На правах рукописи

Пашкова Людмила Ивановна

ПОЛИМЕРНЫЕ ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ СШИТОГО ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА

02.00.06 – Высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2012

Работа выполнена в УНЦ «Биоматериалы» Российского химико-технологического университета имени Д.И.Менделеева

Научный руководитель — доктор химических наук, профессор **Штильман Михаил Исаакович**

Официальные оппоненты — доктор химических наук, профессор **Ямсков Игорь Александрович,** зав. лабораторией физиологически активных биополимеров Института элементорганических соединений имени А.Н.Несмеянова РАН

доктор химических наук, профессор **Писов Иван Михайлович**, профессор кафедры химии Московского автомобильно-дорожного государственного технического университета

Ведущая организация: Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В.Ломоносова

Защита диссертации состоится 24 октября 2012 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 212.204.01 при Российском химико-технологическом университете имени Д.И.Менделеева (125047, гор. Москва, Миусская пл., д.9) в конференц-зале.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре Российского химико-технологического университета имени Д.И.Менделеева.

Автореферат разослан 24 сентября 2012 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета Будницкий Ю.М.
Д 212.204.01

1. Введение

Актуальность работы. Полимерные гидрогели в силу ряда уникальных свойств, позволяющих использовать их в различных областях, связанных с медициной и биотехнологией, привлекают в последние десятилетия все большее внимание исследователей. В литературе описаны примеры применения таких гелей как компонентов систем с контролируемым выделением лекарственного вещества, подложек для клеточной инженерии, материалов для имплантатов и пломбировочных материалов в хирургии, и т.п.

Как правило, полимерные гидрогели получают посредством радикальной полимеризации низкомолекулярных мономеров в присутствии бифункционального сшивающего агента, либо сшивкой высокомолекулярных полимеров низкомолекулярными многофункциональными сшивающими агентами. В обоих случаях существенной проблемой является очистка готовых гидрогелей от токсичных низкомолекулярных веществ (мономеров и/или сшивающих агентов). Данный факт значительно увеличивает риск возможных осложнений при использовании готовых гидрогелей с живыми объектами, а также снижает спектр возможных применений этих полимерных систем, например, исключает возможность формирования гидрогеля in vivo.

Одним из возможных способов устранения этого и ряда других недостатков является использование для получения гидрогелей ненасыщенных производных биосовместимых полимеров, способных к сшивке в присутствии нетоксичных инициаторов радикальной полимеризации. Преимуществом такого подхода является отсутствие в реакционной системе токсичных низкомолекулярных веществ (мономеров или сшивающих агентов). Это в значительной степени упрощает и удешевляет технологию получения гидрогелевых систем, а также существенно увеличивает число возможных сфер их применения.

Поэтому разработка методов и подходов, позволяющих получать гидрогели на основе биосовместимых полимеров по такой схеме, представляет

значительный интерес.

Цель и задачи исследования. Целью настоящего исследования являлось получение полимерных гидрогелей на основе ненасыщенных производных поливинилового спирта и изучение их свойств.

Для выполнения данной цели были поставлены следующие задачи:

синтез модифицированного полимера на основе поливинилового спирта, в боковую цепь которого входят группы, содержащие кратные связи, в количестве, достаточном для образования трехмерной пространственной структуры в результате сшивки по свободно-радикальному механизму в присутствии инициаторов радикальной полимеризации при незначительном изменении физико-химических и токсикологических свойств модифицированного полимера по сравнению с исходным поливиниловым спиртом; исследование процесса модификации поливинилового спирта;

изучение влияния различных факторов на процесс образования сшитых макропористых гидрогелей на основе модифицированного поливинилового спирта в водных растворах и выявление оптимальных путей их синтеза;

исследование свойств и строения образующихся гидрогелей;

исследование токсикологических характеристик полученных гидрогелей, изучение возможности их практического применения.

Научная новизна. В работе синтезированы изотропные полимерные гидрогели на основе ненасыщенных производных поливинилового спирта. Исследован процесс их сшивки под воздействием жесткого излучения и в присутствии инициаторов радикальной полимеризации, выявлено влияние условий синтеза на строение образующихся систем, изучены деформационные свойства, и проведена оценка параметров пространственной сетки полученных гидрогелей. Продемонстрирована высокая биосовместимость полученных гидрогелевых систем.

Практическая значимость работы. Разработан метод синтеза полимерных гидрогелей, позволяющий исключить наличие в системе

мономеров и токсичных сшивающих агентов. Показана возможность формирования таких гидрогелей in vivo, продемонстрирована принципиальная возможность их использования для создания систем с контролируемым выделением, а также для создания композитных материалов на основе биокерамики, обладающих улучшенными свойствами.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на Всероссийском совещании «Биоматериалы в медицине», конференциях: 1st Russian – «Hellenic Symposium on Polymeric Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues» (Ираклион, Крит, Греция, 2010, 2012).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 научных работ (2 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, и 3 тезисов докладов на российских международных конференциях).

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 131 странице, состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы; содержит 19 таблиц, 37 рисунков, 108 библиографических ссылок.

Полученные результаты и их обсуждение.

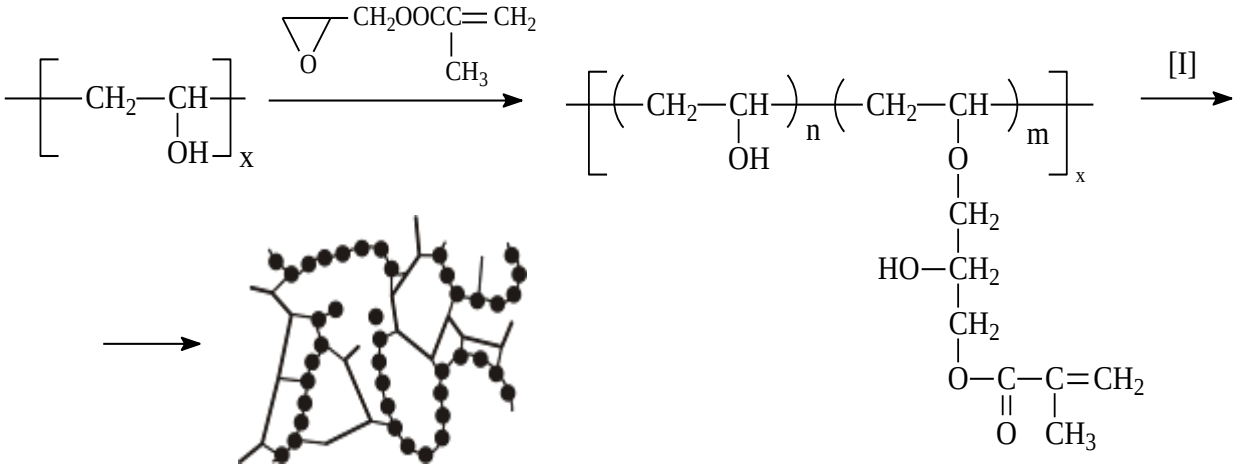
Объекты исследования

В данной работе были изучены некоторые подходы к синтезу и применению изотропных (непористых) полимерных гидрогелей, получаемых сшивкой в растворах ненасыщенных производных поливинилового спирта при положительных температурах.

1. Изучение процесса модификации поливинилового спирта.

На первом этапе работы было проведено исследование процесса модификации поливинилового спирта (ПВС) глицидилметакрилатом (ГМА). Реакции проводили в среде диметилсульфоксида в присутствии серной кислоты в качестве катализатора в интервале температур 70-110 °С и концентраций

полимера от 2 до 10 мас. % при соотношениях ГМА и ПВС от 1/50 до 1/10 моль/моль-эквивалент.



Состав образующегося модифицированного полимера подтверждается данными ПМР и ИК-спектроскопии.

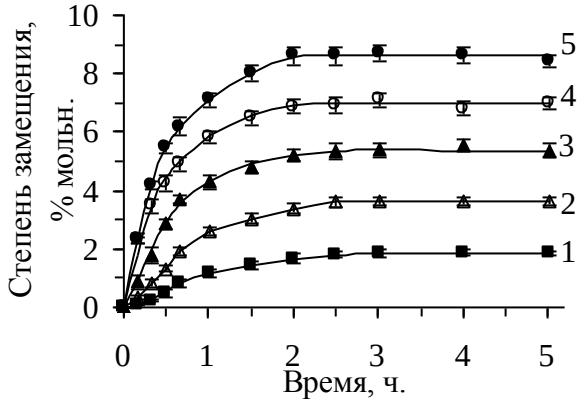


Рис.1. Зависимость степени замещения от времени при различном соотношении реагентов. Соотношение ГМА/ПВС 1–1/50, 2-1/25, 3-1/16,7, 4-1/12,5, 5-1/10 моль/осново-моль, концентрация ПВС 6 мас.%, температура синтеза 90 °С.

По результатам проведенных исследований были построены кривые конверсий для реакций, протекающих в различных условиях (пример типичной зависимости показан на рис.1), выявлены оптимальные условия, позволяющие получать полимер с заданной степенью замещения ОН-групп.

2. Изучение процесса радиационно-химического синтеза гидрогелей.

Применение радиационного облучения считается весьма удобным инструментом для формирования гидрогелей, в том числе, и гидрогелей на основе ПВС. С целью изучения закономерностей влияния различных факторов на процесс формирования сшитых гидрогелей на основе модифицированного поливинилового спирта был проведен ряд синтезов при различных

концентрациях реакционной системы и температурах. Реакцию полимеризации проводили при температурах 0 и 20 ºС при интенсивности облучения 0,1 Гр/с.

Изучение динамики процесса показало, что в данных условиях реакции сшивки протекают достаточно эффективно. Уже на ранних стадиях процесса образуется гидрогель, иммобилизующий всю содержащуюся в системе воду.

При проведении процесса при более высокой температуре скорость процесса гелеобразования закономерно растет, однако при меньшей температуре достигается более высокое содержание гель-фракции. Облучение раствора исходного немодифицированного ПВС в тех же условиях (температура и концентрация) не приводит к образованию сшитых структур. В этом случае облученная система представляет собой раствор существенно меньшей вязкости, что свидетельствует о деструкции цепей полимера.

При практически приемлемых временах облучения достичь значений выхода гель-фракции, превышающего 50 %, не удалось. Основной причиной этого, очевидно, является устанавливающееся в системе динамическое равновесие между процессами сшивки с участием кратных связей боковых цепей и деструкции основных цепей ПВС.

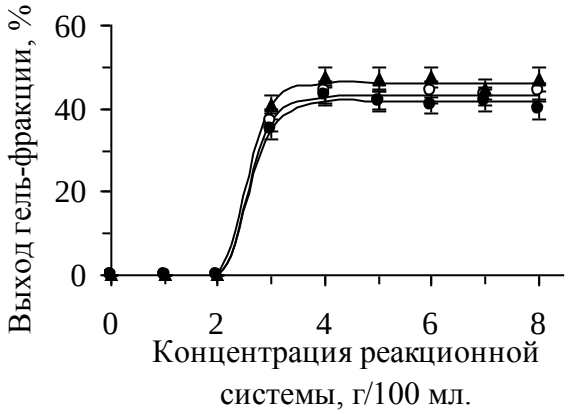


Рис.2. Зависимость выхода сшитого полимера от концентрации реакционной системы
Интенсивность облучения – 0,1 Гр/с. Время облучения 180 минут. Температура 0 °С. Степень замещения полимера: (●)- 1,75 мольн.%, (○)- 2,5 мольн.%, (▲) – 4,2 мольн.%

На рис. 2 представлена зависимость выхода сшитого полимера от концентрации модифицированного ПВС в реакционной системе. При концентрациях менее ~2,5 г/100 мл в реакционной системе трехмерная сетка (макрогель) не образуется. С другой стороны, в узком диапазоне концентраций

(от 2 до 3 г/100 мл), хорошо соотносящимся с расчетным значением концентрации перекрывания клубков и неизменном для всех использованных степеней замещения полимера происходит резкое возрастание выхода гель-фракции, причем при дальнейшем увеличении концентрации реакционной системы выход гель-фракции практически не меняется.

3. Изучение процесса синтеза гидрогелей при вещественном инициировании.

Поскольку при радиационно-химическом синтезе не удавалось достигнуть высоких значений выхода гель-фракции, проводилось изучение гелеобразования в растворах синтезированного модифицированного поливинилового спирта в присутствии инициаторов радикальной полимеризации.

В работе были использованы несколько инициирующих систем:

1) Инициирующая система персульфат калия – N,N,N'N'-тетраметилэтилендиамин (ПСК–ТМЭД)

2) Инициирующая система перекись водорода - аскорбиновая кислота (ПВ-АК)

В этих случаях сшивка проводилась при комнатной температуре.

Кроме того, проводилось изучение сшивки в присутствии персульфата калия (ПСК) при повышенных температурах.

Изучение динамики процесса показало, что в используемых условиях реакции сшивки протекают достаточно эффективно и время сшивки изменяется, в зависимости от условий от нескольких до десятков минут.

Причем, если в случае радиационно-химической сшивки уже на ранних стадиях процесса образовывался сшитый продукт, иммобилизующий всю содержащуюся в системе воду, то в случае вещественного инициирования на начальных стадиях процесса до определенного момента макрогель не образовывался, а имело место нарастание вязкости системы, после чего происходила потеря системой текучести и быстрое нарастание выхода гель-

фракции.

Характерно, что зачастую лишь часть воды, имеющейся в реакционной системе, была иммобилизована в массе гидрогеля, то есть наблюдался, своего рода синерезис. В случае низких концентраций реакционной системы наблюдалось также образование нескольких «очагов» гелеобразования, в которых система теряла текучесть, объединяющихся впоследствии в монолитный гидрогель.

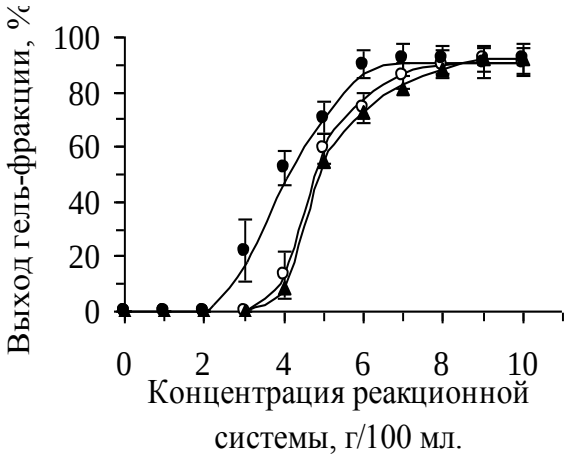


Рис.3. Зависимость выхода сшитого полимера от концентрации реакционной системы
Инициирующая система ПСК-ТМЭД, концентрация инициатора 3 г/л. Время реакции 20 минут. Температура 20 °С. Степень замещения полимера: (●)- 1,75 мольн.%, (○)- 2,5 мольн.%, (▲) – 4,2 мольн.%

Как и в случае радиационно-химической сшивки, зависимость выхода гель-фракции от концентрации реакционной смеси имела критический характер. Однако, в случае вещественного инициирования наблюдаемая критическая концентрация, ниже которой не происходило образование макрогеля, была выше (рис.3) и зависела от степени замещения макромера. Заметно шире был и диапазон, в котором происходит возрастание выхода гель-фракции.

Подобная картина подтверждает значительное влияние на образование сшитого гидрогеля процессов деструкции полимерных цепей при радиационно-химической сшивке, которые, очевидно, и вносят существенный вклад в межмолекулярную сшивку при достижении концентрации перекрытия клубков даже при недостаточном для эффективной сшивки количестве кратных связей в реакционной системе.

Для всех использованных инициаторов (инициирующих систем) имелось

некоторое критическое содержание инициатора в смеси, ниже которого не происходило образование гидрогеля. Что может быть объяснено отсутствием числа узлов сшивки, достаточного для образования трехмерной сшитой сетки гидрогеля.

По достижении критического значения концентрации инициатора происходил достаточно быстрый рост выхода гель-фракции, что вполне очевидно и объясняется законом действующих масс. Однако, если в случае использования в качестве инициатора персульфата калия (как в случае использования ускорителя распада, так и в его отсутствие) зависимость выхода от содержания выходила на «плато», то в случае использования системы «перекись водорода – аскорбиновая кислота» данная зависимость имела экстремальный характер.

4. Оценка параметров структуры сетки полимерных гидрогелей

Характер взаимодействия полимерного гидрогеля с организмом, например срок его биодеградации, проницаемость для различных веществ и клеток и т.п., его механические физико-химические свойства в значительной степени определяются характером трехмерной полимерной сетки, образующейся при формировании гидрогеля. Поэтому его изучение представляет значительный практический и теоретический интерес.

В силу этого, в данной работе была проведена оценка характера полимерной сетки гидрогелей, полученной путем радикального сшивания в водных системах модифицированного поливинилового спирта.

Для определения параметров структуры сетки (концентрации межузловых цепей n_c и длины - степени полимеризации межузловых цепей N) был использован подход, основанный на предсказаниях теории упругости полимерных сеток. Исходными данными служили результаты измерения равновесного модуля упругости (модуля сдвига) полимерных гидрогелей.

Концентрации межузловых цепей в сухой сетке n_c рассчитывали из измеренных значений модуля упругости гидрогелей в состоянии приготовления

G_{prep} по формуле:

$$n_c = \frac{G_{prep}}{RT\phi_{prep}} \qquad (1)$$

Из величины n_c, предполагая, что сетка является совершенной, т.е. не имеет структурных дефектов (висящих цепей, циклов), рассчитывали среднюю степень полимеризации межузловых цепей N. Вычисления проводили по соотношению:

$$N = \frac{1}{n_c V_m} \qquad (2)$$

Пример полученных экспериментальных данных представлен в таблице1.

Таблица 1. Характеристики степени сшивания исследованных гидрогелей (G_{prep}-модуль упругости гидрогеля, N- степень полимеризации межузловых цепей, n_c- концентрации межузловых цепей в сухой сетке)

Полимеризация в присутствии инициатора (ПСК-ТМЭД)					
Концентрация макромера, г/100мл	Степень замещения, мольн.%	Концентрация инициатора, г/л	$n_c \times 10^5$, моль/см^3	N	
				из G_{prep}	из степени замещения
6	4,2	2	2,744	828	24
8	4,2	2	3,804	597	24
10	4,2	2	4,421	514	24
20	4,2	2	7,587	300	24
8	4,2	1	4,742	479	24
8	4,2	2	3,804	597	24
8	4,2	3	3,155	720	24
8	2,5	2	3,661	621	40
8	4,2	2	3,687	616	24
8	8,6	2	3,943	576	12

Радиационно-химическая полимеризация						
Концентрация макромера, г/100 мл	T, °C	Степень замещения, мольн.%	Доза облучения, кГр	$n_c \times 10^5$, моль/см^3	N	
					из G_{prep}	из степени замещения
8	0	4,2	1,08	65,421	35	24
8	20	4,2	1,08	125,609	18	24

Как видно из таблицы, определенные значения степени полимеризации

цепей, значительно превышают те, которые были рассчитаны по степени замещения модифицированного полимера, что свидетельствует о наличии большого количества различных дефектов, не участвующих в передаче напряжений в сетке, и не вносящих вклад в ее модуль упругости.

Интересным является сопоставление полученных данных с данными для гелей, синтезированных радиационно-химическим методом. Как видно, плотность сшивки гелей полученных при облучении, как минимум, на порядок выше таковой у гелей, полученных в присутствии инициаторов радикальной полимеризации. Что подтверждает сделанное предположение о существенном влиянии в этом случае процессов деструкции-сшивания основных цепей поливинилового спирта на образование сетки гидрогеля.

С целью определения влияния условий проведения процесса на характер сетки образующихся гидрогелей, был проведен ряд синтезов при различных условиях, и были исследованы зависимости модулей упругости гидрогелей от этих условий.

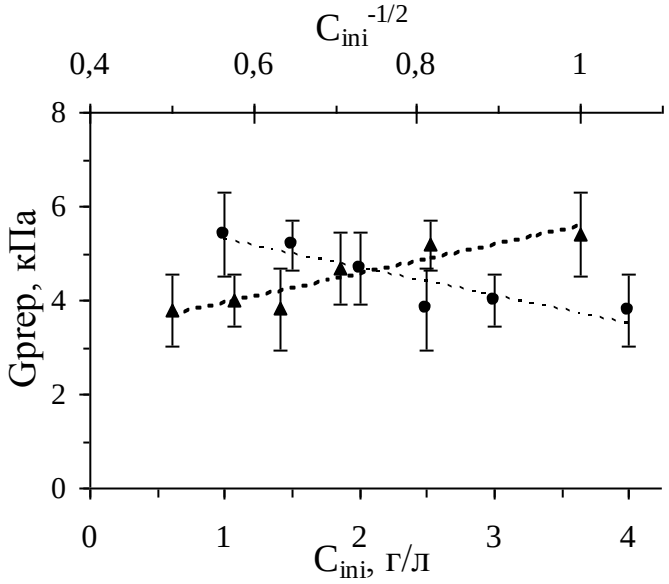


Рис.4. Зависимость модуля упругости гидрогелей в состоянии приготовления от концентрации инициатора ((●) – от c_{ini}, (▲) – от $c_{ini}^{-1/2}$) Концентрация макромера 8 г/100 мл., степень замещения макромера 4,2 мольн. %, молекулярная масса 14400

Было обнаружено, что для синтезированных образцов гидрогелей модуль упругости линейно возрастает с повышением концентрации макромера, а степень сшивания увеличивается при росте концентрации гидрогеля при приготовлении выше критической. Очевидно, это связано с наличием в трехмерной сетке гидрогеля большого числа дефектов, количество которых уменьшается по мере роста концентрации реакционной системы.

При изменении концентрации инициатора, модуль упругости при приготовлении несколько понижается по мере ее роста (рис.4). Это можно объяснить увеличением длины узловых цепей, т.е. их функциональности. Поскольку узлами в сетке являются полимерные цепи, растущие при радикальной полимеризации замещенных звеньев цепей поливинилового спирта, функциональность узлов сетки f_c определяется степенью полимеризации этих новых (узловых) цепей. Согласно же теории радикальной полимеризации, степень полимеризации цепей, растущих по механизму радикальной полимеризации, связана с концентрацией инициатора c_{ini} соотношением: $Nj \sim c_i^{-1/2}$

Поэтому, очевидно, что значения модуля упругости становятся выше при увеличении $c_{ini}^{-1/2}$, что согласуется с сделанным предположением (рис.4).

Логичным является предположение о том, что рост числа замещенных звеньев должен вести к заметному увеличению модуля упругости, в силу возрастания плотности сшивки.

Таблица 2. Влияние степени замещения на параметры гидрогелей. (G_{prep}- модуль упругости гидрогеля, N- степень полимеризации межузловых цепей, n_c- концентрации межузловых цепей в сухой сетке)

Степень замещения мольн. %	G_{prep}, кПа	N	
		из G_{prep}	из степени замещения
2,5	4,5	621	40
4,2	4,7	616	24
8,6	5,2	576	12

Однако как можно судить по данным, приведенным в таблице 2, в интервале использованных в работе степеней замещения (от 2,5 до 8,6 мольн.%) модуль упругости гидрогеля при приготовлении и степень сшивания крайне слабо зависят от степени замещения поливинилового спирта.

Значения N, рассчитанные по модулю упругости, сильно превышают теоретические, и не зависят от степени замещения полимера. Это еще раз доказывает, что мы имеем дело с сильно дефектной сеткой, и предположение о прямой зависимости модуля упругости от степени замещения в изучаемом случае не является верным.

Помимо метода, основанного на измерении метода упругости для изучения характера его сетки, была предпринята попытка определения частоты сшивания гелей на основании данных об их равновесном набухании в воде с использованием теории набухания нейтральных гелей.

Однако, при изучении равновесного набухания гидрогелей была обнаружена их чувствительность к добавкам низкомолекулярных электролитов, что не характерно для нейтральных гидрогелей и свидетельствует о наличии в полимерной сетке геля заряженных (ионизованных) звеньев.

Таблица 3. Сравнение степеней полимеризации межузловых цепей, рассчитанных из модуля упругости и степени набухания в 0,1 М водном растворе NaCl.

(G_{prep} - модуль упругости гидрогеля, N - степень полимеризации межузловых цепей)

Концентрация макромера, г/100 мл	Степень замещения, мольн.%	Концентрация инициатора, г/л	N		
			из G_{prep}	из Q	
				χ=0,49	χ=0,504
6	4,2	2	828	452	828
8	4,2	2	597	302	597
10	4,2	2	514	249	514
12	4,2	2	459	270	459
14	4,2	2	376	141	376

Более детально вопросы, касающиеся термодинамического состояния системы гель – вода и особенностей поведения синтезированных гидрогелей в растворе рассмотрены в соответствующих главах диссертации, здесь же отметим лишь тот факт, что нами было обнаружено практически полное исчезновение полиэлектролитных эффектов в набухании исследуемых гелей при добавлении в воду хлорида натрия в концентрации 0,1 моль/л. В таких условиях гели вели себя как нейтральные, что позволяет использовать для расчетов простое выражение, вытекающее из теории набухания нейтральных гелей

$$N = -\frac{V_1}{V_m}\frac{\varphi_{prep}^{2/3}\varphi^{1/3}}{[\ln(1-\varphi)+\varphi+\chi\varphi^2]} \qquad (3)$$

где объемная доля полимера в геле φ вычисляется из равновесной степени набухания геля Q по формуле $\varphi = 1/Q$.

Примеры результатов расчета по этой формуле для случая набухания гелей в 0,1 моль/л растворе NaCl приведены в табл. 5.

Как видно, в этом случае значения N, вычисленные при величине χ, соответствующей литературным данным (χ=0,49), сопоставимы с величинами N, найденными из модуля упругости, а значение параметра χ, обеспечивающее наилучшее согласие между величинами N, получаемыми разными методами (χ=0,504) оказывается близким к приводимым в литературных источниках.

5. Синтез гелей, содержащих иммобилизованный лекарственный препарат и исследование динамики его выделения.

С целью изучения принципиальной возможности получения на основе разрабатываемых гидрогелей систем с контролируемым выделением лекарственного препарата нами были синтезированы гидрогели с включенным модельным лекарственным веществом и изучена динамика его выделения из объема гидрогеля.

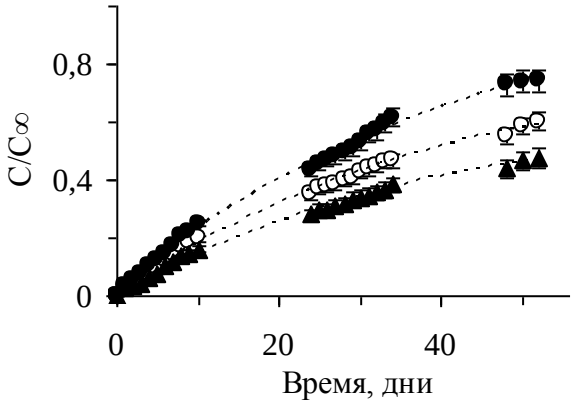


Рис.5. Зависимость выделения рифампицина от времени для гидрогелей, полученных при различных концентрациях полимера в реакционной смеси. Концентрация полимера:●-4 мас. %, ○-6 мас. %,▲-12 мас. %
Концентрация рифампицина 10 мг/мл, концентрация инициатора 0,3 г/л, степень замещения полимера 2,5 мольн.%

В качестве модельного вещества нами был выбран антибиотик рифампицин.

На рисунке 5 приведены зависимости, характеризующие выделение рифампицина из изотропных гелей, полученных при комнатной температуре при различной концентрации полимера в реакционной смеси. Как можно видеть, скорость выделения иммобилизованного антибиотика была относительно невелика, и наблюдалось заметное пролонгированное выделение

активного вещества.

6. Изучение возможности использования полимерных гидрогелей для создания композитных материалов на основе активных фосфатных стёкол.

Среди перспективных материалов для эндопротезирования особое место занимают биологически активные фосфатные стёкла. Уникальной особенностью этих стёкол является их способность к биохимическому взаимодействию с живой костной тканью, что приводит к стимулированию процесса остеогенеза и срастанию имплантата или эндопротеза с костью.

Однако эти материалы обладают недостаточно высокими прочностными характеристиками. В связи с чем, весьма перспективным представлялось использование разработанных в рамках данного исследования полимерных материалов для упрочнения исходных керамических материалов.

Образцы стекол помещали в раствор макромера, содержащий в качестве инициатора радикальной полимеризации персульфат калия, создавали вакуум для удаления воздуха из объема пор керамического материала и выдерживали в течение заданного времени, после чего образец извлекали и выдерживали при температуре 80 °С для образования сшитого гидрогеля, затем сушили до постоянной массы.

Было обнаружено, что максимально возможное покрытие поверхности образца пленкой гидрогеля происходило уже за 40-50 минут.

Следует отметить, что в результате пропитки структура материала, характер пористости, соотношение между закрытой и открытой пористостью и их размеры существенно не менялись в силу того, что масса гидрогелевой пленки на поверхности не превышала 1,5 %.

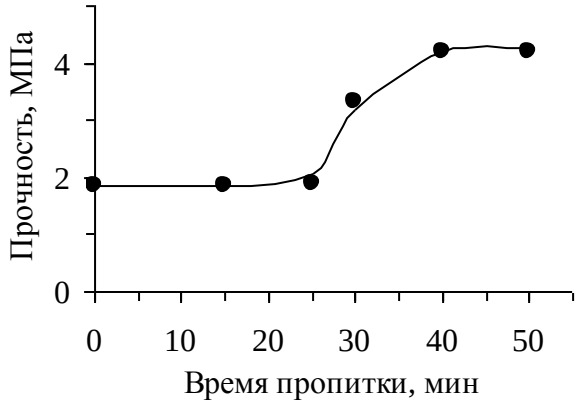


Рис.6. Влияние продолжительности пропитки образцов при изготовлении на их прочность.

При этом, однако, как можно видеть, введение в материал фазы полимерного гидрогеля значительно увеличивает его прочность с 1,85 до ~4,2 МПа, то есть более чем в два раза. Кроме того, формирование пленки гидрогеля на поверхности пор способствует снижению скорости потери образцами массы и выходу из них ионов фосфора и кальция при инкубации в растворе. Тем самым подтверждается возможность значительного улучшения эксплуатационных свойств материалов на основе биологически активных фосфатных стекол посредством введения в них разработанных в рамках данной работы сшитых гидрогелей на основе ненасыщенных производных поливинилового спирта.

7. Изучение биосовместимости полимерных гидрогелей.

Поскольку значительная доля потенциальных областей применения разрабатываемых гидрогелей связана с медициной, представлялось необходимым изучение поведения гидрогелей в контакте с живыми тканями организма. В силу этого нами была проведена серия экспериментов на животных.

В качестве экспериментальных животных выступали крысы. Стерилизованный раствор макромера, содержащий инициирующую систему, вводили внутрибрюшинно. Забор материала осуществлялся через 21 день, 3 и 6 месяцев после начала эксперимента. Ткани подвергались гистологическому исследованию.

На основании полученных данных можно утверждать, что реакция окружающих тканей на формируемый in vivo гидрогель заключается в выраженном фактически полном рассасывании с замещением рыхлой соединительной тканью без признаков воспалительной инфильтрации.

К одним из недостатков сшитых изотропных гидрогелей, обыкновенно, относят значительные диффузионные затруднения, возникающие при сорбции и десорбции ими различных веществ, в том числе метаболитов клеток и питательных веществ, необходимых для их роста в объеме геля. В тоже время, использование предложенного в рамках данной работы метода получения

гидрогелей in vivo представляется весьма перспективным для введения клеточных культур в организм.

С целью проверки сделанного предположения нами была проведена серия следующих экспериментов с использованием культуры мышиных жировых стромальных клеток. Прижизненно окрашенные DAPI (4′,6-диамино-2-фенилиндол) клетки смешивали с раствором макромера поливинилового спирта, содержащим инициирующую систему «перекись водорода – аскорбиновая кислота» и вводили подкожно экспериментальным животным – белым мышам.

Забор материала проводили через 21 день. Гидрогель с включенными клетками подвергали гистологическому исследованию с окраской маркером эпителиальных клеток сосудов CD31. При этом было обнаружено, что введенные на стадии инжектирования раствора для отверждения клетки спустя 21 день сохранили свою жизнеспособность, кроме того в объеме сформированного in vivo гидрогеля обнаружено формирование сосудов микроциркулярного русла, что делает возможным нормальное снабжение иммобилизованных в объеме гидрогеля клеток питательными веществами и удаление продуктов их метаболизма.

5. Выводы

1. Путем сшивания в вводных растворах водорастворимого поливинилового спирта, модифицированного глицидилметакрилатом, путем радиационной полимеризации и полимеризации в присутствии инициатора радикальной полимеризации получены низкотоксичные гидрогели, пригодные для медико-биологического использования.

2. Исследованием процесса модификации поливинилового спирта глицидилметакрилатом выявлены условия, позволяющие синтезировать полимеры с заданной степенью замещения, в том числе растворимые в воде.

3. Установлен характер влияния на протекание процесса сшивания поливинилового спирта концентрационного, температурного, временного и

иных факторов, что позволило выявить условия, позволяющие получать целевые продукты с высоким выходом.

4. По модулю упругости гелей при их приготовлении и степени их равновесного набухания охарактеризована степень сшивания гелей – определены концентрация и степень полимеризации межузловых цепей сетки. При этом было показано, что степень сшивания в случае радиационной полимеризации существенно выше, чем в случае вещественного инициирования.

5. При изучении набухания в воде гидрогелей, полученных в присутствии инициаторов радикальной полимеризации, установлена их чувствительность к добавкам низкомолекулярных электролитов, объясняемая наличием в полимерной сетке геля заряженных (ионизованных) звеньев. Проведена оценка степени ионизации сетки, предложен возможный механизм возникновения ионогенных групп.

6. Продемонстрирована принципиальная возможность использования гидрогелей для создания систем с контролируемым выделением активного вещества, а также композитных материалов, на основе биокерамики, обладающих улучшенными свойствами.

7. Продемонстрирована высокая степень биосовместимости, полученных полимерных систем и показана возможность их формирования in vivo.

Список публикаций по теме диссертации.

1. *Артюхов А.А., Голунова А.С., Пашкова Л.И., Кусков А.Н., Лесовой Д.Е., Фомина А.П., Штильман М.И. Макропористые полимерные гидрогели поливинилового спирта, содержащие аминогруппы // Пластические массы, 2010, № 4, .- С. 15-21

2. *A.A. Artyukhov, M.I. Shtilman, A.N. Kuskov, L.I. Pashkova, A.M. Tsatsakis, A.K. Rizos. Polyvinyl alcohol cross-linked macroporous polymeric hydrogels: structure formation regularities investigation. Journal of non-crystalline solids.-2010, V.357, №2, P. 700 -706

3. А.А.Артюхов, М.И. Штильман, Л.И. Пашкова, Ю.С. Лукина Биокомпозиционные биодеградируемые материалы для регенерации костной ткани. // Тезисы Всероссийского совещания «Биоматериалы в медицине», М.: ИМЕТ, 2009, С.11-12.
4. A.A. Artyukhov, A.P. Fomina, A.S. Golunova, L.I. Pashkova, A.N. Kuskov, D.E. Lisovyy, M.I. Shtilman. Polyvinyl alcohol hydrogels as new materials for medicine // 1st Russian – «Hellenic Symposium on Polymeric Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues» [3-5 May, Heraklion], Crete-Greece,Heraklion, 2010.-P.34
5. A.A. Artyukhov, D.E. Lesovoy, L.I. Pashkova A.S. Golunova1, M. I. Shtilman. MACROPOROUS HYDROGEL OF POLYVINYL ALCOHOL FOR MEDICINE // 3st Russian – «Hellenic Symposium on Polymeric Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues» [6-23 May, Heraklion], Crete-Greece,Heraklion, 2012.-P.41

*статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ