

## Влияние хитозана на ориентационно-мицеллярное упорядочение гель-фазы плуроника F-127 в водной среде

© Н.О. Гегель, В.Н. Харламов, А.Б. Шиповская

Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, 410012 Саратов, Россия

e-mail: GegelNO@yandex.ru

Поступила в редакцию 23.12.2021 г.

В окончательной редакции 21.01.2022 г.

Принята к публикации 22.03.2022 г.

Методами поляризационной микроскопии и ротационной вискозиметрии изучено влияние хитозана на ориентационно-мицеллярную ассоциацию плуроника F-127 в водной среде в диапазоне 4–37°C. Установлено, что данный амфифильный сополимер претерпевает при повышении температуры фазовый переход в формоустойчивый гидрогель, характеризующийся оптическим дихроизмом и реограммами вязкости с пределом текучести. Добавка хитозана подавляет эффект оптической анизотропии, влияет на время гелеобразования и вязкоупругие характеристики бинарной смеси с реализацией кривых течения дилатантных жидкостей, либо структурированных композиций с разным уровнем мицеллярного упорядочения. Обнаружена корреляция между оптической текстурой макроскопической гель-фазы плуроника F-127, его смесей с хитозаном и вязкоупругими свойствами полимерной системы.

**Ключевые слова:** плуроник F-127, хитозан, золь-гель переход, мицеллярная фаза, ориентационное упорядочение.

DOI: 10.21883/OS.2022.06.52623.25-22

### Введение

Гидрогели амфифильных сополимеров этиленоксида и пропиленоксида (плуроники), проявляющих самоорганизацию макроцепей с формированием надмолекулярных образований при изменении физических параметров системы, представляют большой интерес в области биомедицины и фармацевтики для стабилизации коллоидных суспензий и адресной доставки лекарств [1,2], а также в качестве самовосстанавливающихся оптических материалов [3]. Баланс гидрофильно-гидрофобных свойств таких объектов определяется концентрацией сополимера и температурой. Например, плуроник F-127 (PI F-127) — симметричный триблок-сополимер, относящийся к классу неионогенных поверхностно-активных веществ (ПАВ), в водной среде при температуре 4–5°C и ниже образует полимерный золь, а при нагревании до 20–25°C и выше претерпевает обратимый переход в формоустойчивый гель [3–5]. Установлено, что при низкой температуре блоки полиэтиленоксида и полипропиленоксида гидрофильны и сополимерные цепи (унимеры) PI F-127 равномерно распределены в объеме раствора, а при повышении температуры самопроизвольно агрегируют в сферические или эллипсоидные структуры (мицеллы) с гидрофобным ядром из блоков полипропиленоксида и гидрофильной оболочкой из блоков полиэтиленоксида [6]. При высокой концентрации плуроника „динамическое“ равновесие между унимерами и отдельными мицеллами смещается в сторону мицеллярных агрегатов и система претерпевает переход в лиотропную жидкокристаллическую (ЖК) фазу с кубической или

гексагональной упаковкой [5,7,8]. Мезофазы характеризуются высокой вязкостью, имеют предел текучести и не проявляют признаки макроскопического течения под действием гравитационных сил [5]. Благодаря такому фазовому поведению смеси PI F-127 с биологически активными полимерами, в частности хитозаном [9,10], могут стать весьма перспективными для получения термочувствительных полимерных гидрогелей с высокой фармакологической активностью.

Процесс мицеллизации плуроников в водной среде достаточно детально описан в литературе [5,7,8,11]. Показано, что мицеллярная форма структурной организации плуроников разрушается при подкислении или разбавлении вследствие гидратации гидрофобных блоков пропиленоксида [12,13]. Это повышает температуру золь-гель перехода и замедляет гелеобразование. Для оценки самосборки унимеров в макромолекулярные агрегаты используют флуоресцентную спектроскопию [14], светорассеяние [15], ядерный магнитный резонанс [16], малоугловое рассеяние нейтронов [17], капиллярную вискозиметрию [18]. Метод ротационной вискозиметрии также чувствителен к изменению надмолекулярного упорядочения PI F-127 и позволяет по характеру кривых течения оценить фазовое состояние системы [13].

Характеризация структуры микросегрегированной фазы плуроника микроскопическими методами применяется крайне редко. В случае электронной микроскопии это обусловлено сложностью пробоподготовки образцов, поляризационной микроскопии — малоинтенсивным двулучепреломлением, поскольку внутренняя часть

мицелл амфифильных сополимеров менее упорядочена в сравнении с низкомолекулярными ПАВ. Между тем оптическая микроскопия весьма информативна как при оценке характерных особенностей ЖК-фазы [19], так и мицеллярного упорядочения блочных сополимеров [5,20]. Так, крио-трансмиссионная электронная микроскопия визуализировала эволюцию агрегирования отдельных мицелл в супрамолекулярные ориентированные домены по мере повышения концентрации PI F-127 [20]. Поляризационная микроскопия показала, что в зависимости от длины макроцепи и концентрации пльороника формируется лиотропная мезофаза с палочкообразной, полосатой или веерообразной текстурой, либо складчатые ламеллярные кристаллы (сферолиты) [5]. Тем не менее вопрос визуализации термообратимого надмолекулярного упорядочения мицелл PI F-127 в сочетании с оценкой вязкостных свойств и характера течения таких высокоорганизованных композиций остается практически не исследованным.

Исследование влияния хитозана на процесс мицеллизации PI F-127 также представлено немногочисленными публикациями, не позволяющими сделать однозначный вывод о роли данной добавки в мицеллярной агрегации полимерной системы. Установлено, что введение небольших порций хитозана, несмотря на образование сетки межмолекулярных контактов с PI F-127, повышает порог гелеобразования бинарной смеси и приводит к формированию более гидратированной и менее плотной структуры по сравнению с индивидуальным сополимером [21,22]. В работе [23] также обнаружено разрушение мицеллярной архитектуры пльороника в присутствии хитозана при повышении кислотности среды ( $\text{pH} \sim 2.8\text{--}3.5$ ). В то же время авторы [24] обнаружили, что небольшие добавки хитозана способствуют дегидратации ядра мицеллы пльороника, аккомодации несвязанной воды, повышению вязкости и улучшению гелирования. Вероятно, различный характер влияния хитозана на мицеллярную структуру пльороника может быть обусловлен разным соотношением компонентов в бинарной смеси.

Цель настоящей работы — изучение влияния добавок хитозана на агрегированную мицеллярную фазу пльороника F-127, образующуюся при термическом золь-гель переходе, в широком соотношении компонентов бинарной смеси.

## Материалы и методы

Использовали: триблок-сополимер PI F-127 состава [полиэтиленоксид]<sub>106</sub>[полипропиленоксид]<sub>70</sub>[полиэтиленоксид]<sub>106</sub> с молекулярной массой 12.6 kDa (Sigma-Aldrich, США); гидрохлорид хитозана (CS·HCl) со средней вязкостной молекулярной массой 70 kDa и степенью деацетилирования 79.8 mol.% (ЗАО „Биопрогресс“, РФ); дистиллированную воду. Образцы полимеров были квалификации х.ч. и использовались без дополнительной

очистки. Раствор PI F-127 концентрации 20 mas.% готовили растворением навески сополимера в дистиллированной воде при 4°C в холодильной камере Liebherr LKPrv 6520 (Германия), поскольку данная система характеризуется нижней критической температурой смешения [3,5]. Раствор CS·HCl концентрации 8 mas.% готовили растворением навески порошка полимера в дистиллированной воде при  $\sim 22 \pm 2^\circ\text{C}$  в условиях комнатной атмосферы. Композиции PI F-127:CS·HCl получали смешением исходных растворов в объемном соотношении (vol.%) 90:10, 70:30, 50:50 и исследовали при 4, 25 и 37°C, время термостатирования составило 30 min.

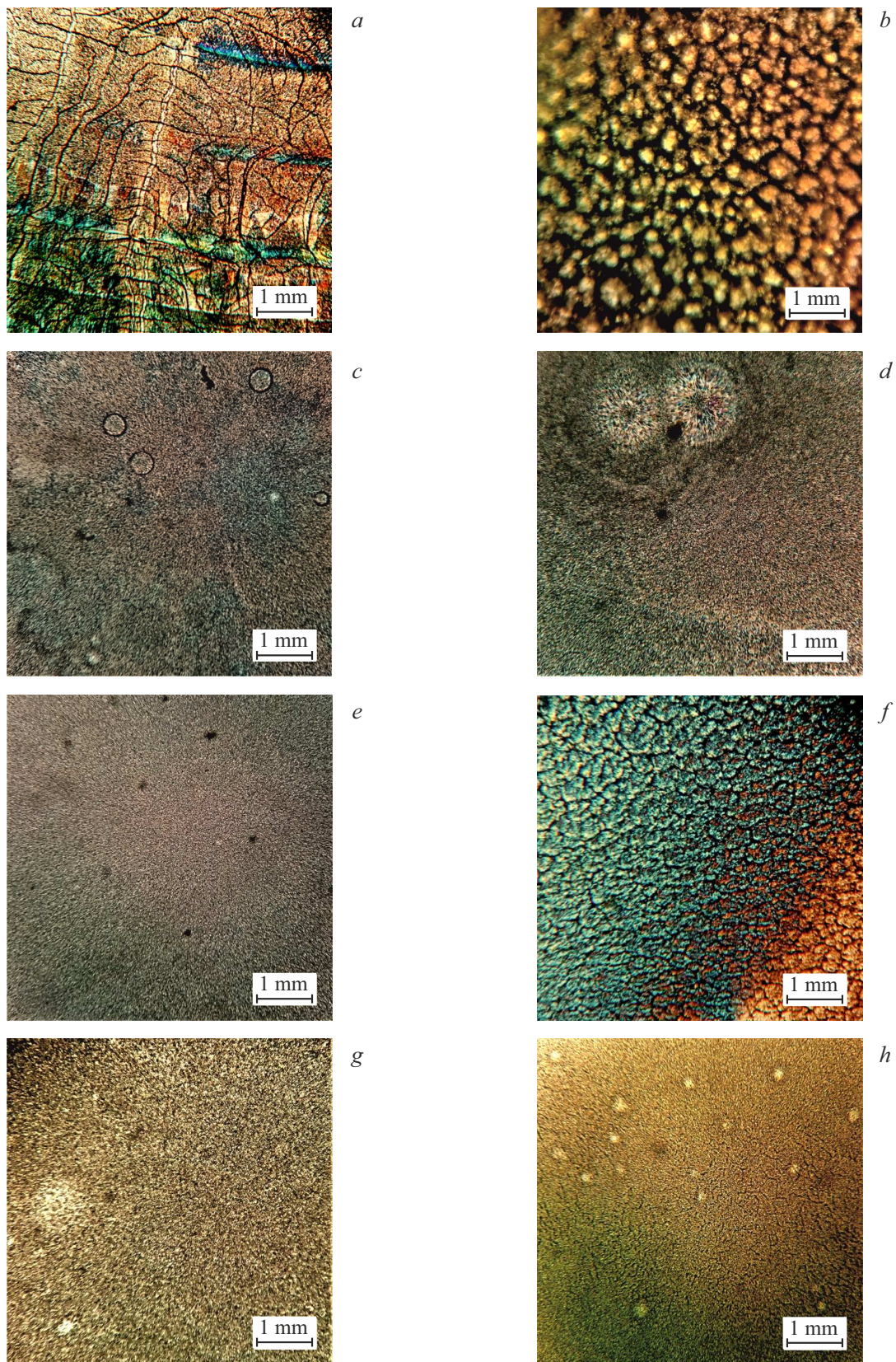
Оценку гелеобразования проводили визуально по отсутствию течения композиции методом „переворачивания“ колбы [10].

Наблюдения в поляризованном свете проводили на поляризационном микроскопе ЛабoПол-2, объектив с увеличением 10× (РФ) с USB камерой DMC 300 — 3 Mpx (China), при скрещенных поляризаторе и анализаторе. Каплю исследуемой системы наносили на тонкую стеклянную подложку, помещали в герметически закрытую стеклянную камеру и термостатировали при выбранной температуре до формирования устойчивой во времени картины поляризации на нагревательном столе прибора контроля и регулирования температуры УКРТ-3 (РФ). Методика препарирования образцов описана в [25].

Реограммы вязкости  $\lg \eta = f(\lg \tau)$ , где  $\eta$  — вязкость (mPa·s),  $\tau$  — напряжение сдвига (Па), снимали на ротационном вискозиметре Rheotest RN 4.1 (Германия) с рабочим узлом „цилиндр-цилиндр“ (внутренний цилиндр H<sub>2</sub>, объем исследуемого раствора 50 ml) в области  $\lg \tau = 0.1\text{--}3.0$  [Pa].

## Результаты и их обсуждение

Водные растворы индивидуального PI F-127 при температуре 4°C в поляризованном свете прозрачные и оптически изотропные. При нагревании до 25–37°C наблюдается быстрый (3–5 min) спонтанный переход в формоустойчивый гидрогель вследствие самосборки унимеров в мицеллы и мицеллярные кластеры. При этом в поляризационном микроскопе наблюдается характерное для ЖК-упорядочения явление дихроизма локальных фрагментов тонкого слоя гидрогеля, хотя и не очень ярко выраженное (рис. 1, *a, b*), что типично для высокомолекулярных объектов. Согласно фазовой диаграмме PI F-127 + H<sub>2</sub>O [5,11], растворы сополимера используемой в работе концентрации образуют при 25°C мицеллярную кубическую фазу, а при 37°C — мицеллярную гексагональную фазу. Можно считать, что полученные оптические текстуры соответствуют данным типам мицеллярной сегрегации вещества. Поворот предметного столика микроскопа на 35°–40° приводит к исчезновению оптического дихроизма, что подтверждает формирование лиотропной мезофазы.



**Рис. 1.** Текстуры мицеллярной фазы PI F-127 (*a, b*) и водных смесей PI F-127:CS-HCl в объемном соотношении (vol.%) 90:10 (*c, d*), 70:30 (*e, f*) и 50:50 (*g, h*) в поляризационном свете при скрещенных поляризаторе и анализаторе: *a* — анизотропная кубическая, *b, f* — анизотропная гексагональная, *c, e, g* — изотропная, *d* — изотропная со сферолитными включениями, *h* — изотропная с доменной структурой.

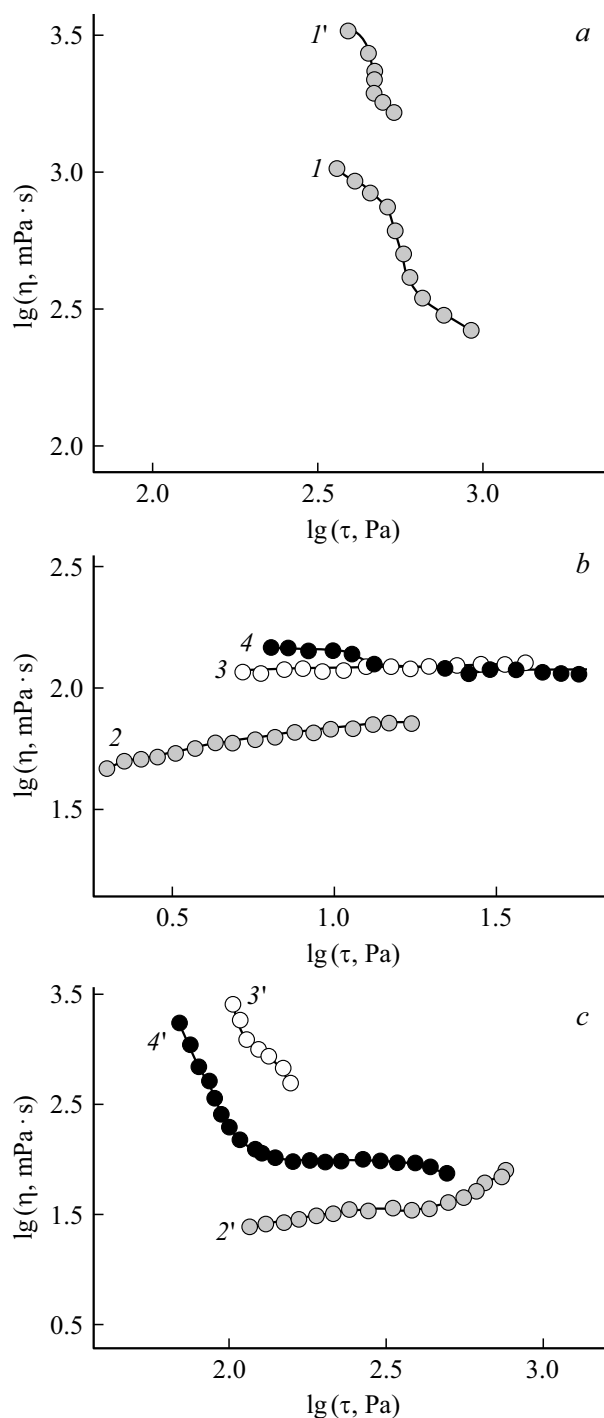
Водные растворы CS·HCl при 25–37°C, как и индивидуальны PI F-127 при 4°C, не проявляют оптической анизотропии. Бинарные смеси PI F-127:CS·HCl при 4°C жидкие и изотропные, а в диапазоне температуры 25–37°C — вязкоупругие и с признаками двойного лучепреломления. Однако количество вводимой добавки существенно влияет как на время фазового перехода и формоустойчивость гель-фазы, так и на оптические характеристики образующихся текстур, яркость свечения которых уменьшается по мере повышения CS·HCl в системе.

Так, при содержании 10 vol.% CS·HCl в смеси и повышении температуры образуется „мягкая“ неформоустойчивая гидрогелевая композиция. При 25°C ее текстура состоит из плотноупакованных практически изотропно ориентированных мицелл (рис. 1, *c*). Такое упорядочение может быть обусловлено диспергированием мицеллярной кубической фазы PI F-127 в присутствии CS·HCl [20], либо гидратацией ядер мицеллярных кластеров или повышением доли унимерных цепей [13]. При 37°C система двухфазна и наряду с неупорядоченной мицеллярной фазой в смеси PI F-127:CS·HCl = 90:10 присутствуют оптически анизотропные сферолитные надмолекулярные образования (рис. 1, *d*). Возможно, агрегирование мицелл в кубическую фазу в данной смеси будет происходить при более высоких температурах.

Повышение содержания CS·HCl до 30 vol.% увеличивает время гелеобразования при 25°C до 7–8 min в сравнении с PI F-127, но не приводит к существенным изменениям морфоструктуры смеси (рис. 1, *e*) в сравнении с меньшей добавкой хитозана. При 37°C гелирование протекает в течение 1–2 min с реализацией анизотропного мицеллярного упорядочения (рис. 1, *f*). Однако текстура организованной фазы гидрогеля PI F-127:CS·HCl = 70:30 отличается от геометрии мицеллярной фазы PI F-127 более уплотненной надмолекулярной организацией.

При увеличении CS·HCl до 50 vol.% золь-гель переход при 25°C не наблюдается, а при 37°C реализуется в течение 35–40 min. Эффект оптической анизотропии практически утрачивается и система характеризуется изотропным мицеллярным упорядочением (рис. 1, *g, h*). Вероятно, большие порции CS·HCl, повышающие кислотность смесевой композиции, затрудняют ориентационную упаковку мицелл PI F-127 [12]. Тем не менее повышение температуры способствует дегидрированию блоков пропиленоксида, вследствие чего текстурные характеристики смеси PI F-127:CS·HCl = 50:50 при 37°C показывают признаки хоть и изотропной, но доменно-организованной структуры (рис. 1, *h*).

Реологический анализ смесей PI F-127:CS·HCl полностью согласуется с результатами поляризационной микроскопии. Анизотропные мицеллярные водные растворы PI F-127 с кубическим и гексагональным упорядочением при 25 и 37°C характеризуются высокой вязкостью и реограммами вязкоупругих структурированных композиций с пределом прочности (рис. 2, *a*,



**Рис. 2.** Реограммы вязкости: *a* — анизотропной мицеллярной системы PI F-127 (*I, I'*); *b, c* — водных смесей PI F-127:CS·HCl в объемном соотношении (vol.%) 90:10 (*2, 2'*), 70:30 (*3, 3'*) и 50:50 (*4, 4'*) при 25 (*I–4*) и 37°C (*I'–4'*).

кривые *I, I'*), к которым относятся гидрогели полимеров [26] и лиотропные ЖК полимерные фазы [25]. Введение 10 vol.% CS·HCl приводит к снижению вязкости бинарной смеси (практически на два порядка) и изменению характера вязкого течения системы. Композиция PI F-127:CS·HCl = 90:10 при обеих температурах

описывается зависимостью  $\lg \eta = f(\lg \tau)$  дилатантных жидкостей, вязкость которых возрастает с увеличением сдвигового напряжения (рис. 2, *b, c*; кривые 2 и 2'). Аналогичное поведение наблюдается и для смеси PI F-127:CS:HCl=70:30 при 25°C (рис. 2, *b*; кривая 3). В то же время ее нагревание до 37°C сопровождается структурированием и реализацией таких же кривых течения (рис. 2, *c*; кривая 3'), что и для индивидуального плуроника, что свидетельствует о фазовом переходе жидкость–гидрогель. Значение вязкости и предельного напряжения сдвига ( $\tau_k$ ), ниже которого система ведет себя как упругое тело, данной смеси и PI F-127 также близки. Композиция PI F-127:CS:HCl=50:50 при 25°C описывается классическими для полимерных систем реограммами с областями наибольшей ньютоновской и структурной вязкости (рис. 2, *b*; кривая 4). Характер течения в этом случае указывает на дезагрегацию межмолекулярных мицеллярных кластеров. При 37°C на зависимости  $\lg \eta = f(\lg \tau)$  появляется резко спадающая ветвь структурной вязкости, подтверждающая золь-гель переход композиции данного состава в изотропно агрегированную мицеллярную гель-фазу (рис. 2, *b*; кривая 4'). Несмотря на это, значения  $\eta$  и  $\tau_k$  смеси при соотношении компонентов 50:50 ниже, чем при соотношении 70:30 и соответственно по сравнению с PI F-127.

## Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований визуализированы особенности поляризационного свечения мицеллярных фаз PI F-127 и его смесей с CS:HCl в соотношении компонентов 90:10–50:50 и оценены вязкоупругие свойства композиций в условиях сдвиговой деформации. Индивидуальный PI F-127, характеризующийся в водной среде кубическим и гексагональным мицеллярным упорядочением, показывает наиболее интенсивное двулучепреломление и течение высокоориентированных систем. Добавка CS:HCl в зависимости от ее содержания в бинарной смеси PI F-127:CS:HCl, может как разрушать, так и стабилизировать организованную структуру плуроника. Оптимальным для получения стабильных и анизотропно ориентированных мицеллярных гель-фаз является соотношение компонентов 70:30. Смесевая композиция данного состава обладает повышенной вязкостью, проявляет высокий уровень структурообразования анизотропных элементов и содержит минимально необходимое для гелирования количество триблок-сополимера. Обнаруженная корреляция между оптической текстурой макроскопической фазы, показывающей ее надмолекулярную организацию, и реограммами вязкости могут быть использованы для управления структурой и функциональными свойствами полимерной системы при разработке термочувствительных гидрогелей PI F-127:CS:HCl.

## Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям РФ (госконтракт № 15095ГУ/2020).

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] A. Kelly, M. Isreb, M. Babenko, N. Mahmoudi, S. Rogers, O. Shebanova, T. Snow, T. Gough. *J. Colloid. Interf. Sci.*, **565**, 119 (2020).
- [2] A.M. Bodratti, P. Alexandridis. *J. Funct. Biomater.*, **9** (1), 11 (2018).
- [3] A.L. Nikolaeva, V.N. Bocharov, S.A. Povarov. *Opt. Spectrosc.*, **122** (2), 243 (2017).
- [4] G. Dumortier, J.L. Grossiord, F. Agnely, J.C. Chaumeil. *Pharm. Res.*, **23** (12), 2709 (2006).
- [5] G. Wanka, H. Hoffmann, W. Ulbricht. *Macromolec.*, **27** (15), 4145 (1994).
- [6] C. Branca, G. D'Angelo. *J. Colloid. Interf. Sci.*, **542**, 289 (2019).
- [7] J.J. Escobar-Chávez, M. López-Cervantes, A. Naik, Y.N. Kalia, D. Quintanar-Guerrero, A. Ganem-Quintanar. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **9** (3), 339 (2006).
- [8] A. Kumari, N. Sharma, P.K. Sharma. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, **16** (8), 1022 (2012).
- [9] A.B. Shipovskaya, O.N. Malinkina, N.O. Gegel, I.V. Zudina, T.N. Lugovitskaya. *Russ. Chem. Bull.*, **70** (9), 1765 (2021).
- [10] N.O. Gegel, Yu.Yu. Zhuravleva, A.B. Shipovskaya, O.N. Malinkina, I.V. Zudina. *Polymers*, **10** (3), 259 (2018).
- [11] M. Malmsten. *Soft Matt.*, **2** (9), 760 (2006).
- [12] V.V. Kardumyan, N.A. Aksenova, N.N. Glagolev, P.S. Timashev, A.B. Solovieva. *J. Chem. Phys.*, **152**, 194901 (2020).
- [13] R.K. Prud'homme, G. Wu, D.K. Langmuir, **12** (20), 4651 (1996).
- [14] C.C. Perry, T.S. Sabir, W.J. Livingston, J.R. Milligan, Q. Chen, V. Maskiewicz, D.S. Boskovic. *J. Colloid. Interf. Sci.*, **54** (2), 662 (2011).
- [15] P. Singla, O. Singh, S. Sharma, K. Betlem, V.K. Aswal, M. Peeters, R.K. Mahajan. *ACS omega*, **4** (6), 11251 (2019).
- [16] T.V. Plisko, A.V. Penkova, K.S. Burts, A.V. Bilydukevich, M.E. Dmitrenko, G.B. Melnikova, et al. *J. Membr. Sci.*, **580**, 336–349 (2019).
- [17] B. Zhou, A. Fernandez-Nieves, W.R. Chen, T.H. Kim, C. Do. *Physic. Chem. Chem. Phys.*, **22** (22), 12524 (2020).
- [18] S. Kancharla, N.A. Zoyhofski, L. Bufalini, B.F. Chatelais, P. Alexandridis. *Polym.*, **12** (8), 1831 (2020).
- [19] Yu.M. Yevdokimov, S.G. Skuridin, V.I. Salyanov, O.N. Kompanets, E.I. Kats. *Opt. Spectrosc.*, **125** (6), 1047 (2018).
- [20] L.C. da Silva, A.C. Borges, M.G. de Oliveira, M.A. de Farias. *Methods X*, **7**, 101084 (2020).
- [21] C. Branca, V. Conti Nibali, K. Khouzami, U. Wanderlingh, G. D'Angelo. *Intern. J. Polym. Anal. Ch.*, **26** (2), 179 (2021).
- [22] C. Branca, G. D'Angelo. *J. Colloid. Interf. Sci.*, **542**, 289 (2019).

- [23] V.V. Kardumyan, N.A. Aksenova, V.A. Timofeeva, A.V. Krivandin, O.V. Shatalova, A.S. Dubovik, I.G. Plashchina, P.S. Timashev, A.B. Solovieva. *Polymers.*, **13** (7), 1007 (2021).
- [24] T. Gratieri, G.M. Gelfuso, E.M. Rocha, V.H. Sarmiento, O. de Freitas, R.F. Lopez. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **75**, 186 (2010).
- [25] A.B. Shipovskaya, S.L. Shmakov, O.F. Kazmicheva, S.Yu. Shchyogolev. *Liq. Cryst.*, **38** (3), 361 (2011).
- [26] A.B. Shipovskaya, Yu.Yu. Zhuravleva, T.G. Khonina, O.N. Malinkina, N.O. Gegel. *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, **92** (2), 349 (2019).