

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ»

**КОМПОЗИТНЫЕ ГЕЛЬ-ПЛЁНКИ НА ОСНОВЕ N-СШИТОГО
ХИТОЗАНА БИМЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента 4 курса 412 группы
направления 04.03.01 «Химия»
Института химии
Лепехина Егора Сергеевича

Научный руководитель:
старший преподаватель кафедры

Малинкина О.Н.

Зав. кафедрой
д. х. н., профессор

Шиповская А.Б.

Саратов 2026

ВВЕДЕНИЕ

Биоадгезивные гель-плёнки (биопатчи) представляют практический интерес в качестве атравматичных биоподобных покрытий для местного гемостаза, доставки лекарств и клеточного ремоделирования, а также разработки гибких носимых датчиков (электронной кожи) [1, 2]. Гели частично гидролизованного коллагена (желатин, G) термообратимы и могут рассматриваться в качестве основы для получения биорезорбируемых в физиологических условиях (т.н. «саморассасывающихся») гель-плёнок. Однако механическая прочность физически сшитого желатинового гидрогеля невелика, что требует модификации введением сшивающих агентов, например, диальдегидов, продукты конденсации которых могут негативно влиять на биосовместимость материалов. Одним из перспективных сшивающих агентов формирования трехмерной пространственной сетки гидрогеля рассматривается микробная трансглутаминаза (*mTG*), катализирующая образование ϵ -(γ -глутамил)лизиновых изопептидных поперечных связей в мягких условиях без необходимости последующей очистки [3].

Дополнительное введение в гелеобразующую систему G полисахаридов разной природы, таких как линейный катионогенный хитозан (CS), разветвленные нейтральный глюкоманнан (GM) и анионогенный ксантан (XG) или их сочетания обеспечивают поливалентное биологическое действие: придают биоактивность, чувствительность к физиологическим сигналам и повышают муко/дермоадгезионные свойства [4, 5]. Функциональные добавки аминокaproновая кислота (AmA), глутамин (Gln) или триэтанолламин (TEA) способны регулировать pH среды; глицерин (GlyOH) – фармацевтический адъювант с гигроскопическими свойствами; аскорбилпальмитат (AP), помимо придания антиоксидантных свойств, за счет способности к самоорганизации в нановолокна усиливает межмолекулярные Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия и позволяет дополнительно включать в гелеобразующую матрицу гидрофобные лекарственные препараты [6]. Таким образом, сочетанием ковалентных и нековалентных взаимодействий между макромолекулами и функциональными

добавками регулируются механические, поверхностные и сорбционные свойства гель-плёнок, обуславливающие их биомедицинское применение.

Целью работы является разработка оптимального состава многокомпонентной гелеобразующей композиции на основе N-сшитого хитозана для получения муко- и дермоадгезивных саморассасывающихся гель-плёнок биомедицинского назначения. Для достижения поставленной цели предусматривается определение оптимального способа введения сшивающего агента в формовочную смесь, оценка влияния полисахаридной компоненты на упругоэластические свойства композитных гель-плёнок, сравнение физико-механических свойств гель-плёнок без и с использованием ферментативного сшивания, исследование сорбционных и транспортных свойств гель-плёнок в жидких средах и в парах воды, изучение влияния функциональных добавок на упругоэластические и муко/дермоадгезионные свойства гель-плёнок, а также оценка их поверхностно-морфологических свойств.

В качестве **объектов исследования** выбраны водно-кислотные растворы CS, водные растворы GM, XG, G, *mTG*, растворы AP в смешанном растворителе. Кроме того, формовочные смеси из исходных растворов в различных объемных соотношениях и получаемые из них гель-плёнки.

Структура и объем работы. Выпускная квалификационная работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части и обсуждения результатов, заключения, списка используемых источников, техники безопасности и приложения. Работа изложена на 56 страниц, включает 23 рисунка и 15 таблиц, список литературы насчитывает 47 периодических источников, в том числе 28 зарубежных публикаций за последние 10 лет.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1 Качественная оценка гель–плёнок на основе желатин–хитозан

На первом этапе была проведена оценка компонентного состава и способа введения сшивающего агента в гелеобразующую систему (в виде сухого порошка или раствора) на качественные показатели полученных гель–плёнок, такие как образование монолитной структуры и липкость к дермальной поверхности. В качестве сравнения получали образцы без сшивающего агента.

Установлено, что все композиции с добавкой фермента *mTG* формируют монолитные эластичные гель-плёнки, проявляющие дермоадгезивные и конгруэнтные свойства, без *mTG* – оставались текучими системами, однако при хранении в течение 1 сут на воздухе переходили в пленкоподобное состояние. При последующем хранении плёнки без и с добавкой ферментного сшивающего агента различий в качественных характеристиках не имели. Однако, отличительной особенностью гель-плёнок с *mTG* является более интенсивная окраска.

Показано, что с увеличением содержания фермента *mTG* гель-плёнки получают более плотные, но менее липкие, причем составы с высоким содержанием CS имеют бóльшую липкость. Установлено, что оптимальным способом введения *mTG* является вариант с предварительной гидратацией фермента в чистом растворителе (воде) в сравнении с внесением сухой навески в формовочную смесь. Качественная оценка показала значительное влияние содержания фермента на процесс формирования и прочностно-эластические свойства полученных гель–плёнок и их адгезию к дермальной ткани.

2 Влияние состава полисахаридной компоненты на упругоэластические свойства гель-плёнок

На следующем этапе оценивали влияние природы используемого полисахарида на прочностные характеристики формирующихся гель–плёнок. Получали формовочные составы при совместном присутствии полисахаридов (CS–GM, CS–XG, GM–XG). В качестве сравнения получали образцы без сшивающего агента *mTG*.

Анализ упругопластических свойств показывает, что добавление *mTG* вносит положительный вклад в процесс формирования гель-плёнок со значимой долей эластичной (на основе индивидуальных CS, GM и XG), прочностной (XG) и упругой составляющей деформации (XG). Образцы с составной полисахаридной компонентой (при совместном присутствии (CS–GM, CS–XG и GM–XG) не показали явных преимуществ по сравнению с индивидуальными полисахаридами (CS, GM, XG), что, возможно, свидетельствует об отсутствии сильных межмолекулярных взаимодействий между макромолекулами полисахаридов разной природы в условиях эксперимента. Показано, что гель-плёнки в заданных условиях без фермента *mTG* не формируются.

В дополнительных экспериментах проведено сравнение вязкости формовочных смесей на основе G–CS без/с GM или XG методом ротационной вискозиметрии. Для сравнения испытывали образцы без сшивающего агента *mTG*.

Все кривые течения $\lg\eta = f(\lg\dot{\gamma})$ исследуемых растворов носят типичный для неньютоновских жидкостей характер, показывают режим аномально вязкого течения (область структурной вязкости). Значение вязкости уменьшается с повышением скорости деформации во всей исследуемой области $\lg\dot{\gamma}$, что свойственно течению псевдопластичных систем. Причем системы без *mTG* имеют меньшую вязкость, чем составы с ферментом. Наибольшей вязкостью характеризуется система на основе CS–XG, возможно, за счет формирования полиэлектролитного комплекса катионогенного CS и анионогенного XG.

3 Дермоадгезионные *ex vivo* свойства гель-плёнок на основе желатин–ксантан

Для оценки дермоадгезии *ex vivo* были выбраны системы на основе G–XG, как с наилучшими упругопластическими параметрами гель-плёнки. Для сравнения тестировали аналогичные образцы без сшивающего агента *mTG*. В качестве модели дермальной поверхности использовали лоскут кожи цыплёнка-

бройлера (3×5) см², время контакта с усилием 1.3 Н составляло 2 мин. За работу дермоадгезии (W_d , кПа) принимали отношение силы, необходимой для разрушения адгезионного соединения, отнесенной к площади межфазной границы.

Установлено, что присутствие сшивающего агента *mTG* повышает прочностно-эластичные свойства гель-плёнок, а также вносит положительный вклад в адгезию к дермальной ткани (~20%). Влияния *mTG* на упругую составляющую не выявлено.

4 Сорбционные свойства композитных гель-плёнок желатин-хитозан

Оценку сорбционной способности гель-плёнок G-CS, полученных без и с использованием сшивающего агента *mTG*, проводили иммерсионным методом в дистиллированной воде в течение 24 ч при $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Отличительной особенностью гель-плёнок с *mTG* является более интенсивная окраска.

Выдерживание образцов гель-плёнок G-CS без/с *mTG* с исходными размерами (35×25) мм в водной среде явно свидетельствует о формировании ковалентно сшитой структуры в образце, содержащем *mTG*. Так, степень сорбции для образцов составила 2.1 и 4.7 г/г, соответственно. Дальнейшее выдерживание приводит к фрагментации тестируемых образцов, что свидетельствует об их способности к биорезорбции в условиях, близким к физиологическим.

5 Изучение влияния содержания желатина на упругоэластические свойства гель-плёнок на основе желатин-хитозан

С целью получения гель-плёнок на основе N-сшитого CS на следующем этапе оценивали упругоэластические свойства гель-плёнок на основе G-CS, полученных при снижении содержания G. Для этого готовили формовочные смеси используя разбавленные водные растворы G, полученные из исходного с $C_G = 10.0$ мас. %.

Для сравнения гель-плёнок при варьировании содержания G построены концентрационные зависимости упругоэластических параметров.

При $C_G < 2.5$ мас.% упругоэластические свойства значительно снижаются. Т.о. для дальнейших исследований получали образцы с $C_G = 2.7$ мас.%.

6 Оценка влияния функциональной добавки аскорбилпальмитата на упругоэластические свойства гель-плёнок на основе желатин–хитозан

Определены упруго-деформационные силы для гель-плёнок состава G–CS, полученных с *mTG*, при использовании в качестве функциональной добавки раствора 2% AP в смешанном растворителе DMSO : H₂O = 1 : 2. В качестве сравнения получали образцы при использовании тех же количеств смешанного растворителя DMSO : H₂O = 1 : 2 без AP. Все композиции без/с добавкой 2% AP в смешанном растворителе DMSO : H₂O = 1 : 2 формируют монолитные гель-плёнки. Однако, отличительной особенностью гель-плёнок с 2% AP является неоднородность структуры композиций, обусловленная наличием волокон AP.

Применение функциональной добавки AP не вносит вклад в процесс структурообразования гель-плёнок в сравнении с образцами на основе G-CS.

7 Сорбционные и транспортные свойства гель–плёнок на основе желатин–хитозан с добавкой аскорбилпальмитата

Оценку сорбционных свойств гель–плёнок на основе G–CS с добавкой AP проводили иммерсионным методом в сорбционных средах: дистиллированной воде (pH=6.0) и буферном растворе Lac-SBF (pH=7.4, имитация плазмы крови) при выдерживании в инкубаторе Being BI35TL в течение 24 ч при 37±0.1°C.

При выдерживании в жидких средах максимальное значение степени сорбции достигалось в течение 3±0.5 ч, затем гель-плёнки начинали фрагментироваться/растворяться. Установлено, что в среде H₂O (pH=6.0) гель-плёнки быстрее достигают максимального значения сорбции, при этом растворяются медленнее. Плёнки в среде Lac-SBF (pH=7.4) растворяются быстрее, что может быть вызвано составом буферной смеси.

Оценку транспортных свойств гель–плёнок на основе G–CS проводили гравиметрически в течение 24 ч.

Установлено, что введение AP повышает паропроницаемость гель-плёнок в сравнении с образцами на основе G-CS без AP. Соответственно, снижение S_{AP} приводит к уменьшению паропроницаемости гель-плёнок.

8 Оценка влияния функциональной добавки глутамина на упругоэластические свойства гель-плёнок на основе хитозана

Для возможности получения гель-плёнок на основе N-сшитого CS (без G) использовали добавку глутамин Gln.

Введение Gln в смесевые композиции на основе индивидуального CS вносит положительный вклад в процесс структурообразования гель-плёнок, что проявляется в повышении значений их упругоэластических характеристик.

9 Оценка мукоадгезии *in vitro* формовочных смесей на основе хитозана с добавкой глутамин

Оценку мукоадгезивных свойств проводили в растворах с добавкой муцина. На первом этапе определяли кинематическую вязкость при $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$ для составов на основе CS с добавкой Gln без/с *mTG*, а также систем в присутствии *Muc*, находящихся в контакте при скорости перемешивания 300 об./мин в течение 1 ч при $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

В предварительном эксперименте для системы муцин+вода определяли длину волны детектирования оптической плотности в диапазоне длины волны $\lambda = 320\text{--}780$ нм, которая составила 340 нм.

Установлено, что смесевые композиции на основе CS с Gln и без/с *mTG* проявляют мукоадгезивные свойства *in vitro*. Увеличение параметра взаимодействия (ΔA) свидетельствует о формировании аддуктов с модельным субстратом – *Muc*.

10 Сравнение спектральных характеристик гель-плёнок на основе хитозана с добавлением глутамин без/с трансглутаминазой

Соотнесение колебательных полос поглощения к функциональным группам выполнено с привлечением корреляционных таблиц. Все полосы поглощения соответствуют компонентам, входящим в состав гель-плёнок.

Для сравнения использовали разностный спектр. В гель-плёнках с *mTG* появляется интенсивная полоса при 3400 см^{-1} , соответствующая валентным колебаниям N–H вторичных амидов. Отнесение данной полосы к присутствию только *mTG*, как полипептида, не очевидно, т.к. сопровождается значительным снижением интенсивностей полос поглощения первичных аминогрупп при 3300 и 3150 см^{-1} . Такое сочетание может свидетельствовать об уменьшении количества аминогрупп как хитозана, так и Gln, в результате их ферментативного связывания. В области карбонильного поглощения Амид I наблюдается появление полосы при 1680 см^{-1} и увеличение интенсивности при 1616 см^{-1} . Составная полоса деформационных колебаний N–H связей Амид II также претерпевает повышение интенсивности. В ИК-спектрах гель-плёнок без *mTG* полоса Амид III, характерная для валентных колебаний C–N проявляется при 1250 см^{-1} . В присутствии *mTG* наблюдается повышение этой частоты на 30 см^{-1} , т.е. увеличение силы данной связи в результате, например, сопряжения, водородных связей, индуктивного эффекта, эффекта поля, напряжения связей и углов, а также изменения в окружении атомов. Кроме того, в области $1100\text{--}600\text{ см}^{-1}$ наблюдается смещение и изменение интенсивности полос, соответствующих валентным колебаниям связям C–O–C и C–O–H, что наблюдается в ряде работ при ковалентной сшивке хитозана.

Таким образом, по совокупности описанных выше косвенных признаков, выявленных сравнением спектров гель-плёнок на основе CS с добавкой Gln без/с *mTG*, позволяет характеризовать формирование ковалентно N-сшитой структуры гель-плёнок с *mTG*.

11 Оценка влияния трансглутаминазы на морфологию поверхности гель-плёнок на основе хитозана с добавлением глутамина

ПОМ-микроскопия гель-пленок

Для проведения морфологических исследований гель-пленки предварительно обезвоживали выдерживанием в абс. EtOH (модуль ванны 1:100) в течение 48 ч с последующей сушкой при $40\pm 0.2^\circ\text{C}$ в течение 1 ч.

Исследование гель-плёнок методом ПОМ показывает существенное влияние *mTG* на особенности структурообразования. В образце, содержащем *mTG*, наблюдаются многочисленные яркие анизотропные домены, свидетельствующие о более высокой степени структурной организации композитов. Гель-плёнки без *mTG* демонстрируют более равномерный характер распределения анизотропных участков, интенсивность окраски ниже.

СЭМ-микроскопия морфологии поверхности гель-плёнок

Морфоструктуру гель-плёнок на основе CS с добавлением Gln без/с *mTG* оценивали на электронном сканирующем микроскопе при разных увеличениях. Гель-плёнка без *mTG* характеризуется преимущественно ламеллярной морфологией, представленной пластинчатыми образованиями.

Введение *mTG* способствует формированию выраженных игольчатых и клиновидных структур, объединенных в радиально ориентированные агрегаты. Морфология поверхности гель-плёнки с *mTG* представлена более плотно упакованными агрегатами, что указывает на повышение степени структурной организации композита под действием ферментативной обработки. Морфометрическим анализом установлено, что размеры агрегатов находятся в диапазоне 0.15–1.5 мкм.

Таким образом, полученные результаты ПОМ- и СЭМ-микроскопии свидетельствуют о значительном влиянии *mTG* на формирование более плотноупакованной надмолекулярной структуры гель-плёнок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что формовочные композиции на основе G–полисахарид с добавкой фермента *mTG* при инкубировании при $40\pm 0.1^\circ\text{C}$ в течение 17 ч формируют монолитные эластичные гель–плёнки, обладающие автоадгезивностью и конгруэнтными свойствами к дермальной поверхности.

Определен оптимальный способ введения *mTG* в формовочную композицию, предусматривающий предварительную гидратацию фермента в воде при $40\pm 0.1^\circ\text{C}$ в течение 30 мин.

Установлено, что присутствие сшивающего агента *mTG* повышает прочностно-эластичные характеристики получаемых гель-плёнок, а также вносит положительный вклад в адгезию к дермальной ткани.

Определено, что образцы гель-плёнок на основе G–полисахарид при совместном присутствии полисахаридов (CS–GM, CS–XG, GM–XG) не имеют явных преимуществ по сравнению с составами, содержащими только один полисахарид (CS, GM, XG).

Проанализированы сорбционные и транспортные характеристики образцов гель-плёнок на основе G–CS без/с применением функциональных добавок. Обнаружена способность тестируемых образцов к биорезорбции в условиях, близким к физиологическим.

Установлено, что при содержании $C_G < 2.5 \text{ мас.}\%$ упругоэластические свойства гель-плёнок на основе G–CS значительно снижаются.

Получены композитные гель-плёнки с наночастицами AP, способных к солубилизации и удержанию гидрофобных лекарственных веществ.

Смесевые композиции на основе CS с добавкой Gln проявляют мукоадгезивные *in vitro* свойства к модельному субстрату слизистой оболочки – муцину.

Подтверждено формирование ковалентно N-сшитой структуры в системах на основе CS с добавкой Gln сравнением ИК-Фурье-спектров гель-плёнок без/с *mTG*.

Установлено влияние *mTG* на морфоструктуру гель-плёнок CS.

На основе проведенных исследований выявлено оптимальное содержание компонентов в формовочной смеси для получения гель-плёнок на основе N-сшитого CS:

гликолят CS	3.2 мас.%
Gln	3.2%
TEA	1.0%
<i>m</i> TG	0.6 %
GlyOH	5.0%
вода	остальное

pH смесевой композиции составляет 6.2 ± 0.1 .

Результаты проведенной работы представлены на 3-х конференциях, стендовый доклад отмечен грамотой за 1 место в стендовой секции студенческой научной конференции 2025 г. Института химии СГУ, опубликовано 3 тезисов в соавторстве:

1. Приданкина Д.В., **Лепехин Е.С.**, Малинкина О.Н., Шиповская А.Б. Реокинетика гелеобразования Si-глюкоманнан-хитозансодержащей композиции // Сб. матер. XXXI Симпозиум по реологии, посвященный 60-летию лаборатории реологии полимеров ИНХС РАН. Москва, Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН. – 2024. – С. 138 ISBN 978-5-6052873-8-4 (12–15 ноября 2024).

2. **Лепехин Е.С.**, Чиняев А.В., Малинкина О.Н., Шиповская А.Б. Композитные гель—плёнки полисахарид—желатина биомедицинского назначения // Сб. мат. X Всерос. мол. конф. «Достижения молодых ученых: химические науки». Уфа, УУНТ. – 2025 – С. 365 ISBN 978-5-7477-6091-1 (22-23 мая 2025 г.)

3. **Лепехин Е.С.**, Чиняев А.В., Малинкина О.Н., Шиповская А.Б. Упруго-пластические и дермоадгезионные свойства композитных гель-плёнок ксантан—желатина // Сб. мат. XII Междунар. мол. науч.-пр. конф. «Актуальные вопросы современного материаловедения». Уфа, УУНТ. – 2025. – С. 67 ISBN 978-5-7477-6128-5 (18-19 июня 2025 г.)

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ahmed A., Nath J., Baruah K., Rather M.A., Mandal M., Dolui S.K. Development of mussel mimetic gelatin based adhesive hydrogel for wet surfaces with self-healing and reversible properties // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2023. – № 228. – P. 68-77.
2. Liu X., Li H., Tao M., Yu Y., Zhu Z., Wu D., Chen Y. Organic flexible electronics for innovative applications in electronic skin // *Advanced Materials Technologies.* – 2025. – №10(3), 2400661.
3. Ишевский А.Л., Гунькова П.И., Давыдов И.А. Особенности использования трансглутаминазы в производстве реконструированных мясных продуктов // *Все о мясе.* – 2017. – №4. – С. 48-53.
4. Mukherjee K., Dutta P., Badwaik H.R., Giri T.K. Xanthan gum and its composite-based hydrogels. In polysaccharide hydrogels for drug delivery and regenerative medicine. – 2024. – P. 89-108.
5. Costa J., Baratto M.C., Spinelli D., Leone G., Magnani A., Pogni R. A novel bio-adhesive based on chitosan-polydopamine-xanthan gum for glass, cardboard and textile commodities // *Polymers.* – 2024. – №16(13). – P. 1806.
6. Shamiya Y., Chakrabortly A., Zahid A.A., Bainbridge N., Guan J., Feng B., Pjontek D., Chakrabarti S., Paul A. Ascorbyl palmitate nanofiber-reinforced hydrogels for drug delivery in soft tissues // *Commun Mater.* – 2025. – Vol. 5. – P. 197.