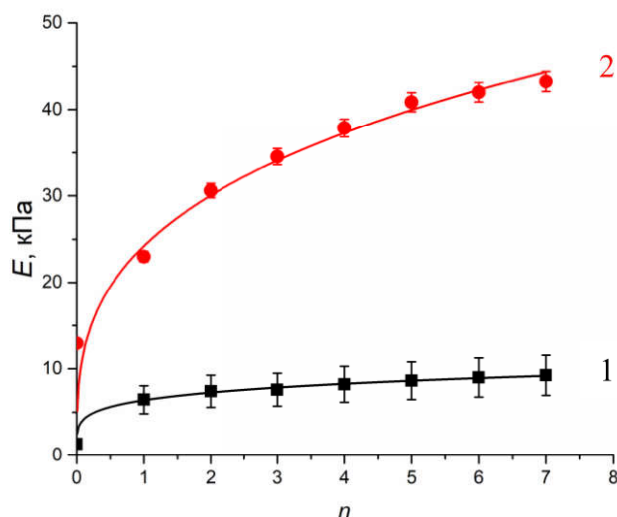


Рисунок 56. Изменение модуля упругости цилиндрических образцов криогелей ПВС при замещении органического растворителя на воду. 1 – криогели ПВС, полученные в среде ДМСО, 2 – криогели ПВС, полученные в среде ДМСО/ДМФА.

Было найдено, что «первичные» криогели ПВС, сформированные в среде ДМСО/ДМФА, обладали значительно большей упругостью по сравнению с образцами, сформированными в среде ДМСО (рис. 56). Такая разница может быть обусловлена снижением термодинамического качества растворителя из-за десольватации полимера по отношению к ДМСО вследствие наличия нерастворителя ПВС – ДМФА в исходном растворе полимера, что, в свою очередь, усиливает взаимодействия полимер-полимер. Из литературных данных известно, что похожее воздействие на криогели ПВС, сформированные в среде ДМСО, оказывали добавки низкомолекулярных алифатических спиртов также вследствие десольватации ПВС [154]. В нашем случае образцы, сформированные в среде смеси ДМСО/ДМФА, подвергались значительно большей «усадке» в процессе замены растворителя на воду, чем образцы, сформированные в среде чистого ДМСО: на 20% в случае образцов ПВС/ДМСО и на 60% в случае образцов ПВС/ДМСО/ДМФА (рис. 54). Аналогично объему, масса образцов криогелей, полученных в среде ДМСО/ДМФА, также существенно понижалась (рис. 55). При

этом «усадка» в большей степени способствовала повышению жесткости «вторичных» образцов, сформированных из растворов ПВС в смеси ДМСО/ДМФА (рис. 56), благодаря образованию большего количества водородных связей между макромолекулярными цепями ПВС.

3.4.2. Особенности структуры криогелей ПВС, полученных в среде смеси ДМСО/ДМФА

На рисунке 57 приведены СЭМ-изображения микроструктуры сколов образцов «вторичных» криогелей ПВС, формирование которых происходило в среде замороженного ДМСО (рис. 57а) и в среде ДМСО/ДМФА (рис. 57б).

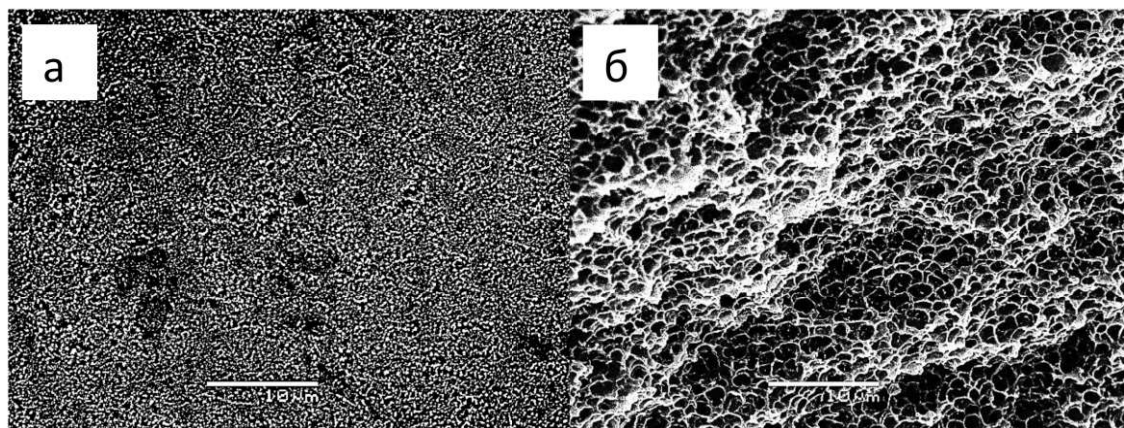


Рисунок 57. СЭМ-микрофотографии сколов образцов «вторичных» криогелей ПВС с $[ПВС] = 10$ г/дл, полученных из растворов полимера в ДМСО (а), ДМСО/ДМФА (б).

На данных изображениях видно, что структура и размер пор криогеля, сформированного в среде ДМСО/ДМФА, сильно отличаются от таковых у образцов, полученных из растворов ПВС в ДМСО. Поскольку для криогелей порообразователями являются кристаллы замерзшего растворителя, то различия в морфологии образцов можно объяснить особенностями замерзания смеси ДМСО/ДМФА, что также отражается на физико-химических свойствах образцов. На микрофотографиях СЭМ сколов образцов «вторичных» криогелей ПВС, сформированных в смеси органических растворителей (рис. 57б), различимы более

крупные поры и утолщенные стенки макропор по сравнению с образцами, полученными в среде ДМСО. Последний факт говорит о наличии более плотной фазы геля и о большем количестве контактов между цепями ПВС.

3.4.3. Высвобождение натриевой соли ибупрофена из криогелей ПВС, полученных в смеси ДМСО/ДФМА

Насыщение образцов «вторичных» криогелей ПВС натриевой солью ибупрофена проводили по методике, описанной в разделе 2.3.12. Во всех случаях через сутки достигалось примерное равновесие в содержании ЛВ в соответствующем образце криогеля и окружающем его растворе. Количество Na-ИБПФ, включенного в гелевую матрицу, определяли путем измерения оптического поглощения растворов Na-ИБПФ, в которых насыщали образцы. Далее, зная исходную концентрацию растворов и их концентрацию после насыщения образцов, можно определить количество Na-ИБПФ, находящегося в образцах. Количество ЛВ, включенного в криогели ПВС, сформированными в среде ДМСО/ДФМА, было несколько меньшим по сравнению с образцами, полученными в среде ДМСО. Данная разница вероятно объясняется разницей в объемах образцов криогелей ПВС.

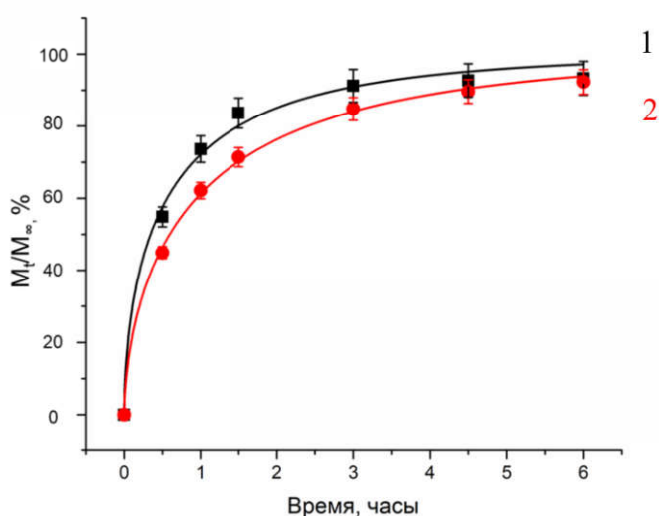


Рисунок 58. График высвобождения (с применением модели Вейбулла) натриевой соли ибупрофена. 1 – ПВС в ДМСО, 2 – ПВС в ДМСО/ДФМА.

На рисунке 58 приведены профили высвобождения ЛВ из криогелей ПВС. Несколько быстрее релиз проходил из образцов, сформированных в среде ДМСО.

Для анализа кинетики высвобождения Na-ИБПФ из образцов использовали функцию Вейбулла (1), значения коэффициента b приведены в таблице 11.

Таблица 11. Значения коэффициентов для модели Вейбулла.

№	Исходная система при формировании криогелей ПВС	R^2	b
1	ПВС 10 г/дл в ДМСО	0.995	0.576
2	ПВС 10 г/дл в ДМСО/ДМФА	0.999	0.610

Параметр b для всех образцов лежит в области 0,39 - 0,69, что говорит о том, что диффузия протекает в неупорядоченном субстрате. Но, как отмечалось ранее, значение коэффициента b может говорить о наличии взаимодействий между гелевой матрицей и высвобождающимся агентом. Так, для образцов, сформированных в среде ДМСО/ДМФА, значения b выше, чем для образцов, полученных из растворов ПВС в ДМСО, что свидетельствует о более слабом взаимодействии между матрицей и ЛВ, но при этом Na-ИБПФ высвобождается медленнее из данных образцов. Причины этого могут быть обусловлены неодинаковой плотностью гелевой фазы данных криогелей, т.е. стенок их макропор, и разным соотношением объемов полимерной и жидкой фаз у образцов криогелей ПВС, полученных в среде ДМСО/ДМФА (данный вывод соотносится со структурой криогелей, приведенной на рисунке 56), что влияет на эффективность протекания процессов водородного связывания ионизированной карбоксильной группы соли ибупрофена и ОН-функций макромолекул ПВС (см. раздел 3.1.5.), вследствие чего происходит замедление высвобождения Na-ИБПФ из образцов, сформированных из растворов ПВС в смеси ДМСО/ДМФА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе были получены 4 новых типа криогелей ПВС:

- криогели ПВС, сформированные из растворов ПВС в ДМСО с добавками мочевины, с последующим замещением органического растворителя на воду;
- композитные криогели ПВС, полученные из растворов ПВС/ПОМК в среде ДМСО, также прошедшие процедуру смены растворителя;
- композитные криогели ПВС, на основе суспензий микросфер ПОМК различной морфологии в водных растворах ПВС.
- криогели ПВС, сформированные в среде смеси органических растворителей ДМСО/ДМФА, также с последующей трансформацией во «вторичные» криогели.

Для всех типов криогелей были определены их физико-механические характеристики, получены микрофотографии, показывающие структуру данных типов криогелей, а также были проведены *in vitro* исследования кинетики высвобождения лекарственных веществ из всех полученных в настоящей работе типов криогелей ПВС.

По результатам проведенных исследований можно сделать следующие

ВЫВОДЫ:

1. В результате исследования криогелей ПВС, сформированных из растворов полимера в ДМСО с добавками мочевины показано, что:

- В случае криотропного гелеобразования растворов ПВС в ДМСО добавки мочевины вызывают эффекты, противоположные наблюдаемым в водной среде, то есть образование криогелей ПВС промотируется, а не ингибируется.

- Последующая гидратация этих «первичных» криогелей замещением в них ДМСО на воду приводит к уменьшению объема и массы образцов, а также к существенному росту модуля упругости получаемых «вторичных» криогелей. Абсолютная величина таких эффектов зависит как от концентрации мочевины в исходном растворе ПВС, так и от соотношения объемов гелевых образцов и водного экстрагента при их гидратации.

- Присутствие мочевины в исходном ДМСО-растворе полимера в концентрации, близкой к пределу ее растворимости в такой среде, индуцирует формирование крупнопористой морфологии образующейся гелевой матрицы.

- Наиболее вероятной причиной пролонгирования процесса высвобождения Na-ИБПФ из полимерного носителя является динамическое водородное связывание карбоксилатных групп этого вещества с гидроксильными группами ПВС, что и приводит к замедлению высвобождения лекарства.

2. В ходе исследования композитных криогелей ПВС/ПОМК, полученных в среде ДМСО, установлено, что:

- Повышение концентрации ПОМК в исходном растворе ПВС приводит к образованию более упругих криогелей, в особенности после стадии замены органического растворителя на воду, в ходе которой образцы подвергаются некоторой «усадке», когда ПОМК начинает коагулировать с образованием частиц близких к сферической форме, включенных в матрицу криогеля ПВС.

- Композитные криогели ПВС/ПОМК обладают свойствами, присущими системам доставки лекарственных средств пролонгированного действия из-за адсорбции ЛВ частицами ПОМК.

3. В результате исследования композитных криогелей ПВС, содержащих дисперсные частицы ПОМК показано, что:

- Частицы ПОМК являются «активным» наполнителем, повышение их концентрации приводит к росту значений модуля упругости композитных криогелей, а микросферы ПОМК без макроскопических пор, благодаря меньшим размерам и повышенной площади контакта матрицы с дисперсными частицами, в большей степени влияют на повышение модуля упругости образцов.

- Наличие в композите сферических частиц ПОМК, в особенности МБМП, способствует пролонгированию высвобождения лекарственных веществ, поэтому такие материалы представляют интерес в качестве систем доставки как растворимых, так и малорастворимых в воде лекарств.

4. Исследование криогелей ПВС, полученных в среде смеси ДМСО/ДМФА, показало, что:

- Криогели ПВС, сформированные в среде ДМСО/ДМФА, обладают большей упругостью, по сравнению с криогелями, полученными из растворов ПВС в ДМСО. При последующем замещении органических растворителей на воду, образцы ПВС/ДМСО/ДМФА подвергаются значительной «усадке», что влечет за собой значительное повышение модуля упругости.

- В силу неодинаковой микроструктуры полимерной фазы стенок макропор «вторичных» криогелей, полученных в смеси ДМСО/ДМФА, высвобождение ЛВ из данных образцов проходит несколько медленнее по сравнению с «вторичными» криогелями, сформированными в среде ДМСО.

Перспективы дальнейшей работы по теме диссертационного исследования заключаются в получении композитных криогелей на основе ПВС с добавками полимолочной кислоты и сополимеров молочной и гликолевой кислот, а также в изучении физико-механических, диффузионных свойств и структуры данных материалов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БЦ - бактериальная целлюлоза

ДСК – дифференциально-сканирующая калориметрия

ДСМО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамид

ЛВ – лекарственное вещество

МБМП – микросферы без макроскопических пор

ММ – молекулярная масса

ММП – микросферы с макроскопическими порами

МФС – межфазный слой

НЖМФ – незамёрзшая жидкая микрофаза

ПВС – поливиниловый спирт

ПКМ – полимерный композиционный материал

ПЛГА - полилактидгликолид

ПОМК – поли-3-оксимасляная кислота

СД - степень деацетилирования

СНВ – симвастатин

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ЦЗО – циклы замораживание-оттаивание

Na-ИБПФ – натриевая соль ибупрофена

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nambu M. Rubber-like poly(vinyl alcohol) gel // *Kobunshi Ronbunshu*. – 1990. – V. 47. – P. 695–703.
2. Peppas N.A. Reinforced uncrosslinked poly(vinyl alcohol) gels produced by cyclic freezing-thawing processes: a short review / N.A. Peppas, S.R. Stauffer // *Journal of Controlled Release*. – 1991. – V. 16. – P. 305–310.
3. Лозинский В.И. Криотропное гелеобразование растворов поливинилового спирта // *Успехи химии*. – 1998. – Т. 67. – С. 641-655.
4. Hassan C.M. Structure and applications of poly(vinyl alcohol) hydrogels produced by conventional crosslinking or by freezing/thawing methods / C.M. Hassan, N.A. Peppas // *Advances in Polymer Science*. – 2000. – V. 153. P. 37-65.
5. Gutiérrez M.C. Production and properties of poly(vinyl alcohol) cryogels: Recent developments / M.C. Gutiérrez, I. Aranaz, M.L. Ferrer [et al.] // In: *Macroporous Polymers: Production, Properties and Biological/Biomedical Applications*. Mattiasson B., Kumar A., Galaev I. Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2010; P. 83–115.
6. Gun'ko V.M. Cryogels: morphological, structural and adsorption characterization / V.M. Gun'ko, I.N. Savina, S.V. Mikhalovsky // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2013. – V.187-188. – P. 1-46.
7. Adelnia H. Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future / H. Adelnia, R. Ensandoost, S.S. Moonshi [et al.] // *European Polymer Journal*. – 2022. – V. 164. article 110974.
8. Yokoyama F. Morphology and structure of highly elastic poly(vinyl alcohol) hydrogel prepared by repeated freezing-and-melting / F. Yokoyama, I. Masada, K. Shimamura [et al.] // *Colloid and Polymer Science*. – 1986. – V. 264. – P. 595-601.
9. Hassan C.M., Peppas N.A. Structure and morphology of freeze/thawed PVA hydrogels / C.M. Hassan, N.A. Peppas // *Macromolecules*. – 2000. – V. 33. – P. 2472-2479.
10. Hassan C.M. Modeling of crystal dissolution of poly(vinyl alcohol) gels produced by freezing/thawing processes / C.M. Hassan, J.H. Ward, N.A. Peppas // *Polymer*. – 2000. – V. 41. – P. 6729-6739.

11. Рогожин С.В. Нековалентное криоструктурирование в полимерных системах / С.В. Рогожин, В.И. Лозинский, Е.С. Вайнерман [и др.] // Доклады АН СССР. – 1984. – Т. 278. - №1. – С. 129-133.
12. Watase M. Effects of degree of polymerization, degree of saponification and concentration on rheological properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels prepared by repeated freezing and melting. // Nippon Kagaku Kaishi. – 1983. – V. 7. – P. 1254-1259. (in Japanese)
13. Urushizaki F. Swelling and mechanical properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels / F. Urushizaki, H. Yamaguchi, K. Nakamura [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 1990. – V. 58. – P. 135-142.
14. Watase M. Effect of the degree of saponification on the rheological and thermal properties of poly(vinyl alcohol) gels / M. Watase, K. Nishinari // Die Makromolekulare Chemie. – 1989. – V. 190. – P. 155-163.
15. Kolosova O.Yu. Cryostructuring of polymeric systems. 64. Preparation and properties of poly(vinyl alcohol)-based cryogels loaded with antimicrobial drugs and assessment of the potential of such gel materials to perform as the gel implants for treatment of infected wounds / O.Yu. Kolosova, A.I. Shaikhaliev, M.S. Krasnov [et al.] // Gels. – 2023. – V. 9. – article 113.
16. Memic A. Latest advances in cryogel technology for biomedical applications / A. Memic, T. Colombani, L.J. Eggermont [et al.] // Advanced Therapeutics. – 2019. – V. 2. – article 1800114.
17. Rivera-Hernández G. Polyvinyl alcohol based-drug delivery systems for cancer treatment / G. Rivera-Hernández, M. Antunes-Ricardo, P. Martínez-Morales [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 2021. – V. 600. – article 120478.
18. Cascone M.G. Poly(vinyl alcohol) hydrogels as hydrophilic matrices for the release of lipophilic drugs loaded in PLGA nanoparticles / M.G. Cascone, Z. Zhu, F. Borselli [et al.] // Journal of Material Science: Materials in Medicine. – 2002. – V. 13. – P. 29-32.

19. Long J. Development of a long-term drug delivery system with levonorgestrel-loaded chitosan microspheres embedded in poly(vinyl alcohol) hydrogel / J. Long, E.A. Etxeberria, C. Kornelsen, [et al.] // *Applied Biomaterials*. – 2019. – V. 2. – P. 2766-2779.
20. Gu Z. The development of artificial articular cartilage-PVA-hydrogel / Z. Gu, J. Xiao, X. Zhang // *Biomedical Materials*. – 1998. – V. 8. – P. 75-81.
21. Swieszkowski W. An elastic material for cartilage replacement in an arthritic shoulder joint / W. Swieszkowski, D. Ku, H. Bersee [et al.] // *Biomaterials*. – 2006. – V.27. – P. 1534-1541.
22. Pan Y. A study on the friction properties of poly(vinyl alcohol) hydrogel as articular cartilage against titanium alloy / Y. Pan, D. Xiong, R. Ma // *Wear*. – 2007. – V. 262. – P. 1021-1025.
23. Wan W. Optimizing the tensile properties of polyvinyl alcohol hydrogel for the construction of a bioprosthetic heart valve stent / W. Wan, G. Campbell, Z. Zhang [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 2002. – V. 63. – P. 854-861.
24. Jiang H. Design and manufacture of a polyvinyl alcohol (PVA) cryogel tri-leaflet heart valve prosthesis / H. Jiang, G. Campbell, D. Boughner [et al.] // *Medical Engineering & Physics*. – 2004. – V. 26. – P. 269-277.
25. Wang B.H. Formulations of polyvinyl alcohol cryogel that mimic the biomechanical properties of soft tissues in the natural lumbar intervertebral disc / B.H. Wang, G. Campbell // *Spine*. – 2009. – V. 34. – P. 2745-2753.
26. Joshi A. Functional compressive mechanics of a PVA/PVP nucleus pulposus replacement / A. Joshi, G. Fussell, J. Thomas [et al.] // *Biomaterials*. – 2006. – V. 27. – P. 176-184.
27. Lozinsky V.I. Poly(vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. 3. Overview of recent research and developments / V.I. Lozinsky, F.M. Plieva // *Enzyme and Microbial Technology*. – 1998. – V. 23. – P. 227-242.
28. du Toit J.P. Transparent polyvinyl-alcohol cryogel as immobilisation matrix for continuous biohydrogen production by phototrophic bacteria / J.P. du Toit, R.W.M. Pott // *Biotechnology for Biofuels*. – 2020. – V. 13. – article 105.

29. Лозинский В.И. Криогели на основе природных и синтетических полимеров: получение, свойства и области применения // Успехи химии. – 2002. – Т. 71. - №6. – С. 559-585

30. Lozinsky V.I. Basic principles of cryotropic gelation / V.I. Lozinsky, O. Okay // *Advances in Polymer Science*. – 2014. – V. 263. – P. 49–101.

31. Пушкарь Н.С. Низкотемпературная кристаллизация в биологических системах / Н.С. Пушкарь, А.М. Белоус, Ю.А. Иткин [и др.]. – Киев: Наукова думка. – 1977. – С. 243.

32. Домотенко Л.В. Диссертация кандидата химических наук. ИНЭОС АН СССР, Москва. – 1986.

33. Домотенко Л.В. Влияние режимов замораживания водных растворов поливинилового спирта и условий размораживания образцов на свойства получающихся при этом криогелей / Л.В. Домотенко, В.И. Лозинский, Е.С. Вайнерман [и др.] // *Высокомолекулярные соединения*. – 1988. – Т. 30А. – С. 1661-1666

34. Luyet V.J. In *Cryobiology* / Luyet V.J. - New York: Academic Press. – 1966. – P.115.

35. Лозинский В.И. Характерные особенности замерзания концентрированных водных растворов поливинилового спирта; взаимосвязь со свойствами гидрогелей, получающихся после оттаивания / В.И. Лозинский, Е.С. Вайнерман, Л.В. Домотенко [и др.] // *Коллоидный журнал*. – 1989. – Т. 51. – С. 685-690

36. Willcox P.J. Microstructure of poly (vinyl alcohol) hydrogels produced by freeze/ thaw cycling / P.J. Willcox, D.W. Howie, K. SchmidtRohr [et al.] // *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. – 1999. – V. 37. – P. 3438-3454.

37. Yokoyama F. Morphology and structure of highly elastic poly (vinyl alcohol) hydrogel prepared by repeated freezing-and-melting / F. Yokoyama, I. Masada, K. Shimamura [et al.] // *Colloid and Polymer Science*. – 1986. – V. 264. – P. 595-601.

38. Millon L.E. SANS characterization of an anisotropic poly (vinyl alcohol) hydrogel with vascular applications / L.E. Millon, M. Nieh, J.L. Hutter [et al.] // *Macromolecules*. – 2007. – V. 40. – P. 3655-3662.
39. Kanaya T. Structure of poly(vinyl alcohol) gels studied by wide-angle and small-angle neutron-scattering / T. Kanaya, M. Ohkura, K. Kaji [et al.] // *Macromolecules*. – 1994. – V. 27. – P. 5609 – 5615.
40. Kanaya T. Gelation process of poly(vinyl alcohol) as studied by small-angle neutron and light scattering / T. Kanaya, M. Ohkura, H. Takeshita [et al.] // *Macromolecules*. – 1995. – V. 28. – P. 3168-3174.
41. Fergg F. Investigations of the microscopic structure of poly(vinyl alcohol) hydrogels by confocal laser scanning microscopy / F. Fergg, F. Keil, H. Quader // *Colloid and Polymer Science*. – 2001. – V. 279. – P. 61-67.
42. Ricciardi R. X-ray diffraction analysis of poly (vinyl alcohol) hydrogels, obtained by freezing and thawing techniques / R. Ricciardi, F. Auriemma, C. De Rosa [et al.] // *Macromolecules*. – 2004. – V. 37. – P. 1921-1927.
43. Valentin J.L. Structure of poly(vinyl alcohol) cryo-hydrogels as studied by proton low-field NMR spectroscopy / J.L. Valentin, D. Lopez, R. Hernandez [et al.] // *Macromolecules*. – 2009. – V. 42. – P. 263-272.
44. Wong E.Y.L. Poly(vinyl alcohol) nanocomposite hydrogels for intervertebral disc prostheses. Dissertation, The University of Western Ontario, Canada, 2012.
45. Wan W. Poly(vinyl alcohol) cryogels for biomedical applications / W. Wan, A.D. Bannerman, L. Yang [et al.] // *Advances in Polymer Science*. – 2014. – V. 263. – P. 283-321.
46. Hickey A.S. Mesh size and diffusive characteristics of semicrystalline poly (vinyl alcohol) membranes prepared by freezing/thawing techniques / A.S. Hickey, N.A. Peppas // *Journal of Membrane Science*. – 1995. – V. 107. – P. 229-237.
47. Wan W. Optimizing the tensile properties of polyvinyl alcohol hydrogel for the construction of a bioprosthetic heart valve stent / W. Wan, G. Campbell, Z. Zhang [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 2002. – V. 63. – P. 854-861.

48. Millon L.E. Compression properties of polyvinyl alcohol—bacterial cellulose nanocomposite / L.E. Millon, C.J. Oates, W. Wan // *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. – 2009. – V. 90B. – P. 922-929.

49. Аржаков М.С. Высокомолекулярные соединения. Словарь терминов, понятий и определений/ Аржаков М.С. – М: Accent Graphics communications. – 2016. – С. 176.

50. Zhang L. Anisotropic tough poly(vinyl alcohol) hydrogels / L. Zhang, J. Zhao, J. Zhu [et al.] // *Soft Matter*. - 2012. – V. 8. – article 10439.

51. Watase M. Rheological properties of an anomalous poly (vinyl alcohol) gel / M. Watase, M. Nambu, K. Nishinari // *Polymer Communications*. – 1983. – V. 24. – P. 52-54.

52. Stammen J.A. Mechanical properties of a novel PVA hydrogel in shear and unconfined compression / J.A. Stammen, S. Williams, D.N. Ku [et al.] // *Biomaterials*. – 2011. – V. 22. – P. 799-806.

53. Duboeuf F. Investigation of PVA cryogel Young's modulus stability with time, controlled by a simple reliable technique / F. Duboeuf, A. Basarab, H. Liebgott [et al.] // *Medical Physics*. – 2009. – V. 36. – P. 656-661.

54. Nishinari K. Structure of junction zones in poly (vinyl alcohol) gels by rheological and thermal studies / K. Nishinari, M. Watase, F. Tanaka // *Journal de chimie physique et de physico-chimie biologique*. – 1996. – V. 93. – P. 880-886.

55. Liu K. Poro-viscoelastic constitutive modeling of unconfined creep of hydrogels using finite element analysis with integrated optimization method / K. Liu, T.C. Ovaert // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. – 2011. – V. 4. – P. 440-450.

56. Watase M. Effects of degree of polymerization, degree of saponification and concentration on rheological properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels prepared by repeated freezing and melting // *Nippon Kagaku Kaishi*. – 1983. – V. 9. – P. 973-979.

57. Watase M. Rheological properties of hydrogels of poly(vinyl-alcohol) prepared by repeated freezing and melting // *Nippon Kagaku Kaishi*. – 1983. – V. 7. – P. 973-977.

58. Лозинский В.И. Криогели на основе природных и синтетических полимеров: получение, свойства и применение // Диссертация доктора химических наук. ИНЭОС РАН, Москва. – 1994. – С. 682.

59. Takamura A. Drug release from freeze-thaw poly(vinyl alcohol) gel / A. Takamura, M. Arai, F. Ishii // *Yakugaku Zasshi*. – 1987. – V. 107. – P. 233-240

60. Лозинский В.И. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 27. Физикохимические свойства криогелей поливинилового спирта и особенности их макропористой морфологии / В.И. Лозинский, Л.Г. Дамшкалн, Б.Л. Шаскольский [и др.] // *Коллоидный журнал*. – 2007. – Т. 69. - № 6. – С. 798-816.

61. Trieu H.H. Poly(vinyl alcohol) hydrogels. 2. Effects of processing parameters on structure and properties / H.H. Trieu, S. Qutubuddin // *Polymer*. – 1995. – V. 36. – P. 2531–2539.

62. Патент Япония № 57-130543, 98, 108337, 1983.

63. Watase M. Anomalous increase of the elastic modulus of frozen poly(vinyl alcohol) gels / M. Watase, K. Nishinari, M. Nambu // *Cryo-Letters*. – 1983. – V. 4. – P. 197-200.

64. Патент Япония № 57-130543, 100, 109154, 1984.

65. Watase M. Rheological properties of an anomalous poly(vinyl alcohol) gel / M. Watase, K. Nishinari // *Polymer Communications*. – 1983. – V. 24. – P. 270-274.

66. Патент Европа № 070986, 98, 129328, 1983.

67. Yamaura K. Matsuzawa. Gelation of poly(vinyl alcohol) solutions at low temperatures (20 to -78 deg.C) and properties of gels / K. Yamaura, K.-i. Karasawa, T. Tanigami [et al.] // *Journal of Applied Polymer Science*. – 1994. – V. 51. – P. 2041-2046.

68. Lozinsky V.I. Study of cryostructurization of polymer systems. VII. Structure formation under freezing of poly(vinyl alcohol) aqueous solutions / V.I. Lozinsky, E.S. Vainerman, L.V. Domotenko [et al.] // *Colloid and Polymer Science*. – 1986. – V. 264. – P. 19-24.

69. Домотенко Л.В. Действие замораживания на концентрированные водные растворы поливинилового спирта / Л.В. Домотенко, А.М. Мамцис, В.И.

Лозинский [и др.] // В кн. Теория и прикладные вопросы криобиологии. (Тез. докл. 2-й Всесоюз. конф.). Харьков. – 1984. – С. 29.

70. Домотенко Л.В. Реологические свойства криогелей поливинилового спирта / Л.В. Домотенко, А.М. Мамцис, В.И. Лозинский [и др.] // В кн. Высокомолекулярные соединения (Тез. докл. 2-й Всесоюз. конф.). Алма-Ата. – 1985. – С. 171.

71. Urushizaki F. Pressure sensitive adhesion and viscoelasticity of poly(vinyl alcohol) aqueous gel / F. Urushizaki, H. Yamaguchi, H. Mizumachi // Yakugaku Zasshi. – 1986. – №106. – P. 491-496.

72. Yamaura K. Properties of gels obtained by freezing/thawing of poly(vinyl alcohol)/water/dimethyl sulfoxide solutions / K. Yamaura, M. Itoh, T. Tanigami [et al.] // Journal of Applied Polymer Science. – 1989. – V. 37. – P. 2709-2718.

73. Li X. On the Structure of Zerofree Sequences / X. Li, C. Liu, W. Chen [et al.] // Journal of functional polymers. – 1989. – V. 5. – P. 519-527.

74. Hyon S.-H. Preparation of poly(vinyl alcohol) hydrogels by low temperature crystallization of the aqueous poly(vinyl alcohol) solution / S.-H. Hyon, W.-I. Cha, Y. Ikada // Kobunshi Ronbunshu. – 1989. – V. 46. – P. 673-680.

75. Y. Wang, C. Zheng. // Wuli Huaxue Xuebao. – 1990. – V. 6. – P. 509-515.

76. Yamaura K. Preparation of high modulus poly(vinyl alcohol) by drawing / K. Yamaura, T. Tanigami, N. Hayashi [et al.] // Journal of Applied Polymer Science. – 1990. – V. 40. – P. 905-916.

77. Лозинский В.И. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 28. Физико-химические свойства и морфология криогелей поливинилового спирта, сформированных многократным замораживанием – оттаиванием / В.И. Лозинский, Л.Г. Дамшкalin, И.Н. Курочкин [и др.] // Коллоидный журнал – 2008. – Т. 70. – №2. – С.212 – 222.

78. Nagura M. State of water in highly elastic poly(vinyl alcohol) hydrogens prepared by repeated freezing and melting / M. Nagura, M. Nagura, H. Ishikawa // Polymer communications. – 1984. – V. 25. – P. 313-314.

79. Holloway J.L. Analysis of the in vitro swelling behavior of poly(vinyl alcohol) hydrogels in osmotic pressure solution for soft tissue replacement / J.L. Holloway, K.L. Spiller, A.M. Lowman [et al.] // *Acta Biomaterialia*. -2011. –V. 7. – P. 2477-2482.

80. Millon L.E. The polyvinyl alcohol-bacterial cellulose system as a new nanocomposite for biomedical applications / L.E. Millon, W.K. Wan // *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. – 2006. – V. 79B. – P. 245-253.

81. Hatakeyama T. Effect of thermal hysteresis on structural change of water restrained in poly(vinyl alcohol) pseudo-gel / T. Hatakeyama, A. Yamaguchi, H. Hatakeyama // *European Polymer Journal*. – 1987. – V. 23. – P. 361-365.

82. Lozinsky V.I. Covalent and non-covalent cryostructurization in polymer systems / V.I. Lozinsky, E.S. Vainerman, S.V. Rogozhin // In *The 31st IUPAC Symposium on Macromolecules “MACRO ’87”*. Merseburg. – 1987. – P.171.

83. Домотенко Л.В. Влияние термической предыстории на структурно-механические свойства криогелей поливинилового спирта / Л.В. Домотенко, В.И. Лозинский, А.М. Мамцис [и др.] // В кн. *Процессы студнеобразования в полимерных системах*. Т. 1. (Тез. докл. Всесоюз. симп.). Саратов. – 1985. – С. 123-124.

84. Hyon S.-H. Preparation of transparent poly(vinyl alcohol) hydrogel / S.-H. Hyon, W.-I. Cha, Y. Ikada // *Polymer Bulletin*. – 1989. – V. 22. – P. 119-122.

85. Колосова О.Ю. Исследования влияния ряда хаотропных и космотронных веществ на физико-химические свойства криогелей поливинилового спирта / О.Ю. Колосова, Е.А. Кондратьева, В.И. Лозинский // *Успехи в химии и химической технологии* – 2013. – Т. 27. – №3. – С. 73-77.

86. Lozinsky V. I. Study of cryostructuration of polymer systems. XII. Poly (vinyl alcohol) cryogels: Influence of low-molecular electrolytes // *Journal of Applied Polymer Science*. – 1996. – V. 61. – №. 11. – P. 1991–1998.

87. Лозинский В.И. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 31. Влияние добавок хлоридов щелочных металлов на физико-химические свойства и

морфологию криогелей поливинилового спирта / В.И. Лозинский, Н.Г. Сахно, Л.Г. Дамшкалин [и др.] // Коллоидный журнал. – 2011. – Т. 73. – С. 234–243.

88. Л.И. Бондалетова, В.Г. Бондалетов. Полимерные композиционные материалы (часть 1): учебное пособие. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2013. – С. 118.

89. Inoue T. Gelled vinyl alcohol polymers and articles therefrom. US patent 3,875,302A, 1975.

90. Ikoma S. Preparation and some properties of poly(vinyl alcohol)-silica composite hydrogels / S. Ikoma, E. Nomoto, H. Yokoi // Kobunshi Ronbunshu. – 1990. – V.47. – P. 1001-1004.

91. Lozinsky V.I. Zubov A.I. Kulakova V.K. Titova E.F. Rogozhin S.V. Study of cryostructurization of polymer systems. IX. Poly(vinyl alcohol) cryogels filled with particles of cross-linked dextran gel / V.I. Lozinsky, A.I. Zubov, V.K. Kulakova [et al.] // Journal of Applied Polymer Science. – 1992. – V. 44. – P. 1423–1435.

92. Lozinsky V.I. Poly(vinyl alcohol) cryogels which are used as matrices for cell immobilization. 2. Entrapped cells resemble porous fillers in their effects on the properties of PVA-cryogel carrier / V.I. Lozinsky, A.L. Zubov, E.I. Titova // Enzyme and Microbial Technology. – 1997. – V. 20. – P. 182–190.

93. Лозинский В.И. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 22. Композитные криогели поливинилового спирта, наполненные дисперсными частицами различной гидрофильности/гидрофобности / В.И. Лозинский, И.Н. Савина // Коллоидный журнал. – 2002. – Т. 64. – С. 336–343.

94. Vernaya O.I. Cryochemical synthesis and antibacterial activity of hybrid nanocomposites based on dioxidine containing Ag and Cu nanoparticles incorporated in biopolymer cryostructurates / O.I. Vernaya, V.P. Shabatin, A.V. Nuzhdina // Russian Chemical Bulletin. – 2017. – V. 66. – P. 2152–2156.

95. Savina E.N. Study of cryostructuration of polymer systems. 24. Poly(vinyl alcohol) cryogels filled with particles of strong anion-exchanger: Properties of the composite materials and potential application / E.N. Savina, A. Hanora, F.M. Plieva [et al.] // Journal of Applied Polymer Science. – 2005. – V. 95. – P. 529–538.

96. Lozinsky V.I. Study of cryostructuring of polymer systems. 26. Heterophase organic-inorganic cryogels prepared via freezing-thawing of aqueous solutions of poly(vinyl alcohol) with added tetramethoxysilane / V.I. Lozinsky, I.V. Bakeeva, E.P. Presnyak [et al.] // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2007. – V. 105. – P. 2689–2702.
97. Kokabi M. PVA-clay nanocomposite hydrogels for wound dressing / M. Kokabi, M. Sirousazar, Z.M. Hassan // *European Polymer Journal*. – 2007. – V. 43. – P. 773–781.
98. Pan Y. Mechanical properties of nanohydroxyapatite reinforced poly(vinyl alcohol) gel composites as biomaterial / Y. Pan, D. Xiong, X. Chen // *Journal of Materials Science*. – 2007. – V. 42. – P. 5129–5134.
99. Millon L.E. Compression properties of polyvinyl alcohol–bacterial cellulose nanocomposite / L.E. Millon, C.J. Oates, W. Wan // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 2009. – V. 90. – P. 922–929.
100. Podorozhko E.A. Cryostructuring of polymer systems. 30. Poly(vinyl alcohol)-based composite cryogels filled with small disperse oil droplets: A gel system capable of mechanically-induced releasing of the lipophilic constituents / E.A. Podorozhko, A.A. Korlyukov, V.I. Lozinsky // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2010. – V. 117. – P. 1332–1349.
101. Maiolo, A.S.; Amado, M.N.; Gonzalez, J.S.; Alvarez, V.A. Development and characterization of poly(vinyl alcohol) hydrogels for potential use as an articular cartilage replacement / A.S. Maiolo, M.N. Amado, J.S. Gonzalez [et al.] // *Materials Science and Engineering: C*. – 2012. – V. 32. – P. 1490–1495.
102. Подорожко Е.А. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 34. Композитные криогели поливинилового спирта, наполненные микрочастицами полимерной дисперсии / Е.А. Подорожко, Е.А. Дьяконова, О.Ю. Колосова [и др.] // *Коллоидный журнал*. – 2012. – Т. 74. – С. 711–719.
103. Подорожко Е.А. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 37. Композитные криогели, сформированные из дисперсий бутадиен-стирольного

латекса в водном растворе поливинилового спирта / Е.А. Подорожко, Е.А. Дьяконова, В.И. Лозинский // Коллоидный журнал. – 2015. – Т. 77. – С. 46–57.

104. Timofejeva A. Calcium phosphate/polyvinyl alcohol composite hydrogels: A review on the freeze-thaw synthesis approach and applications in regenerative medicine / A. Timofejeva, M. D'Este, D. Loca // European Polymer Journal. – 2017. – V. 95. – P. 547–565.

105. Lozinsky V.I. A study of cryostructuring of polymeric systems. 45. Effect of porosity of dispersed filler on physicochemical characteristics of composite poly(vinyl alcohol) cryogels / V.I. Lozinsky, E.A. Podorozhko, Y.B. Nikitina [et al.] // Colloid Journal. – 2017. – V. 79. – P. 497–507.

106. Wang Y. Fabrication and characterization of metal organic frameworks/poly(vinyl alcohol) cryogel and their application in extraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs in water samples / Y. Wang, Y. Zhang, J. Cui [et al.] // Analytica Chimica Acta. – 2018. – V. 1022. – P. 45–52.

107. Altunina L.K. Effect of an oxidized polymeric petroleum resin on the properties of cryogels / L.K. Altunina, M.S. Fufaeva, V.N. Manzhai [et al.] // Chemistry for Sustainable Development. – 2019. – V. 27. – P. 120–125.

108. Reguieg F. Thermal characterization by DSC and TGA analyses of PVA hydrogels with organic and sodium MMT / F. Reguieg, L. Ricci, N. Bouyacoub [et al.] // Polymer Bulletin. – 2020. – V. 77. – P. 929–948.

109. Бакеева И.В. Криоструктурирование полимерных систем. 54. Гибридные органо-неорганические криогели поливинилового спирта, наполненные образующимся *in situ* кремнеземом / И.В. Бакеева, А.В. Докторова, Л.Г. Дамшкалн [и др.] // Коллоидный журнал. – 2021. – Т. 83. – С. 49–63.

110. Tamer T.M. Hemostatic and antibacterial PVA/kaolin composite sponges loaded with penicillin-streptomycin for wound dressing applications / T.M. Tamer, M.M. Sabet, A.M. Omer [et al.] // Scientific Reports. – 2021. – V. 11. – article 3428.

111. Lozinsky V.I. Cryostructuring of polymeric systems. 55. Retrospective view on the more than 40-years studies performed in the A.N.Nesmeyanov Institute of

Organoelement Compounds with respect of the cryostructuring processes in polymeric systems // *Gels*. – 2020. – V. 6. – article 29.

112. Колосова А.С. Наполнители для модификации современных полимерных композиционных материалов / А.С. Колосова, М.К. Сокольская, И.А. Виткалова [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2017. – №10. – С. 459 – 465.

113. Подорожко Е.А. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 39. Композитные криогели поливинилового спирта, наполненные микрочастицами хитозана / Е.А. Подорожко, И.А. Лунев, А.Н. Рябен [и др.] // *Коллоидный журнал*. – 2015. – Т. 77. - №2. – С. 197-206.

114. Gomes C. Poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) Nanoparticles with Entrapped trans-Cinnamaldehyde and Eugenol for Antimicrobial Delivery Applications / C. Gomes, R.G. Moreira, E. Perez-Castell // *Journal of Food Science*. – 2011. – V. 76. - №2. – P. 16-24.

115. Cascone M.G. Poly(vinyl alcohol) hydrogels as hydrophilic matrices for the release of lipophilic drugs loaded in PLGA nanoparticles / M.G. Cascone, Z. Zhu, F. Borselli [et al.] // *Journal of Material Science: Materials in Medicine*. – 2002. – V. 13. – P. 29-32.

116. Long J. Development of a Long-Term Drug Delivery System with Levonorgestrel-Loaded Chitosan Microspheres Embedded in Poly(vinyl alcohol) Hydrogel / J. Long, E.A. Etxeberria, C. Kornelsen [et al.] // *Applied Biomaterials*. – 2019. – V. 2. – P. 2766-2779.

117. Mandal T.K. Poly(D,L-lactide-co-glycolide) encapsulated poly(vinyl alcohol) hydrogel as a drug delivery system / T.K. Mandal, L.A. Bostanian, R.A. Graves [et al.] // *Pharmaceutical Research*. – 2002. – V. 19. – P. 1713–1719.

118. Spiller K.L. A novel method for the direct fabrication of growth factor-loaded microspheres within porous nondegradable hydrogels: Controlled release for cartilage tissue engineering / K.L. Spiller, Y. Liu, J.L. Holloway [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2012. – V. 157. – P. 39–45.

119. Lee M. Freezing/thawing processing of PVA in the preparation of structured microspheres for protein drug delivery / M. Lee, H. Bae, N. Chung [et al.] // *Macromolecular Research*. – 2011. – V. 19. – P. 130–136.

120. Liu J. Controlled release of insulin from PLGA nanoparticles embedded within PVA hydrogels / J. Liu, S.M. Zhang, P.P. Chen [et al.] // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2007. – V. 18. – P. 2205–2210.

121. Подорожко Е.А. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 59. Влияние криогенной обработки предварительно деформированных криогелей поливинилового спирта на их физико-химические свойства / Е.А. Подорожко, М.И. Бузин, Е.К. Голубев [и др.] // *Коллоидный журнал*. – 2021. – Т. 83. - № 5. - С. 602–610.

122. Лозинский В.И. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 33. Влияние скорости охлаждения водных растворов поливинилового спирта при их замораживании на физико-химические свойства и пористую структуру получаемых криогелей / В.И. Лозинский, Л.Г. Дамшкалн, И.Н. Курочкин [и др.] // *Коллоидный журнал*. – 2012. – Т. 74. - № 3. – С. 343–352.

123. Подорожко Е.А. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 51. Совместное влияние пористых целлюлозосодержащих дисперсных наполнителей и высаливающих электролитов на физико-химические свойства композитных криогелей поливинилового спирта / Е.А. Подорожко, В.Г. Васильев, Н.К. Васильев [и др.] // *Коллоидный журнал*. – 2019. – Т. 81. - № 3. – С. 326–337.

124. Lozinsky V.I. Poly(vinyl alcohol) cryogels which are used as matrices for cell immobilization. 2. Entrapped cells resemble porous fillers in their effects on the properties of PVA-cryogel carrier / V.I. Lozinsky, A.L. Zubov, E.I. Titova // *Enzyme and Microbial Technology*. – 1997. – V. 20. - №3. – P. 182-190.

125. Aslanli A. Enzymatically Functionalized Composite Materials Based on Nanocellulose and Poly(Vinyl Alcohol) Cryogel and Possessing Antimicrobial Activity / A. Aslanli, N. Stepanov, T. Razheva [et al.] // *Materials*. – 2019. – V. 12. – article 3619.

126. Lozinsky V.I. Study of cryostructurization of polymer systems. IX. Poly(vinyl alcohol) cryogels filled with particles of crosslinked dextran gel / V.I. Lozinsky, A.I.

Zubov, V.K. Kulakova [et al.] // Journal of Applied Polymer Science. – 1992. – V. 44. - № 8. – P. 1423-1435.

127. Савина И.Н. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 23. Композитные криогели поливинилового спирта, наполненные дисперсными частицами, содержащими ионогенные группировки / И.Н. Савина, В.И. Лозинский // Коллоидный журнал. – 2004. – Т. 66. – С. 343–349.

128. Savina I.N. Study of cryostructuring of polymer systems. XXIV. Poly(vinyl alcohol) cryogels filled with particles of strong anion-exchanger: properties of the composite materials and potential application / I.N. Savina, A. Hanora, F.M. Plieva [et al.] // Journal of Applied Polymer Science. – 2005. – V. 95. - № 3. – P. 529-538.

129. Бакеева И.В. Криогели поливинилового спирта, сформированные из растворов полимера в диметилсульфоксиде с добавками тетраметоксисилана / И.В. Бакеева, М.А. Орлова, В.И. Лозинский // Тонкие Химические Технологии. – 2019. – Т. 14. – С. 41-50.

130. Домотенко Л.В. Влияние режимов замораживания водных растворов поливинилового спирта и условий размораживания образцов на свойства получающихся при этом криогелей / Л.В. Домотенко, В.И. Лозинский, Е.С. Вайнерман [и др.] // Высокомолекулярные соединения. – 1988. – Т. 30А. - № 8. – С. 1661-1666.

131. Bonartsev A.P. New poly (3-hydroxybutyrate) microparticles with paclitaxel sustained release for intraperitoneal administration / A.P. Bonartsev, A.L. Zernov, S.G. Yakovlev [et al.] // Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry. – 2017. – V. 17. – P. 434–441.

132. Kolosova O.Y. Cryostructuring of polymeric systems. 48. Influence of organic chaotropes and kosmotropes on the cryotropic gel-formation of aqueous poly(vinyl alcohol) solutions / O.Y. Kolosova, I.N. Kurochkin, I.I. Kurochkin [et al.] // European Polymer Journal. – 2018. –V. 102. – P. 169–177.

133. Pritchard J.G. Poly(vinyl alcohol): Basic Properties and Uses. // Gordon & Breach Science Publish: London, UK. – 1970. – P. 139.

134. Masuda K. CP/MAS ^{13}C NMR analyses of the chain conformation and hydrogen bonding for frozen poly(vinyl alcohol) solutions / K. Masuda, F. Horii // *Macromolecules*. – 1998. – V. 31. – P. 5810-5817.

135. Ricciardi R. Investigation of the crystallinity of freeze/thaw poly(vinyl alcohol) hydrogels by different techniques / R. Ricciardi, F. Auriemma, C. Gaillet [et al.] // *Macromolecules*. – 2004. – V. 37. – P. 9510-9516.

136. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. // пер. с англ., М.: «Мир». – 1976. – С. 14.

137. Лозинский В.И. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 46. Физико-химические свойства и микроструктура криогелей поливинилового спирта, сформированных из растворов полимера в смесях диметилсульфоксида с низкомолекулярными спиртами / В.И. Лозинский, И.М. Леонова, Р.В. Иванов [и др.] // *Коллоидный журнал*. – 2017. – Т. 79. – С. 756-765.

138. Dimethyl Sulfoxide Solubility Data. // Gaylord Chemical Company, LLC, Slidell, LA, USA. 2014, Bulletin 102.

139. Weibull W. A statistical distribution function of wide applicability // *Journal of Applied Mechanics*. – 1951. – V. 18. – P. 293-297.

140. Papadopoulou V. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms / V. Papadopoulou, K. Kosmidis, M. Vlachou [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2006. – V. 309. – P. 44–50.

141. Kolosova O.Yu. Cryostructuring of polymeric systems. 58. Influence of the $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ -type amino acid additives on formation, properties, microstructure and drug release behaviour of poly(vinyl alcohol) cryogels / O.Yu. Kolosova, P.A. Karelina, V.G. Vasil'ev [et al.] // *Reactive and Functional Polymers*. – 2021. – V. 167. – article 105010.

142. Пиментел Дж., Мак-Клеллан О. Водородная связь. Пер. с англ. М: Мир. – 1964. – С. 464.

143. Shishatskaya E.I. Degradation of p(3HB) and p(3HB-co-3HV) in biological media / E.I. Shishatskaya, T.G. Volova, S.A. Gordeev [et al.] // *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. – 2005. – V. 16. – P. 643–657.

144. Zhang J. Polyhydroxyalkanoates (PHA) for therapeutic applications / J. Zhang, E.I. Shishatskaya, T.G. Volova [et al.] // *Materials Science and Engineering: C*. – 2018. – V. 86. – P. 144-150.
145. Bonartsev A.P. Poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate)-based biopolymer systems / A.P. Bonartsev, G.A. Bonartseva, K.V. Shaitan [et al.] // *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. – 2011. – № 5. – P. 10-21.
146. Terada M. Determination of solubility parameters for poly(3-hydroxyalkanoates) / M. Terada, R.H. Marchessault // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 1999. – V. 25. – P. 207–215.
150. Lipatov Y.S. Relaxation and viscoelastic properties of heterogeneous polymeric compositions // *Advances in Polymer Science*. – 1977. – V. 22. – P. 1–59.
151. Kudaibergenov, S.E.; Ibraeva, Z.E.; Yashkarova, M.G.; Bekturov, E.A. *Hydrogel Composite Materials*; Shakarim State University Publisher: Semei, Kazakhstan. – 2011. - P.148.
152. Soni G. High encapsulation efficiency of poloxamer-based injectable thermoresponsive hydrogels of etoposide / G. Soni, K.S. Yadav // *Pharmaceutical Development and Technology*. – 2014. – V. 19. - №6. – P. 651-661.
153. Bruschi M.L. *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems* // Woodhead Publishing. – 2015. – P. 63-86.
154. Lozinsky V.I. Cryostructuring of polymeric systems. 36. Poly(vinyl alcohol) cryogels prepared from solutions of the polymer in water/low-molecular alcohol mixtures / V.I. Lozinsky, L.G. Damshkaln, I.N. Kurochkin [et al.] // *European Polymer Journal*. – 2014. – № 53. – P. 189-205.

**ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
МИЧУРОВА ДМИТРИЯ АЛЕКСЕЕВИЧА**

1. Мичуров Д.А. Свойства криогелей поливинилового спирта, сформированных в среде диметилсульфоксида с добавками мочевины / Д.А. Мичуров, О.Ю. Колосова, В.И. Лозинский // Успехи в химии и химической технологии. – 2018. – Т. 32. - № 6. – С. 92 - 93.
2. Lozinsky V.I. Cryostructuring of polymeric systems. 49. Unexpected “kosmotropic-like” impact of organic chaotropes on freeze–thaw-induced gelation of PVA in DMSO / V.I. Lozinsky, O.Yu. Kolosova, D.A. Michurov, A.S. Dubovik, V.G. Vasil’ev, V.Ya. Grinberg // Gels. – 2018. – V. 4. - №4. – P. 81 - 101.
3. Колосова О.Ю., Лозинский В.И., Мичуров Д.А. Полимерная композиция для получения криогелей поливинилового спирта и способ повышения их жесткости и теплостойкости // Патент России № 2 678 281. 2019.
4. Мичуров Д.А. Влияние температуры криотропного гелеобразования на свойства криогелей поливинилового спирта, сформированных в среде диметилсульфоксида с хаотропными добавками / Д.А. Мичуров, О.Ю. Колосова, В.И. Лозинский // Успехи в химии и химической технологии. – 2020. – Т. 34. № 7. – С. 102 - 104.
5. Мичуров Д.А. Зависимость свойств криогелей поливинилового спирта, сформированных в среде диметилсульфоксида с хаотропными добавками, от температуры замораживания / Д.А. Мичуров, О.Ю. Колосова // Шестой междисциплинарный научный форум с международным участием "Новые материалы и перспективные технологии". Сборник Материалов. – 2020. – Т. 2. – С. 322 - 326.
6. Michurov D.A. Cryo-structuring of polymeric systems. Poly(vinyl alcohol)-based cryogels loaded with the poly(3-hydroxybutyrate) microbeads and the evaluation of such composites as the delivery vehicles for simvastatin / D.A. Michurov, T.K. Makhina, V. Siracusa, A.P. Bonartsev, V.I. Lozinsky, A.L. Iordanskii // Polymers. – 2022. – V. 14. – P. 2196.
7. Michurov D.A. Cryostructuring of polymeric systems. 61. Physicochemical properties of poly(vinyl alcohol) cryogels prepared on the basis of urea-containing DMSO-solutions

of the polymer and evaluation of the resultant gel materials as potential drug carriers / D.A. Michurov, O.Yu. Kolosova, V.I. Lozinsky // Bulletin of the University of Karaganda – Chemistry. – 2022. – V. 107. - № 3. – P. 75-86.

8. Мичуров Д.А. Изучение криоструктурирования полимерных систем. 66. Свойства и микроструктура криогелей поливинилового спирта, сформированных в замороженном диметилсульфоксиде с добавками мочевины и далее гидратированных замещением органической среды на воду / Д.А. Мичуров, О.Ю. Колосова, В.И. Лозинский // Коллоидный журнал. – 2023. – Т. 85. - № 6. – С. 768-780.

9. Андреасян Г.А. Наполненные микросферами биоразлагаемого полиэфира композитные криогели поливинилового спирта в качестве носителей лекарственных веществ / Г.А. Андреасян, Д.А. Мичуров, В.И. Лозинский // Успехи в химии и химической технологии. – 2023. – Т. 37. - № 6. – С. 10 -12.

10. Мичуров Д.А. Влияние добавок мочевины на свойства криогелей поливинилового спирта, сформированных в среде диметилсульфоксида // Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2018», Москва, РФ, 2018, С. 72.

11. Kolosova O.Yu, Michurov D.A., Lozinsky V.I. Influence of chaotropic additives on the properties of poly(vinyl alcohol) cryogels formed in dimethylsulfoxide media // V International Conference on Colloid Chemistry and Physicochemical Mechanics, Saint Petersburg, RF, 2018, P. 118.

12. Lozinsky V.I., Michurov D.A., Kolosova O.Yu. Properties of poly (vinyl alcohol) cryogels formed in the presence pf chaotropic agents in dimethylsulfoxide media // «Modern problems of polymer science» 14th International Saint Petersburg Young Scientists Conference, Saint Petersburg, RF, 2018, С. 107.

13. Мичуров Д.А., Колосова О.Ю., Лозинский В.И. Свойства криогелей поливинилового спирта, сформированных в среде диметилсульфоксида с добавками мочевины // XXXII Международная конференция молодых ученых по химии и химической технологии «МКХТ-2018», Москва, РФ, 2018, С.92.

14. Мичуров Д.А., Колосова О.Ю., Лозинский В.И. Свойства криогелей поливинилового спирта, сформированных в среде диметилсульфоксида // V Всероссийская студенческая конференция с международным участием «Химия и химическое образование XXI века», Санкт-Петербург, РФ, 2019, С. 55.
15. Lozinky V.I., Damshkaln L.G., Kolosova O.Yu, Michurov D.A. Amazing gel materials – poly(vinyl alcohol) cryogels // Всероссийская конференция с международным участием «Химия элементоорганических соединений и полимеров 2019», Москва, РФ, 2019, С. 68.
16. Мичуров Д.А., Колосова О.Ю. Зависимость свойств криогелей поливинилового спирта, сформированных в среде диметилсульфоксида с хаотропными добавками, от температуры замораживания // Шестой междисциплинарный научный форум с международным участием «Новые материалы и перспективные технологии», Москва, РФ, 2020, С. 322
17. Мичуров Д.А., Колосова О.Ю., Лозинский В.И. Влияние температуры криотропного гелеобразования на свойства криогелей поливинилового спирта, сформированных в среде диметилсульфоксида с хаотропными добавками // XVI Международный конгресс по химии и химической технологии (МКХТ-2020), Москва, РФ, 2020, С. 102.
18. Мичуров Д.А. Композитные криогели на основе поливинилового спирта и поли-3-оксибутирата в качестве систем для доставки лекарственных веществ // Школа-конференция для молодых ученых - Самоорганизация в «мягких» средах: достижения и современное состояние, Москва, РФ, 2022, С. 51.
19. Мичуров Д.А., Лозинский В.И. Композитные криогели на основе смесей поливинилового спирта и поли(3-оксимасляной кислоты), полученные в среде общего растворителя // Всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы науки о полимерах», Санкт-Петербург, РФ, 2023, С. 411.