

На правах рукописи



ИВАЩЕНКО ГАЛИНА ЛЕОНИДОВНА

**МЕХАНОХИМИЧЕСКОЕ МОДИФИЦИРОВАНИЕ ХИТИНА И
ХИТОЗАНА В ПРИСУТСТВИИ ПИРОКСИКАМА И
МОНОХЛОРАЦЕТАТА НАТРИЯ**

Специальность 02.00.06 – высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Барнаул 2005

Работа выполнена в Научно-образовательном центре «Молекулярный дизайн и экологически безопасные технологии» при Новосибирском государственном университете и на кафедре органической химии Алтайского государственного университета.

Научный руководитель:

кандидат химических наук,
старший научный сотрудник
Шахтшнейдер Татьяна Петровна

Официальные оппоненты:

доктор химических наук,
профессор
Денисов Виктор Яковлевич

кандидат химических наук
Комарова Наталья Геннадьевна

Ведущая организация:

Иркутский государственный университет

Защита диссертации состоится «27» декабря 2005 года в 15.00 часов, в ауд. № 304, на заседании диссертационного совета К 212.004.06 в Алтайском государственном техническом университете им. И.И. Ползунова по адресу: 656038, г. Барнаул, пер. Некрасова 64 (химический корпус).

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова.

Автореферат разослан

25 ноября 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.х.н., доцент



Напилкова О.А.

2007-4

2371794

4114

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Одной из теоретических и экспериментальных проблем химической науки о высокомолекулярных соединениях является целенаправленное регулирование их строения и модификация свойств физическими и химическими методами.

Актуальным в настоящее время является поиск методов модифицирования природных полимеров с целью расширения возможностей их использования в фармацевтической, пищевой, косметической отраслях промышленности, в сельском хозяйстве.

Природные полимеры - хитин и его дезацетилированное производное - хитозан, представляют особый интерес вследствие близости их по структуре к мукополисахаридам клеточных оболочек и внеклеточного вещества различных органов человека, доступности и воспроизводимости.

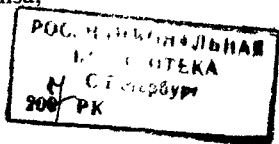
В настоящее время повышается интерес к применению веществ, образующих супрамолекулярные комплексы с лекарственными веществами в качестве молекул "гостя". Исследование возможности использования хитозана в качестве носителя для лекарственных форм является актуальной задачей с точки зрения создания препаратов с повышенной скоростью высвобождения активного вещества.

В большинстве случаев, при приготовлении лекарственных форм носитель подвергают механообработке с целью измельчения или диспергирования, в результате чего происходят его структурные и химические превращения, безусловно, влияющие на свойства лекарственной формы, но практически этому не уделяется должного внимания. В связи с этим актуальность исследования влияния механохимического модифицирования на структуру хитина и хитозана при образовании лекарственных форм, в частности с пироксикамом, относящегося к нестероидным противовоспалительным препаратам, очевидна. Кроме того, представляется интересным изучение химического модифицирования хитина и хитозана, приводящего к образованию водорастворимых карбоксиметиловых эфиров, использование их в качестве носителя лекарственных веществ и протравителя семян яровой пшеницы при борьбе с патогенами.

Целью данной работы является изучение структурных и химических превращений хитина и хитозана при образовании супрамолекулярного комплекса с пироксикамом и в реакции карбоксиметилирования в условиях механохимического модифицирования посредством ударного воздействия мелющих тел.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- изучение свойств хитина и хитозана, выделенных из рачка бокоплава *Gammarus*;
- установление структуры и фазового состояния исходных и модифицированных механообработкой хитина и хитозана методами рентгенофазового и термомеханического анализа;



- получение супрамолекулярного комплекса хитозана с пироксикамом в различных условиях механообработки и изучение его свойств;
- изучение влияния механического воздействия на способность хитина и хитозана к механохимическому карбоксиметилированию;
- получение водорастворимых форм хитина и хитозана при механохимическом карбоксиметилировании и получении супрамолекулярного комплекса на их основе;
- изучение влияния протравливания карбоксиметилированным хитозаном семян яровой пшеницы на вредоносность ее корневых гнилей и урожайность.

Научная новизна работы.

Показано, что физическое модифицирование хитина и хитозана в результате ударного воздействия твердых тел сопровождается не только увеличением удельной поверхности и снижением степени полимеризации до определенного предела, но и значительным изменением молекулярно-топологической структуры полимеров и их фазового состояния. Полимер из аморфно-кристаллического с аморфным блоком псевдосетчатого строения переходит в полимер с аморфно-кластерной структурой. В хитине после определенных условий механообработки возрастает степень кристалличности в 1,5 раза. Механические напряжения, возникающие при физическом модифицировании путем ударного воздействия твердых тел на смесь полимера - хитозана - с низкомолекулярным веществом - пироксикамом приводят к образованию механоактивированного комплекса с аморфно-кристаллической структурой и релаксационными характеристиками, отличными от исходных компонентов. Включение пироксикама в структуру биополимера способствовало уменьшению его свободного геометрического объема в 3 раза. На растворимость супрамолекулярного комплекса оказывает влияние формирование структуры хитозана в присутствии молекул "гостя"-пироксикама. Введение карбоксиметильных групп в структуру хитозана при твердофазном карбоксиметилировании сопровождается изменением его молекулярно-топологической структуры, хитозан переходит в полиблочный аморфно-кристаллический полимер, происходит снижение температур релаксационных переходов. Модифицирование хитозана в водорастворимые карбоксиметилловые эфиры не изменяет свойства биополимера как носителя для лекарственных веществ.

Практическая значимость работы. Результаты исследования по химической и топологической структуре биополимеров хитина и хитозана могут быть использованы в научно-прикладных исследованиях, связанных с совершенствованием технологий химической переработки хитинсодержащего сырья различного происхождения. Показана принципиальная возможность получения супрамолекулярного комплекса хитозана с пироксикамом, характеризующегося повышенной скоростью растворения и растворимостью пироксикама по сравнению с исходным веществом. Модифицированные

механообработкой комплексы найдут применение в фармацевтической промышленности как пример получения препаратов с повышенной скоростью высвобождения фармацевтического вещества. Использование природного полимера - хитозана в качестве носителя позволит создавать фармацевтические препараты с пониженным побочным эффектом пироксикама за счет включения его в матрицу носителя. Карбоксиметиловые эфиры полисахаридов хитина и хитозана, помимо фармацевтики, найдут широкое применение и в других областях промышленности, в частности, в сельском хозяйстве. Показана возможность использования карбоксиметиловых эфиров хитозана в качестве протравителя семян яровой пшеницы при борьбе с патогенами, наряду с известным хитозансодержащим препаратом «Нарцисс».

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Результаты исследования структурного и фазового состояния исходных образцов хитина и хитозана и подвергнутых ударным воздействиям твердых тел.
2. Строение и свойства комплекса, полученного совместной механообработкой хитозана с пироксикамом.
3. Результаты исследования физико-химических свойств, структурных и фазовых превращений хитина и хитозана при механохимическом карбоксиметилировании.

Апробация работы. Результаты работы обсуждались на следующих конференциях:

XIX Международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс», г. Новосибирск, 2001 г. Летней школе-конференции «Горячие точки супрамолекулярной химии», г. Новосибирск, 2001 г. Международной конференции «Фундаментальные основы механохимических технологий», г. Новосибирск, 2001 г. Международной конференции «Физико-химические процессы в неорганических материалах», г. Кемерово, 2001 г. 6-й Международной конференции «Новые достижения в исследовании хитина и хитозана», г. Москва, 2001г. Научно-практической конференции «Новые химические системы и процессы в медицине», г. Новосибирск, 2001 г. На Всероссийских семинарах «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья», г. Барнаул, 2002г., 2005г.

Работа выполнена в рамках проекта «Научно-образовательный центр «Молекулярный дизайн и экологически безопасные технологии»» при поддержке совместного гранта Американского фонда гражданских исследований и развития (CRDF) и Минобрнауки РФ.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ.

Объем и структура работы. Работа изложена на 141 странице машинописного текста, содержит 15 таблиц, 29 рисунков и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов и выводов. Список литературы содержит 180 наименований.

Автор и научный руководитель выражают огромную благодарность академику РАН Болдыреву В.В., Базарновой Н.Г., Ольхову Ю.А., Карповой Е.В. за помощь при выполнении диссертационной работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. В этой части диссертационной работы обоснована актуальность научного исследования, обозначена цель работы.

Обзор литературы. Обобщены литературные сведения о биополимерах: хитине и хитозане, рассмотрено распространение биополимеров в природе, их строение, способы получения. Описана механообработка ВМС. Рассмотрены возможные фазовые состояния полимеров.

Изложено строение лекарственного вещества – пироксикама, его физико-химические свойства, поведение молекулы в качестве «гостя» в композиционных материалах.

Описаны закономерности карбоксиметилирования полимеров: основные сведения о реакции О-алкилирования, химических превращениях хитина, хитозана при карбоксиметилировании, возможности применения полученных продуктов.

Экспериментальная часть. Хитин из рачка-бокоплава *Gammarus*, обитающий в соленых озерах Алтайского края, выделяли кислотно-основным способом по общепринятой методике. Хитозан получали высокотемпературной щелочной обработкой хитина. Образцы хитина и хитозана анализировали на степень дезацетилирования, средневесовую молекулярную массу рассчитывали по вязкости растворов образцов, которую определяли в буферном растворе 0,2 молярного ацетата натрия и 0,3 молярной уксусной кислоты.

Механохимическое модифицирование хитина и хитозана проводили в мельницах ударного типа: планетарно-центробежной (ПЦМ) АГО-2, с силой воздействия на шар 20g (масса мелющих тел 100 г) и водяным охлаждением барабанов; вибрационно-шаровой - SPEX 8000, с силой воздействия на шар 8g (масса мелющих тел 70 г). Структуру исходных и подвергнутых механообработке образцов исследовали методами ИК-, термомеханической спектроскопии (ТМС), рентгенофазовым анализом. Удельную поверхность определяли по десорбции аргона методом БЭТ, названный по именам его создателей (Брунауэр, Эммет и Теллер).

Механохимическое модифицирование хитозана в присутствии пироксикама в различных условиях проводили в ПЦМ. Продукты модифицирования анализировали методами ИК-, УФ-, ТМС- спектроскопии. Растворимость пироксикама из матрицы носителя, в зависимости от продолжительности выдерживания продукта в водном и соляно-кислом растворах, определяли по данным спектрофотометрии.

Механохимическое модифицирование хитина и хитозана в присутствии монохлорацетата натрия и гидроксида натрия проводили в мельницах обоих типов без добавления растворителей. В продуктах модифицирования

определяли содержание карбоксиметильных групп, растворимость в воде. Средневесовую молекулярную массу рассчитывали по вязкости растворов модифицированных полимеров в 0,2 молярном водном растворе хлорида натрия. Структуру продуктов исследовали методами ИК- и термомеханической спектроскопии.

Абсолютная суммарная погрешность результатов расчета составила: 0,2% ~ 0,6% при доверительной вероятности: 94 ~ 98.

Результаты и их обсуждение. Третья глава посвящена обсуждению результатов исследования механохимического модифицирования хитина и хитозана в присутствии пироксикама и в реакции карбоксиметилирования.

Структурные и физико-химические свойства хитина и хитозана, подвергнутых механохимическому модифицированию

Хитин и хитозан, выделенные из рачка-бокоплава *Gammarus*, по своим физико-химическим характеристикам сравнимы с образцами, выделенными из других видов хитинсодержащего сырья (табл.1).

Таблица 1 – Характеристики хитозана

Образец	Степень деацетилирования %	Характеристическая вязкость, мл/г	Средневесовая молекулярная масса
Хитозан из рачка бокоплава <i>Gammarus</i> (Алтайский край)	97,0	8,0	$0,4 \cdot 10^6$
Хитозан из краба (литературные данные)	90,0	7,4	$0,8 \cdot 10^5$

Хитозан при механохимическом модифицировании в ПЦМ подвергается деструкции, что сопровождается механокрекингом его макромолекулярных цепей и уменьшением средневесовой молекулярной массы (M_w) с $4 \cdot 10^5$ до $5 \cdot 10^3$. Увеличение продолжительности механообработки в ПЦМ с 15 до 25 мин не сопровождается снижением M_w хитозана, что указывает на явление, характерное при измельчении полимеров – предел деструкции. То есть следствием диспергирования биополимера в мельницах ударного воздействия является уменьшение его степени полимеризации до определенного предела.

Механохимическое модифицирование хитина и хитозана сопровождается изменением их молекулярно-топологической структуры, описанной методом термомеханической спектроскопии. Установлено, что хитин является полностью закристаллизованным полимером с температурой стеклования – 6,5 °С и скоростью плавления, характеризуемой коэффициентом линейного термического расширения $\alpha_k = 290 \cdot 10^{-5}$ град.⁻¹. Температура текучести равна 42,5 °С. При температуре 72 °С и выше в образце начинаются процессы структурирования. Молекулярно-массовые усредненные характеристики фрагментов цепей в структуре кристаллов составили

соответственно: средневесовая - $M_w = 5,9 \cdot 10^6$ и среднечисловая - $M_n = 4,8 \cdot 10^6$, коэффициент полидисперсности $K = 1,24$.

Хитозан, в отличие от хитина - аморфно-кристаллический полимер с аморфным блоком псевдосетчатого строения. В температурном интервале от -100°C до -55°C он находится в стеклообразном состоянии и при нагревании с постоянной скоростью характеризуется коэффициентом линейного термического расширения $\alpha_1 = 10,5 \cdot 10^{-5} \text{ град}^{-1}$. После механообработки хитозан переходит в аморфно-кластерный полимер с аморфным блоком псевдосетчатого строения и с коэффициентом линейного термического расширения $\alpha_1 = 6,52 \cdot 10^{-5} \text{ град}^{-1}$. Модифицированный образец характеризуется существенным увеличением температур релаксационных переходов по сравнению с исходным хитозаном.

Результаты, полученные методом ТМС согласуются с данными рентгенофазового анализа, из которых следует, что происходит разрушение компактной структуры полимеров, то есть их разупорядочение (рис. 1, 2).

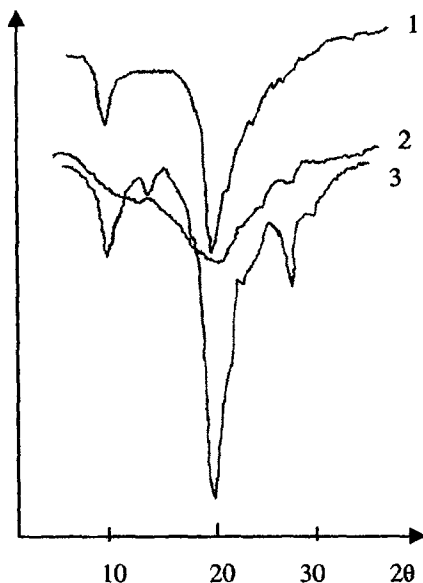


Рисунок 1 – Рентгенограммы образцов исходного хитина (1); подвергнутого механохимическому модифицированию в ПЦМ в течение 15 мин (2); 25 мин (3)

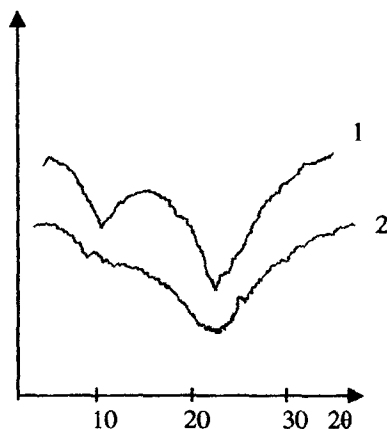


Рисунок 2 – Рентгенограммы образцов исходного хитозана (1); подвергнутого механохимическому модифицированию в ПЦМ в течение 15 мин (2)

Хитин находится в модификации с орторомбической решеткой, пространственная группа $P2_12_1$. Специфичность полимерного состояния обуславливает невозможность его существования как однофазной системы,

что следует и из данных метода ТМС. Исходный и механообработанный образцы, как хитина, так и хитозана, имеют одинаковые наборы рефлексов, отличающиеся только их интенсивностью. Это подтверждает наличие в хитозане той же кристаллической решетки, что и в хитине, но менее упорядоченной. Рентгенограмма хитозана, подвергнутого механообработке в ПЦМ, характеризуется уменьшением интенсивности и увеличением ширины пика при $2\theta = 22^\circ$ (рис. 2 (2)), что характерно для аморфного образца. При малой продолжительности механообработки, порядка 10 – 15 минут в ПЦМ, аналогичное изменение происходит и с образцом хитина. При увеличении продолжительности механообработки до 25 мин, происходит частичная рекристаллизация аморфной фазы хитина. На рентгенограмме механообработанного образца наблюдали менее широкий и более интенсивный максимум при $2\theta = 19,5^\circ$ по сравнению с исходным полимером.

В результате длительного механического воздействия степень кристалличности (расчитанная из данных рентгенофазового анализа) образцов хитина увеличилась в 1,5 раза (табл.2). При длительной механической обработке образцов хитозана не происходит увеличения степени кристалличности биополимера. Механическое модифицирование полимеров сопровождается увеличением удельной поверхности образцов ($S_{уд}$), для хитина в 1,7 раз и для хитозана в 3,0 раза (табл.2). То есть при воздействии механических напряжений разрыхление структуры хитозана происходит в большей степени по сравнению со структурой хитина.

Расчитанные нами значения межплоскостных расстояний в кристаллографической ячейке исходных и модифицированных механообработкой образцов хитина и хитозана подтверждают несущественные различия их структур. Однако меньшие значения межплоскостных расстояний для образцов хитозана ($d = 4,04 \text{ \AA}$, $10,39 \text{ \AA}$) по сравнению с образцами хитина ($d = 4,55 \text{ \AA}$, $11,77 \text{ \AA}$) указывают на большую плотность упаковки его макромолекулярных цепей.

Таблица 2 – Степень кристалличности и удельная поверхность исходных и механообработанных образцов хитина и хитозана

Параметр	хитозан	хитозан м/а 15 мин	хитин	хитин м/а 15 мин	хитин м/а 25 мин
СК	0,63	0,51	0,69	0,57	0,88
$S_{уд}, \text{ м}^2/\text{г}$	0,83	2,63	7,23	11,48	12,76

Примечание. м/а – механообработка в ПЦМ (20г).

При модифицировании образца хитозана в ПЦМ в течение 15 мин биополимер переходит из нерастворимого в малорастворимый в воде образец: $0,71 \cdot 10^{-2} \text{ мг/мл}$. Это объясняется уменьшением степени полимеризации, и появлением новых концевых групп.

Спектрофотометрически исследована растворимость образцов исходного и модифицированного механообработкой хитозана (ПЦМ, 15 мин), в солянокислой среде с $\text{pH} = 2$, что отвечает pH желудочной жидкости

человека. Максимальная растворимость в солянокислом растворе исходного образца хитозана равна 1,26 мг/мл, механоактивированного в ПЦМ в течение 15 мин- 1,85 мг/мл. В отличие от хитозана, растворение исходных (0,48 мг/мл) и модифицированных механообработкой (0,67мг/мл) образцов хитина происходит медленнее, растворяется незначительная часть вещества, что не противоречит литературным данным.

В условиях механических напряжений при ударном воздействии твердых тел на биополимеры происходит разрыхление их структуры. Биополимер, в частности, хитозан, из аморфно-кристаллического трансформируется в аморфно-кластерный, аморфный блок которого имеет псевдосетчатое строение. Это сопровождается изменением физико-химических свойств биополимеров: увеличением удельной поверхности после механообработки; хитозан из нерастворимого переходит в малорастворимый в воде образец; происходит изменение степени кристалличности биополимеров в зависимости от продолжительности механообработки.

Механохимическое модифицирование хитозана в присутствии пироксикама

Влияние механообработки на физико - химические свойства пироксикама

Пироксикам (4-гидрокси-2метил-N-(2-пиридин)-2Н-1,2-бензотиазин-3-карбоксамид-1,1-диоксид) является представителем серии N-гетероциклических карбоксамидов (рис.3), относится к нестероидным препаратам (оказывает противовоспалительное, обезболивающее действие).

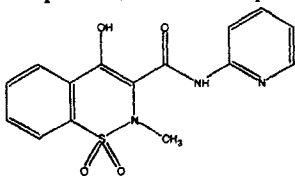


Рисунок 3 - Структурная формула пироксикама

При взаимодействии пироксикама с водой образуется моногидрат, молекула переходит в цвиттер-ионную форму.

Рентгенофазовым и КР- спектроскопическим анализом показано, что следствием механообработки пироксикама является нарушение его кристаллической структуры, появление дефектов в решетке. По мере увеличения продолжительности механообработки происходит изменение окраски пироксикама с белой на желтую, что сопровождается сдвигом максимума полосы в УФ-спектрах от 358 нм до 383 нм, а также происходит линейное увеличение гиперхромного эффекта полосы в видимой области около 400 нм. Таким образом, при механообработке молекулы пироксикама подвергаются структурным изменениям: состояние пироксикама меняется от упорядоченного (кристаллического) до разупорядоченного (аморфного). Происходит перенос протона и/или изменение конформации молекул пироксикама, протонный перенос является межмолекулярным и приводит к

образованию заряженных цвиттер-ионных частиц. За счет этого аморфный пироксикам приобретает желтую окраску. При растворении исходного и механообработанного образцов пироксикама в кислой среде ($\text{pH} = 2$) растворы образцов имеют желтый цвет, что также указывает на переход структуры в цвиттер-ионную форму. Скорость растворения образцов исходного и механообработанного пироксикама (ПЦМ, 15 мин.) в воде и солянокислой среде оценивали спектрофотометрическим методом. Более высокая концентрация (0,072 мг/мл) в воде наблюдается для образца пироксикама, подвергнутого механообработке, которая понижается до 0,045 мг/мл после 30 мин растворения. При механообработке происходит активирование образца пироксикама, однако, за счет электростатического притяжения возможно коагулирование частиц, что приводит к резкому снижению растворимости в воде механообработанного образца. В кислом растворе электростатическое взаимодействие частиц, вероятно, затруднено за счет присутствия одноименных ионов, которые способствуют отталкиванию. Небольшая растворимость пироксикама в водном и кислом растворах объясняется его гидрофобностью.

Механохимическое модифицирование хитозана в присутствии пироксикама

Недостатком пироксикама является плохая растворимость в воде, что ведет к его пониженной биологической доступности. Одним из способов увеличения растворимости пироксикама является его активирование механообработкой и стабилизация этого состояния путем распределения молекул в матрице носителя. Нами показано, что в качестве носителя может быть использован механохимически модифицированный хитозан, характеризующейся большими, по сравнению с исходным, удельной поверхностью, свободным геометрическим объемом, пониженной степенью кристалличности.

Модифицирование хитозана в присутствии пироксикама проводили в ПЦМ в течение 15 мин при массовом соотношении компонентов 1:1. Параллельно исследовали механическую смесь, приготовленную из предварительно подвергнутых механообработке компонентов в том же соотношении. Взаимодействие между хитозаном и пироксикамом происходит при совместной механообработке компонентов (рис. 4, спектр 4), а также при растворении в воде смеси механообработанных отдельно образцов хитозана и пироксикама (рис.4, спектр 5), что подтверждено нами методом УФ-спектроскопии.

В отличие от исходных компонентов (1,2) и физических смесей (6), в спектрах 5,4 на рисунке 4, происходит смещение полос, ответственных за образование новых связей.

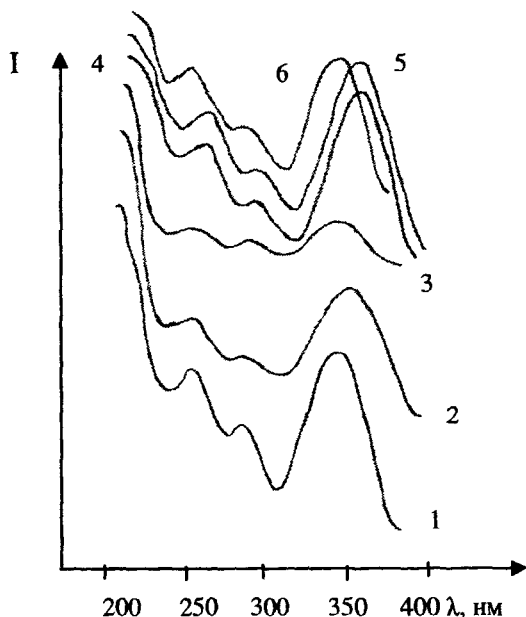


Рисунок 4 – УФ – спектры водных растворов исходного пироксикама (1); подвергнутого м/о* (2); его смесей с хитозаном (массовое соотношение 1:1): смеси исходного пироксикама и подвергнутого м/о* хитозана, (3); смеси хитозана и пироксикама, подвергнутых совместной м/о* (4); смеси механообработанных отдельно образцов хитозана и пироксикама (5); смеси исходных образцов хитозана и пироксикама (6)
м/о* – механообработка в ПЦМ в течение 15 мин

Скорость растворения пироксикама в воде из смеси исходных компонентов (рис. 5, кривая 1) почти совпадает с растворимостью исходного препарата (рис. 5, кривая 1). Максимальная растворимость пироксикама (0,220 мг/мл) выявлена для смеси 3 (смесь из предварительно подвергнутых м/о в ПЦМ в течение 15 мин пироксикама и хитозана), минимальная растворимость (0,048 мг/мл) - для смеси 1 (хитозан, подвергнутый м/о в ПЦМ в течение 15 мин и исходный пироксикам). Смесь 2 (пироксикам и хитозан подвергнутые м/о в ПЦМ в течение 15 мин) имеет промежуточное значение растворимости пироксикама (0,133 мг/мл), причем снижение растворимости пироксикама для этой смеси со временем происходит в меньшей степени, чем в случае смеси 3. Это можно объяснить образованием межмолекулярного комплекса при совместной механообработке пироксикама и хитозана. Образование межмолекулярного комплекса, то есть взаимодействие между пироксикамом и

хитозаном, подтверждено также данными ИК- спектроскопии. При механохимическом модифицировании хитозана в присутствии пироксикама образуются новые Н- связи, о чем свидетельствуют изменения в области валентных колебаний NH- и OH-групп компонентов смеси при 3450 – 3250 см^{-1} .

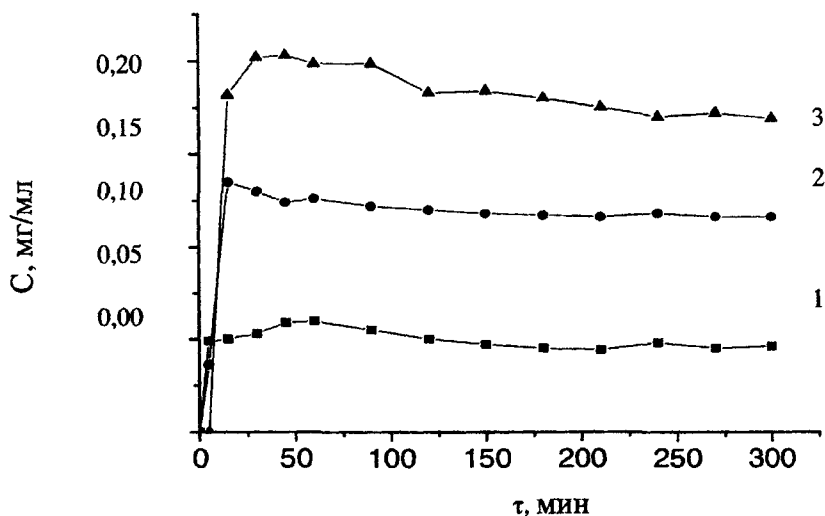


Рисунок 5 – Скорость растворения пироксикама в воде из смесей пироксикама с хитозаном: (массовое соотношение 1:1): хитозан, подвергнутый м/о в ПЦМ в течение 15 мин и исходный пироксикам (1); пироксикам и хитозан подвергнутые м/о в ПЦМ в течение 15 мин после их смешения (2); смесь из предварительно подвергнутых м/о в ПЦМ в течение 15 мин пироксикама и хитозана (3)

Увеличение содержания хитозана в смеси пироксикама и хитозана (массовое соотношение 1:10), подвергнутых механообработке в ПЦМ в течение 15 мин, после их смешения, приводит к увеличению концентрации пироксикама в растворе (0,27 мг/мл). Уменьшение содержания хитозана в смесях с пироксикамом (массовое соотношение 0,5 : 1), приводит к снижению скорости растворения пироксикама. Полагаем, что при малых количествах хитозана в смеси, вероятно, не достигается полного распределения пироксикама в матрице, что и приводит к ухудшению его растворимости в воде и солянокислых растворах.

При сравнении результатов высвобождения пироксикама из матрицы носителя в водном и кислых растворах, нами найдено, что в кислой среде концентрация пироксикама более низкая. В кислой среде происходит изменение матрицы носителя: хитозан из β – модификации переходит в более

устойчивую α – модификацию, что, очевидно, способствует образованию более прочных межмолекулярных связей с пироксикамом.

Таким образом, нами показано, что образование супрамолекулярного комплекса между хитозаном и пироксикамом может происходить как при их совместной механообработке, так и при растворении смеси, приготовленной из предварительно подвергнутых механообработке компонентов.

Молекулярно-топологическая структура супрамолекулярного комплекса хитозана с пироксикамом

Образование супрамолекулярного комплекса в процессе совместной механообработки хитозана с пироксикамом подтверждается его свойствами (спектральные характеристики, повышенная растворимость пироксикама) и данными ТМС. Термомеханические кривые образцов, полученных при смешении механообработанных компонентов, и образцов, полученных при механообработке смеси хитозана и пироксикама, которая сопровождается образованием супрамолекулярного комплекса, принципиально отличаются друг от друга. ТМК физической смеси характерна для аморфно-кристаллического полимера с тремя кристаллическими фракциями (блоки). В застеклованном состоянии смесь находится вплоть до $T_c = -22^\circ\text{C}$, свободный геометрический объем составляет $V_f = 0,185$. При дальнейшем нагревании происходит процесс накопления деформации, что свидетельствует о переходе смеси в область высокоэластичности.

Кристаллические блоки плавятся при температурах: 119°C , 158°C . Плавление последнего кристаллического блока начинается при $T_{пл} = 186^\circ\text{C}$, расширение его происходит со скоростью $\alpha_k = 714,3 \cdot 10^{-5} \text{ град}^{-1}$ и завершается переходом его в режим молекулярного течения при $T_t = 195^\circ\text{C}$.

ТМК смеси, полученной из хитозана и пироксикама, подвергнутых механохимической модификации совместно в ПЦМ в течение 15 мин, характерна для аморфно-кристаллического полимера с аморфным блоком псевдосетчатой структуры. Аморфная часть структуры находится в застеклованном состоянии вплоть до $T_c = -40^\circ\text{C}$, со свободным геометрическим объемом $V_f = 0,087$ (для механообработанного хитозана $V_f = 0,285$). Из величины геометрического свободного объема биополимера следует, что за счет включения в матрицу полимера молекул пироксикама при механохимическом модифицировании происходит его уменьшение в 3 раза по сравнению с геометрическим свободным объемом механообработанного хитозана.

Таким образом, полученные нами результаты подтверждают межмолекулярное взаимодействие хитозана с пироксикамом при их совместном механохимическом модифицировании с образованием супрамолекулярного комплекса.

Структура и свойства хитина и хитозана, модифицированных в присутствии монохлорацетата натрия и гидроксида натрия

Нерастворимость биополимеров в воде ограничивает области их применения. Одним из перспективных направлений является получение водорастворимых карбоксиметилловых эфиров хитина (КМХ) и хитозана (КМХТ). В работах Акоповой Т.А. с соавторами предложено получение карбоксиметилловых эфиров хитина и хитозана в условиях пластического течения. Нами проведено модифицирование хитина и хитозана в присутствии монохлорацетата натрия (Na-MХУК) и гидроксида натрия (NaOH) в двух видах мельниц (ПЦМ, с силой воздействия на шар 20g и вибрационно-шаровой - SPEX 8000, с силой воздействия на шар 8g) с эффектом ударного воздействия мелющих тел на взаимодействующие вещества.

Образование карбоксиметилловых эфиров подтверждено данными ИК-спектроскопии. В спектрах карбоксиметилированных продуктов наблюдается уменьшение интенсивности полосы в области $3445 - 3400 \text{ см}^{-1}$, характеризующей валентные колебания гидроксильных групп. Увеличение интенсивности полосы 1611 см^{-1} для спектров карбоксиметилированных образцов связано с колебаниями карбоксилатных групп.

Свойства продуктов механохимического карбоксиметилирования представлены в таблицах 3 и 4. Синтез карбоксиметилловых эфиров хитина и хитозана проводили при мольном соотношении компонентов 1:1:1.

Таблица 3 - Свойства карбоксиметилированного хитина

Продолжительн ость синтеза, мин	Степень превращения по гидроксильным группам, %	ПЦМ, (20g)		
		Растворимость в воде, %	Характеристи ческая вязкость мл/г	Среднемесовая $M_w \cdot 10^{-3}$
2	33,5	43,8	0,53	3,88
5	47,0	74,3	0,34	2,43
8	53,8	81,7	0,10	0,73
10	59,6	89,5	0,08	0,56
15	67,8	91,2	0,07	0,48
20	69,2	92,6	0,06	0,44
Вибрационно-шаровая (SPEX 8000, 8 g)				
3	29,7	30,2	—	—
6	31,6	34,4	0,35	2,47
9	39,3	40,3	0,32	2,26
15	55,5	77,6	0,25	1,78
20	58,2	80,4	0,20	1,44
25	62,3	87,6	0,18	1,27

Таблица 4 - Свойства карбоксиметилированного хитозана

Продолжительность синтеза, мин	ПЦМ, (20g)			
	Степень превращения по гидроксильным и аминной группам, %	Растворимость в воде, %	Характеристическая вязкость, мл/г	Средневесовая $M_w \cdot 10^{-3}$
5	25,2	22,3	—	—
10	47,8	90,5	0,06	0,45
15	50,9	91,4	0,03	0,24
20	54,0	93,1	0,02	0,19
Вибрационно-шаровая (SPEX 8000, 8 g)				
5	23,7	20,5	0,92	6,70
10	33,9	41,8	0,81	5,90
15	37,2	67,6	0,67	4,88
20	41,6	77,4	0,49	3,56
25	45,6	81,4	0,41	2,98

Продукты карбоксиметилирования частично или полностью растворимы в воде, имеют невысокую характеристическую вязкость, в связи с чем, их можно рекомендовать в качестве понизителей вязкости растворов.

С увеличением продолжительности синтеза степень превращения по функциональным группам в хитине и хитозане возрастает, что приводит к увеличению растворимости продуктов в воде. Меньшая растворимость продуктов, полученных в вибромельнице, при сравнимом содержании карбоксиметильных групп, указывает на структурную неоднородность макромолекулярной цепи карбоксиметильных эфиров хитина и хитозана.

Степень алкилирования функциональных групп при карбоксиметилировании хитина и хитозана в ПЦМ и вибромельнице различна. Большее содержание карбоксиметильных групп, определенных кондуктометрическим способом, у продуктов, полученных в ПЦМ (23 %- хитин; 27 %- хитозан), связано с более интенсивным ударным воздействием мелющих тел (стальных шаров). Наиболее эффективно замещение проходит в первые 10 мин. синтеза. Продукты реакции содержат около половины КМГ от максимально введенных за 25 мин. от начала реакции. В мельницах ударного типа через 20 и 25 мин от начала синтеза количество вводимых новых КМГ различается не значительно, что указывает на максимально введенное количество КМГ в данных условиях синтеза.

Нами установлено, что наиболее интенсивно процессы деструкции идут в первые минуты синтеза, что сопровождается значительным уменьшением молекулярных масс продуктов карбоксиметилирования.

ТМК карбоксиметилированного хитозана, полученного в ПЦМ (20 мин.), характеризует его как полиблочный аморфно-кристаллического полимер.

Кинетические параметры реакции оценивали по топохимическому уравнению Колмогорова – Ерофеева – Авраами: $\alpha = 1 - \exp(-k \tau^n)$; где α - степень превращения, k - константа скорости реакции, τ - время прохождения

реакции, n - порядок реакции, связан с геометрическими параметрами, изменяющимися в процессе реакции граничной поверхности реакционных участков в матрице твердого тела.

Значения кинетических параметров карбоксиметилированного хитозана (ХТ) представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Кинетические параметры карбоксиметилирования хитозана при молярном соотношении компонентов 1:1:1

Тип трибореактора	$K_p, \text{мин}^{-1}$	n
ПЦМ, (20g)	$2,3 \cdot 10^{-2}$	0,52
Вибрационно-шаровая мельница (8g)	$5,7 \cdot 10^{-3}$	0,38

Максимальное значение константы скорости получено при карбоксиметилировании в ПЦМ, что связано с более интенсивным воздействием энергий механических напряжений при ударном воздействии тел. Значения n свидетельствуют о том, что реакция О-алкилирования является диффузионно-контролируемым процессом.

Карбоксиметилированный хитозан характеризуется более высокой растворимостью в воде (93,1 %) по сравнению с исходным образцом хитозана, поэтому продукты карбоксиметилирования мы использовали в качестве носителя для пироксикама и изучили их свойства. Значения скорости растворения пироксикама из смесей с образцами карбоксиметилированного хитозана оказались сравнимыми с результатами растворения пироксикама из смесей с хитозаном. Таким образом модифицирование хитозана карбоксиметилированием и перевод его в водорастворимое состояние не изменяет свойства структуры биополимера как носителя для пироксикама.

Применение карбоксиметилированного хитозана в качестве индуктора болезнеустойчивости яровой пшеницы

Карбоксиметилированный хитозан исследовали в качестве протравителя семян яровой пшеницы. Нами определено влияние протравливания карбоксиметилированным хитозаном на вредоносность корневых гнилей и урожайность яровой пшеницы по существующим стандартным методикам.

По итогам учета продуктивности культуры установлено, что протравливание семян пшеницы КМХТ и препаратом «Нарцисс», в качестве эталона, в дозе 80 г/т привело к существенному увеличению урожайности. Увеличение продуктивности культуры объясняется росторегулирующими и фунгицидными свойствами КМХТ и «Нарцисса». КМХТ является хорошим пленкообразователем. Это свойство усиливается тем, что пленка имеет оптимальную влагоудерживающую способность и обладает селективными свойствами в отношении O_2 и CO_2 .

Таким образом, обработка семян хитозаном обеспечивает тройной эффект: защитные свойства при покрытии семян пленкой из хитозана; росторегулирование; индуцирование защитных свойств растений. Препараты на основе хитозана благодаря своей комплексности могут широко использоваться, наряду с гербицидами, пестицидами.

Выводы

1. Установлено, что механическое модифицирование сопровождается изменением физико-химических свойств биополимеров: хитозан из нерастворимого переходит в малорастворимый в воде полимер ($0,71 \cdot 10^{-2}$ мг/мл), происходит увеличение удельной поверхности хитина и хитозана.

2. Показано, что хитин характеризуется более упорядоченной структурой по сравнению с хитозаном и является полностью закристаллизованным полимером. Механообработка хитина в ПЦМ через 15 минут сопровождается понижением его степени кристалличности с последующим ее возрастанием при увеличении продолжительности механообработки до 25 минут. При механообработке хитозан переходит из аморфно-кристаллического полимера в аморфно-кластерный полимер с аморфным блоком псевдосетчатого строения.

3. Впервые получен супрамолекулярный комплекс хитозана с пироксикамом в условиях механического модифицирования, образование которого подтверждено методами ИК- и УФ- спектроскопии. Получены физико-химические характеристики фазового состояния комплекса. Установлено, что включение пироксикама в структуру биополимера способствует уменьшению его геометрического свободного объема в 3 раза.

4. Найдены условия получения максимально растворимой формы пироксикама в воде и солянокислой среде. Растворимость пироксикама в виде супрамолекулярного комплекса с хитозаном превышает растворимость как исходного, так и механообработанного препарата.

5. Проведено твердофазное карбоксиметилирование хитина, хитозана в условиях механических напряжений при ударном воздействии твердых тел. Установлено, что карбоксиметиллирование хитозана при механообработке способствует формированию топологически полиблочной структуры биополимера.

6. Твердофазное карбоксиметилирование в планетарно-центробежной мельнице является более избирательным к структуре исходных полимеров и способствует образованию продуктов с большим содержанием карбоксиметильных групп (в хитине-23 %, хитозане-26 %) по сравнению с вибрационно-шаровой мельницей (в хитине-20 %, хитозане- 21 %). При этом карбоксиметилированный хитозан сравним с хитозаном по способности образовывать супрамолекулярный комплекс с пироксикамом, характеризующийся повышенной растворимостью пироксикама.

7. Показано, что карбоксиметилированный хитозан способствует увеличению продуктивности яровой пшеницы.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Иващенко Г.Л., Шахтшнейдер Т.П., Болдырев В.В., Базарнова Н.Г., Иванов А.В., Гартман О.Р. Механическая активация как способ получения водорастворимых форм хитина и хитозана в твердой фазе //Химия в интересах устойчивого развития. - 2002. - Т. 10, № 1-2. - С. 69-76.
2. Иващенко Г.Л., Шахтшнейдер Т.П., Болдырев В.В., Базарнова Н.Г. Механическая активация как способ получения композиций хитозана с лекарственными веществами // Вестник СибГТУ, 2001. - № 2. – С. 136 – 140.
3. Ivashchenko G.L, Shakhtshneider T.P., Boldyrev V.V., Bazarnova N.G., Medvedeva A.S., Safronova L.P. Effect of mechanical activation on the physicochemical properties of piroxicam with chitosan //Mendelev Communications. – 2003. - V. 1. - P. 3 - 5.
4. Иванов А.В., Яценко (Иващенко) Г.Л., Базарнова Н.Г., Шахтшнейдер Т.П., Болдырев В.В., Гартман О.Р. Влияние механической активации на карбоксиметилирование хитина и хитозана в твердой фазе //Материалы 6-й Международной конференции "Новые достижения в исследовании хитина и хитозана".- Москва, Изд-во ВНИРО. 2001. - С.19-24.
5. Яценко (Иващенко) Г.Л. Исследование химических и структурных превращений хитина и хитозана в реакции и твердофазного карбоксиметилирования с использованием механоактивации //Материалы XXXIX Международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс». – Новосибирск, 2001. – С. 129.
6. Яценко (Иващенко) Г.Л., Базарнова Н.Г., Шахтшнейдер Т.П., Болдырев В.В. Механическая активация как способ получения композиций хитозана с лекарственными веществами //Горячие точки супрамолекулярной химии: Материалы учебно-методической конференции «Опыт введения новейших достижений супрамолекулярной химии в учебные программы средних и высших учебных заведений». Тезисы докладов. - Новосибирск, 2001. – С. 234.
7. Yatsenko (Ivashchenko) G.L., Bazarnova N.G., Shakhtshneider T.P., Boldyrev V.V. Investigation of chemical and structural transformation of chitin and chitosan in solid-phase carboxymethylation using mechanical activation //Book of Abstracts of the International Conference "Fundamental Bases of Mechanochemical Technologies". Тезисы докладов. – Новосибирск, 2001. – С. 97.
8. Яценко (Иващенко) Г.Л., Базарнова Н.Г., Шахтшнейдер Т.П., Болдырев В.В. Исследование влияния механоактивации на структуру хитина, хитозана. Реакционная способность биополимеров в условиях механохимического синтеза //Тезисы докладов Международной

- конференции «Физико-химические процессы в неорганических материалах». - Кемерово, 2001. - С. 170.
9. Иващенко Г.Л., Шахтшнейдер Т.П., Болдырев В.В., Базарнова Н.Г. Механохимическое модифицирование свойств лекарственных веществ в системах с хитозаном //Материалы Научно-практической конференции «Новые химические системы и процессы в медицине». Тез. Докл. - Новосибирск, 2001. - С. 68.
 10. Иващенко Г.Л. Исследование композиций пироксикама с хитозаном, полученных механической активацией //Материалы XL Международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс». Тез. Докл. - Новосибирск, 2002. - С. 94-95.
 11. Иващенко Г.Л., Базарнова Н.Г., Шахтшнейдер Т.П., Болдырев В.В. Исследование физико-химических свойств биополимеров: хитина и хитозана в условиях механохимической активации //Тезисы докладов Всероссийского семинара «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». - Барнаул, 2002. - С. 113.
 12. Иващенко Г.Л., Шахтшнейдер Т.П., Болдырев В.В., Базарнова Н.Г., Медведева А.С., Сафронова Л.П. Исследование физико-химических свойств композиций пироксикама с хитозаном, полученных механической активацией //Тезисы докладов II Объединенной научной сессии СО РАН и СО РАМН «Новые технологии в медицине». - Новосибирск, 2002. - С. 56.
 13. Иващенко Г.Л., Базарнова Н.Г., Яценко Л.К., Иващенко В.Е. Возможность применения карбоксиметилированного хитозана в качестве индуктора болезнеустойчивости яровой пшеницы //Тезисы докладов Всероссийской конференции «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». - Барнаул, 2005. - С. 68-70.

Подписано в печать 23.11.2005 г. Формат 60×84 1/16

Печать - ризография. Усл.п.л. 1,16

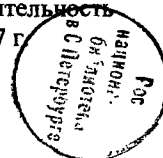
Тираж 100 экз. Заказ 2005 - 128

Отпечатано в типографии АлтГТУ

656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, 46

Лицензия на полиграфическую деятельность

ПЛД № 28-35 от 15.07.1997 г.



28 FEB 2006