Федеральное государственное автономное образовательное учреждение

высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

На правах рукописи

Багали Каркан Митра

Взаимосвязь структуры и физико-химических свойств полимерных гидрогелей и пленок в системах доставки лекарственных средств

1.4.4. Физическая химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:

PhD, Доцент,

Антонио Ди Мартино

Томск-2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ ……..……..……..……5

ГЛАВА 1. Литературный обзор: Природные и биосовместимые полимерные гидрогели в системах доставки лекарственных средств……..…….……..…….11

1.1. Натуральные полимеры…….……..……...12

1.2. Синтетические полимеры…….……..……14

1.3. Тонкие гидрогелевые плёнки……..……..16

1.4. Типы гидрогелей……..……..……16

1.5. Физические сшитые гидрогели……..…….……...17

1.6. Химически сшитые гидрогели……..…….……..…….19

1.7. Свойства гидрогелей……..…….……..…….21

1.8. Механические свойства……..…….……..…….23

1.9. Набухание гидрогеля……..……..……26

1.10. Гидрогели, чувствительные к раздражителям……28

1.10.1. Гидрогели, чувствительные к pH…….……..……...28

1.10.2. Термочувствительные гидрогели…….……..……...30

1.11. Системы доставки лекарств…….……..……32

1.12. Термочувствительные гидрогели на основе ксантановой камеди для доставки лекарств…….……...…….…….……..36

1.13. Термочувствительные гидрогели для доставки лекарств на основе поливинилового спирта……...……..…..……37

1.14. Кинетическое моделирование высвобождения лекарственных веществ из контролируемых систем доставки……..…….……..……38

1.15. Физико-химическое обоснование исследования……..……..…….41

ГЛАВА 2. Экспериментальная часть……..…….…44

2.1.Материалы.……..……..……....44

2.2. Характеристика материалов…….……...44

2.3. Измерения методом рентгеновской дифракции (XRD)……..……..……44

2.4. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)……...…….……..…45

2.5. Термический анализ……...……..……...45

2.6. Испытание на сжатие и измерение твердости…….……...……45

2.7. Измерение толщины тонких пленок желатина/глицерина…...……..…….46

2.8. Оценка прочности на разрыв, относительного удлинения при разрыве, модуля Юнга и трещиностойкости тонких пленок желатина/глицерина……..……...……...46

2.9.тест на краевой угол смачивания водой…….……..……...46

2.10. Поведение гидрогеля при набухании……..…….46

2.11. Загрузка лекарств (метронидазол (МТЗ)) в гидрогели…….……..47

2.12.Загрузка лекарственного препарата в тонкие пленки из желатина/глицерина……...…….…….……..47

2.13. Исследование высвобождения лекарств in vitro…….……..……..48

2.14. Антимикробная активность……..……49

2.15. Изучение кинетики высвобождения лекарственных средств…….……..50

ГЛАВА 3. Физико-химические свойства и кинетические закономерности высвобождения метронидазола из ПВС–Гли–КК гидрогелей……...…….…….……..51

3.1. Синтез гидрогеля поливинилового спирта-ксантановой камеди-глицерина……..…….……..……51

3.2. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) и энергодисперсионный рентгеновский анализ (ЭДС)……...……..……..……53

3.3. Структурный анализ…….…….……..57

3.4. Термическая стабильность и термоаналитическая характеристика ПВС–Гли–КК гидрогелей…….……..……64

3.5. Механическая характеристика: анализ прочности на сжатие и твердости ПВС-Гли- КК гидрогелей…….…….……67

3.6. Набухание ПВС–Гли–КК гидрогелей…..……..……70

3.7. Характеристики загрузки и высвобождения метронидазола гидрогелями……..…….……..……74

3.8. Механизм и кинетика высвобождения лекарственного препарата из ПВС–Гли–КК гидрогелевых матриц…….……...……..……79

3.9. Оценка антимикробной активности…….……..……85

ГЛАВА 4. Физико-химические свойства тонкопленочного гидрогелевого композита желатин-глицерин……...……..…….…….87

4.1. Изготовление тонких пленок из композита желатин/глицерин……...…...…….87

4.2. Механические свойства тонких композитных плёнок желатин-глицерин……..……..……..89

4.3. Набухание тонких пленок композита желатин-глицерин…….....…….……92

4.4. Угол смачивания водой……...…….……..……..93

4.5. Тепловые свойства……..…….……..……..95

4.6. ИК Спектральный анализ образцов…….…….…….……96

4.7. Оценка антибактериальной активности……..……....……...…97

ЗАКЛЮЧЕНИЕ……..…….……..……...…99

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ……..…..……..100

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ…… ……...……..…..……..102

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

В последние годы достигнут значительный прогресс в использовании полисахаридов и полимерных композитов в системах контролируемой доставки лекарственных средств. В целом, эти материалы очень привлекательны благодаря своей биосовместимости, высокой способности удерживать воду, транспортным свойствам, возможности контролировать структуру, а также способности обеспечивать пролонгированное и контролируемое высвобождение лекарственных средств. Гидрогели и полимерные пленки это соединения, содержащие гидрофильные полимеры и пластификаторы, которые могут определять структуру и кинетику высвобождения веществ. Они в основном используются в медицинской и фармацевтической областях. Основная задача в области доставки лекарственных средств с физико-химической точки зрения заключается в понимании взаимосвязи между составом полимерной матрицы, микроструктурой и кинетикой высвобождения.

Различные исследования показали, что способность к набуханию и взаимодействие между полимерной матрицей и лекарственным препаратом играют важную роль в высвобождении лекарственного средства. Кроме того, высвобождение лекарственного средства в значительной степени зависит от гидрофильно-гидрофобного баланса материала, пористости структуры и распределения пор. Еще одним важным фактором при разработке систем доставки лекарственных средств является стабильность полимерных композитов в биологической среде. Таким образом, чрезмерное набухание или деградация полимерной системы доставки лекарственных средств могут повлиять на механизм контролируемого высвобождения препарата, поэтому при изучении таких материалов необходимо тщательно подбирать состав полимерной сетки. Одним из вопросов, требующих особого внимания, является влияние температуры на процесс набухания полимерной матрицы и высвобождение лекарственного средства из матрицы, поскольку температура влияет на пористость материала, подвижность полимерных цепей и скорость переноса лекарственного средства.

В данном исследовании были приготовлены и изучены две полимерные системы, предназначенные для медицинского применения: гидрогели, состоящие из поливинилового спирта, глицерина и ксантановой камеди, и композитные пленки из желатина и глицерина. В данном исследовании были приготовлены и изучены две полимерные системы, предназначенные для медицинского применения: гидрогели, состоящие из поливинилового спирта, глицерина и

ксантановой камеди, и композитные пленки из желатина и глицерина. Обе системы содержат гидрофильные и полисахаридные фрагменты, играющие очень важную роль в контролируемом высвобождении лекарственных средств. Это исследование позволило оценить влияние состава материалов и пластифицирующего эффекта глицерина на механические свойства, структуру и кинетические характеристики процессов, происходящих в различных полимерных матрицах. Таким образом, всестороннее исследование полимерной композитной системы для контролируемого высвобождения лекарственных средств является одной из главных целей данного исследования.

Цель работы

Целью данной работы является синтез и изучение физико-химических свойств и определение закономерностей высвобождения лекарственных средств из композиционных биосовместимых материалов на основе полисахаридов.

Задачи

1. Получение композитных гидрогелей на основе поливинилового спирта (ПВС), ксантановой камеди (КК) и глицерина (Гли) методом физического сшивания с использованием циклов замораживания–оттаивания.

2. Получение тонких гидрогелевых пленок из желатина и глицерина с различным составом и исследование их физико-химических свойств.

3. Исследование структурных и физико-химических характеристик полученных гидрогелей ПВС–Гли–КК, включая морфологию, степень набухания, термическую и механическую стабильность и изучение кинетики загрузки и высвобождения лекарственного средства в зависимости от температуры и pH среды.

4. Исследование физико-химических свойств композитных полимерных плёнок на основе желатина (жел) и глицерина (гли) при варьировании их состава, с целью оценки влияния глицерина как пластификатора на структурные, механические и транспортные характеристики полимерных систем.

Научная новизна

1. Впервые синтезированы композитных гидрогелей на основе поливинилового спирта (ПВС), ксантановой камеди (КК) и глицерина (Гли) методом физического сшивания с использованием циклов замораживания–оттаивания в качестве систем доставки лекартвенных средств и показана высвобождения лекарственного препарата (метронидазола).

2. Впервые получены количественные кинетические параметры высвобождения метронидазола (константы нулевого и первого порядка, константа Хигучи и Корсмайера-Пеппаса) в термочувствительных гидрогелях на основе поливинилового спирта, ксантановой камеди и глицерина в широком диапазоне температур. С использованием модели Корсмейера–Пеппаса установлены особенности механизма высвобождения метронидазола и определено влияние температуры и содержания ксантановой камеди на кинетические параметры процесса.

3. Впервые показана многофункциональная роль глицерина в качестве пластификатора в тонких пленках желатина и глицерина в регулировании механических свойств и водопоглощения. Установлено, что увеличение содержания глицерина снижает набухание желатиновых пленок за счет образования водородных связей с полимерной матрицей и уменьшения взаимодействия с водой. Также установлено, что увеличение содержания желатина увеличивает водопоглощение.

Практическая значимость работы

Разрабатываемые в данной работе полимерные материалы, композитные гидрогели и гидрогелиевые пленки на основе биосовместимых полисахаридов предназначены для доставки лекарственных средств.

1. Показана возможность контролировать высвобождение лекарственного средства путем изменения температуры и состава гидрогеля, а также содержания ксантановой камеди, что позволяет адаптировать систему к конкретным терапевтическим потребностям.

2. Подтверждена стабильность гидрогелиевых матриц в широком диапазоне pH и температур, что обеспечивает надежность их применения в качестве носителей лекарственных средств.

3. Показана потенциальная возможность использования разработанных гидрогелей в системах локализованной доставки лекарственных средств, в том числе для антибактериальной терапии, что подтверждено результатами in vitro.

4. Установлено, что введение глицерина позволяет целенаправленно регулировать механические свойства полимерных материалов повышать гибкость и эластичность пленок при сохранении их функциональности, что является важным при использовании в медицинской практике.

5. Показана возможность регулирования водопоглощающей способности желатино-глицериновых пленок путем изменения их состава, что важно для создания покрытий и перевязочных материалов для ран.

6. Полученные результаты могут быть использованы при проектировании новых полимерных систем биомедицинского назначения, а также при разработке функциональных материалов для фармацевтических и биотехнологических применений.

Методология и методы исследования

Методы, используемые в данном исследовании, включают синтез гидрогеля путем смешивания растворов, физическое сшивание с глицерином и метод замораживания-оттаивания. Для исследования свойств синтезированных гидрогелей использовались методы ИК-Фурье-спектроскопии, рентгеновской дифракции (РФА), сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и термического анализа (ТГА и ДСК). Кроме того, были проведены эксперименты по высвобождению лекарственных средств с использованием УФ-видимой спектроскопии, а также исследована антибактериальная активность этих гидрогелей ПВС–Гли–КК и Тонкая пленка из желатина и глицерина против Escherichia coli, Bacteroides fragilis и Staphylococcus aureus.

Личный вклад автора

Включает сбор, анализ и интерпретацию литературных данных по теме исследования, проведение экспериментальных работ, обработку и обобщение полученных результатов, разработку

практических рекомендаций, а также подготовку научных статей и тезисов для конференций на основе материалов диссертации.

Основные защищаемые положения

1. Установлено, что увеличение содержания ксантановой камеди (КК) в составе ПВС–Гли–КК гидрогеля с 0,4 до 0,6 г (в 50 мл воде) приводит к формированию более пористой морфологии и увеличению степени набухания, а также к росту кумулятивного высвобождения метронидазола до 95–98 %.

2. Показано, что физическая сшивка методом циклов замораживания–оттаивания обеспечивает формирование пористой структуры, сохраняющей целостность в течение всего времени набухания и высвобождения лекарственного средства, что подтверждается воспроизводимостью кинетических кривых и отсутствием признаков структурной деградации в исследованном временном интервале.

3. Установлено, что в температурном диапазоне 20–60 °C температура является определяющим фактором, контролирующим скорость высвобождения лекарственного вещества из гидрогелиевых матриц. При температуре 60 °C высвобождение лекарственного препарата достигает более 90% за 10 часов. Изменение pH среды в пределах физиологических значений не оказывает выраженного влияния на профиль высвобождения.

4. Глицерин как пластификатор снижает степень набухания желатиновых пленок за счет формирования водородных связей с полимером и одновременно повышает их гибкость и эластичность.

5. Закономерность «структура – свойства – кинетика» для термочувствительных гидрогелей на основе Поливиниловый спирт-глицерин-ксантановая камедь (ПВС–Гли–КК), позволяет исследовать поведение систем доставки лекарственных средств.

Апробация результатов

Отдельные части работы докладывались и обсуждались на международной конференции молодых ученых «Менделеев-2024» (Санкт-Петербург, 2024).

Публикации

По теме диссертации опубликованы 3 статьи в базах данных Scopus и Web of Science и 1 доклад на международных конференциях.

Структура и объем работы

Работа изложена на 129 страницах, содержит 28 рисунка и 8 таблиц. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, списка используемых сокращений, списка литературы (207 наименования).

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю Антонио Ди Мартино (ИШХБМТ ТПУ) за наставления, помощь, плодотворные дискуссии и всестороннюю поддержку в работе и, в частности, подготовке диссертации.

ГЛАВА 1. Литературный обзор: Природные и биосовместимые полимерные гидрогели в системах доставки лекарственных средств

Гидрогели представляют собой мягкие трехмерные полимерные сети, которые широко используются в биомедицинской инженерии из-за изначально высокого содержания воды в них и типичной совместимости с клетками [1]. Химические, физические и биологические свойства гидрогелей в сочетании с гибкостью этих свойств, зависящей от состава гидрогеля, делают гидрогели актуальными для множества применений (рисунок 1.1), [2] в зависимости от метода сшивания, разлагаемости, механических свойств, цитосовместимости и топологии, наиболее подходящей для этого применения.

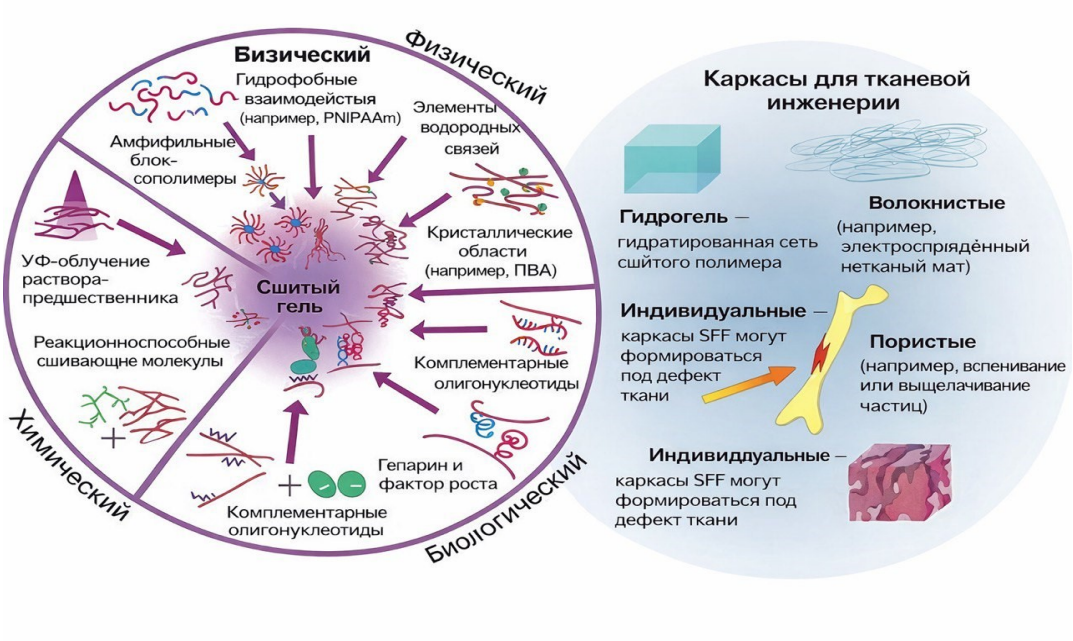


Рисунок 1.1– Схема разработки гидрогеля для тканевой инженерии [2]

Гидрогели могут быть получены с использованием как природных, так и синтетических полимеров, каждый из которых имеет свои плюсы и минусы в биомедицинском применении. Например, природные полимеры показывают высокую совместимость с клетками, но часто плохие механические свойства и более сложную химическую модификацию, тогда как синтетические полимеры предлагают желаемые настраиваемые химические и механические свойства, но не обладают присущей им способностью к разложению и цитосовместимостью [3].

1.1. Натуральные полимеры

Натуральные полимеры чаще всего используются в качестве материалов для тканевой инженерии, учитывая их свойства, схожие с естественным внеклеточным матриксом (ECM), и, следовательно, часто высокую совместимость с клетками. Их можно разделить на две широкие категории на основе химической структуры остова: полисахариды и белки [4]. Гидрогели на основе полисахаридов, полученные с использованием таких компонентов, как гиалуроновая кислота [5], хитозан [6], альгинат [7], целлюлоза [8], и ксантановая камедь [9] привлекли значительное внимание, учитывая их регулируемые химические свойства и превосходные биологические свойства.

Альгинат, это анионный гидрофильный биополимер, полученный из бурых водорослей, который широко используется в пищевых добавках, для доставки лекарств, тканевой инженерии и перевязочных материалах, хотя при его использовании in vivo необходимо учитывать его плохую адгезию к клеткам и нефизиологические свойства деградации [10]. Производные целлюлозы, такие как метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза и гидроксипропилцеллюлоза, также изучались для доставки лекарств и тканевой инженерии, при этом в последнее время появился интерес к исследованию наноцеллюлозы с целью улучшения часто более слабых механических свойств гидрогелей на основе углеводов [11, 12]. Ксантановая камедь (КК), это встречающийся в природе внеклеточный гетерополисахарид, продукт ферментации *Xanthomonas campestris*, аэробной грамотрицательной патогенной бактерии. Обычно патоген проникает и размножается в сосудистых тканях растений крестоцветных, таких как капуста, брокколи и редис, и вызывает V-образные некротические поражения на листьях, заключающихся в потемнении прожилок, вызывая типичные симптомы «черной гнили». Бактерия проникает в крестоцветные через устьица, корни, раны и гидатоды [13]. Ксантановая камедь - это экзополисахарид, в основном вырабатываемый патогенной грамотрицательной бактерией рода Xanthomonas. Клетки Xanthomonas обычно встречаются в форме одного стержня с одним полярным жгутиком. Различные штаммы Xanthomonas способны производить КК, такие как X. arboricola, X. axonopodis, X. citri, X. phaseoli, X. vasculorium, X.gummisudans, X. axonopodis, X. fragaria, X. campestris. Среди всех видов X. campestris в основном используется для производства КК в промышленности [14-16]. КК демонстрирует высокую стабильность как в кислых, так и в щелочных средах. Это производное целлюлозы и, таким образом, по своей природе биоразлагаемая камедь. В качестве повторяющегося звена в его основной цепи присутствует целлобиоза, а боковая цепь состоит из D-маннозы, D-глюкуроновой кислоты (β-1,2) и

D-маннозы (β-1,4), трисахарида, связанных друг с другом связями α-1,3, как показано на рисунке 1.2.

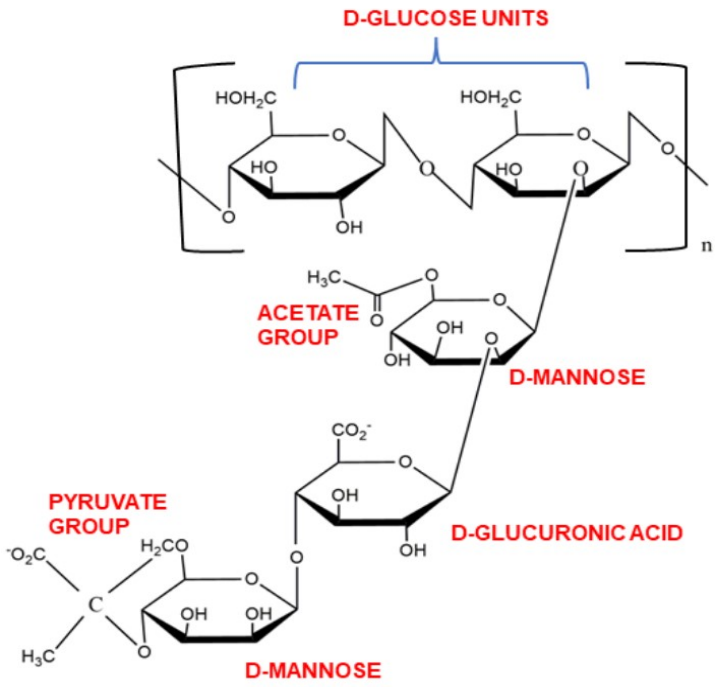


Рисунок 1.2–Химическая структура ксантановой камеди и ее функциональные группы [14]

КК используется в качестве системы-носителя для доставки лекарств, белков и генов. Важными характеристиками КК для этой цели являются (i) высокая стабильность при низком pH, что помогает защитить лекарство в желудочной жидкости от деградации, и (ii) скорость высвобождения лекарства можно контролировать, изменяя pH среды высвобождения и ионной силы. КК использовался в форме таблеток, гидрогелей, микросфер и мукоадгезивных гелей для замедленного и контролируемого высвобождения лекарств [17]. Для направленного высвобождения лекарства ожидается контролируемое высвобождение с использованием различных механизмов. Такие системы обеспечивают повышение биодоступности лекарств в целевом месте и избегают потери лекарства при желудочной деградации [18]. Ксантановая камедь действует как признанный эксципиент для рецептур с контролируемым и замедленным высвобождением. Сочетание КК с другими полисахаридами улучшает ее свойства и обеспечивает контролируемое высвобождение лекарств. Даже небольшое количество КК улучшает высвобождение лекарства и обеспечивает кинетику высвобождения нулевого порядка. КК, используемый в качестве мукоадгезивного

пластыря, обеспечивал контролируемое высвобождение никотина в течение 10 ч с первоначальным взрывным высвобождением препарата [19]. Плавающие таблетки, состоящие из смеси гуаровой камеди и КК, инкапсулирующие малеат росиглитазона, показали замедленное высвобождение (98%) в течение 12 ч [20]. Для контролируемого высвобождения пентоксифиллина (гидрофильного препарата) были приготовлены таблетки на основе КК, которые показали снижение высвобождения препарата с увеличением концентрации полимера [21]. Для контролируемой доставки диклофенака натрия были приготовлены взаимопроникающие сетчатые микросферы, чувствительные к pH. КК и поливиниловый спирт ПВС использовались для разработки микросфер, а соотношение полимеров и степень сшивания в значительной степени влияли на характер высвобождения препарата [22].

Полимер желатин представляет собой природный биополимер, получаемый в результате гидролиза коллагена, и широко используется в тканевой инженерии и системах доставки лекарств благодаря своей биосовместимости, биоразлагаемости и наличию биологически активных последовательностей [23].

Присутствие желатина в гидрогелях помогает улучшить их биологические свойства, такие как увеличенная адгезия и пролиферация и способность к дифференциации клеток, так как структура желатина похожа на внеклеточную матрицу. Кроме того, желатин содержит активные химические функциональные группы (амин,карбоксиль например) которые позволяют проводить химическую модификацию и формирование перекрестных сетей; следовательно позволяя регулировать механические свойства и впитывание гидрогеля. Однако гидрогели на основе желатина имеют плохую механическую прочность, поэтому их необходимо использовать в сочетании с синтетическими полимерами или наночастицами [24, 25].

1.2. Синтетические полимеры

По сравнению с природными полимерами синтетические полимеры демонстрируют более разнообразные химические, физические и механические свойства, учитывая, что их можно модифицировать и функционализировать с помощью различных методов синтетической химии. Однако отсутствие клеточной совместимости и/или потенциала для клеточной адгезии большинства синтетических полимеров остается проблемой, хотя ее можно решить либо путем смешивания/совместного гелеобразования природного полимера с адгезивными сигналами, либо путем прививки функциональных меток (например, клеточных адгезивных пептидов) для

управления клеточным ответом [2]. Наиболее часто используемыми синтетическими полимерами для биомедицинских целей являются ПВС, ПКЛ, ПЭГ, ПЛА [26].

Поливиниловый спирт (ПВС) имеет довольно простую химическую структуру, представляющую собой полимер с боковой гидроксильной группой. Мономер ПВС не существует в стабильной форме, поэтому его нельзя получить напрямую. ПВС получают путем радикальной полимеризации винилацетата в поливинилацетат (ПВА) с последующим гидролизом ПВА в ПВС. Поскольку реакция гидролиза не доходит до конца, ПВС всегда является сополимером ПВС и ПВА. ПВС с высокой степенью гидролиза (99%) имеется в продаже. На рисунке 1.3 показана химическая реакция получения ПВС [27-29].

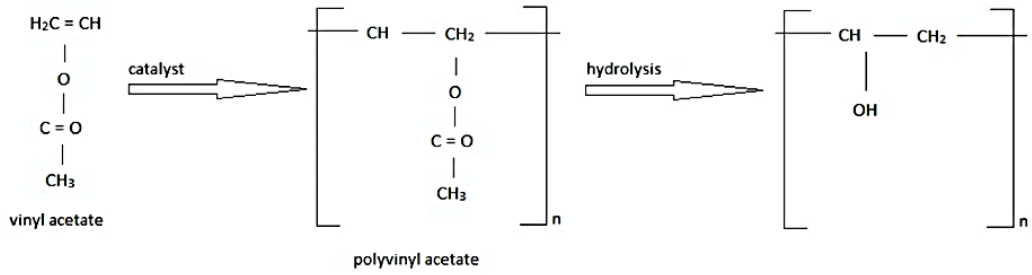


Рисунок 1.3 – Химическая реакция получения ПВС

Степень гидролиза, которая является показателем наличия ацетильных групп в полимере, влияет на свойства полимера. Сообщалось, что ПВС с высокой степенью гидролиза (выше 95%) имеет более низкую растворимость в воде. Из-за гидрофобных ацетатных групп температура для растворения в воде должна быть повышена до 70 °C. Также, марки ПВС с высокой степенью гидролиза сложнее кристаллизовать. Радикальная полимеризация ПВА и последующий гидролиз ПВА до ПВС обеспечивают широкое молекулярно-массовое распределение. Поскольку молекулярно-массовое распределение влияет на кристаллизацию, механическую прочность и диффузионную способность, степень гидролиза имеет большое значение в различных марках ПВС [30, 31].

1.3. Тонкие гидрогелиевые плёнки

Тонкие гидрогелиевые плёнки представляют собой класс мягких материалов, состоящих из сшитых гидрофильных полимерных сетей, способных поглощать значительное количество воды при сохранении своей структурной целостности. Благодаря настраиваемым физико-химическим свойствам эти плёнки привлекают значительное внимание в различных областях, включая биомедицинскую инженерию, системы доставки лекарств, биосенсоры и поверхностные покрытия [32]. Структура тонких гидрогелиевых плёнок обеспечивает точный контроль толщины, пористости, степени набухания и механической прочности. Эти свойства существенно зависят от таких факторов, как состав полимера, плотность сшивки и метод получения. Наиболее распространённые методы получения включают центрифужное нанесение (spin coating), послойную сборку (layer-by-layer, LbL), погружное нанесение (dip coating) и фотополимеризацию [33].

Одним из важных свойств тонких гидрогелей является то, что они накапливают воду в водной среде. При взаимодействии со растворителем (водой/биологическим жидким средством) полимерная матрица впитывает растворитель и накачивается, изменяя тем самым толщину пленки, а также её механические свойства. Пленку можно ещё больше модифицировать чтобы она могла реагировать на некоторые изменения внешних факторов, таких как pH, температура, содержание ионов или биомолекулы [34,35]. Тонкие гидрогели стали интересной областью биомедицинских исследований благодаря их биосовместимости и сходству с внеклеточной матрицей [36].

1.4. Типы гидрогелей

Гидрогели можно классифицировать в зависимости от природы взаимодействий между полимерными цепями на химически сшитые, физически сшитые и гибридные системы, в которых одновременно реализуются оба типа взаимодействий. Если образование трехмерной сетки полимера происходит за счет нековалентных взаимодействий, таких как водородные связи, ионные взаимодействия, силы Ван-дер-Ваальса, полиэлектролитное комплексообразование, стереокомплексообразование или гидрофобные взаимодействия, такие материалы относят к физическим гидрогелям. Физические гидрогели характеризуются обратимым поведением при изменении условий окружающей среды, поскольку вторичные межмолекулярные взаимодействия между полимерными цепями сравнительно слабые. По этой причине подобные системы могут проявлять меньшую механическую прочность и устойчивость к внешним воздействиям. Кроме того,

при повышении температуры такие гидрогели могут частично растворяться в воде или органических растворителях вследствие ослабления межцепных взаимодействий. В отличие от них, химические гидрогели, которые также называют постоянными гидрогелями, формируются за счет образования ковалентных связей между макромолекулярными цепями полимера. Наличие прочных химических связей обеспечивает устойчивость сетчатой структуры и предотвращает растворение материала в среде, поэтому такие системы обычно не проявляют обратимого перехода золь–гель. Химическое сшивание может осуществляться различными методами с использованием низкомолекулярных сшивающих агентов, таких как формальдегид, глутаральдегид, генепин, диглицидиловые эфиры или N,N-метиленбисакриламид. В процессе реакции небольшие молекулы образуют ковалентные связи с полимерными цепями, стабилизируя пространственную сетку гидрогеля. При конденсационных реакциях сшивающий агент обычно содержит две функциональные группы (например, глутаральдегид), однако в некоторых случаях могут применяться и монофункциональные соединения, такие как формальдегид. В системах, основанных на свободнорадикальном механизме, молекулы сшивающего агента должны содержать по меньшей мере две реакционноспособные двойные связи, обеспечивающие связывание с различными полимерными цепями. В результате химического сшивания гидрогели приобретают улучшенные механические, термические и химические свойства, а также сохраняют стабильную сетчатую структуру даже в полностью набухшем состоянии [37–39].

1.5. Физические сшитые гидрогели

Для формирования гидрогелей полимерные сети должны удовлетворять двум основным условиям: во-первых, между макромолекулярными цепями должны существовать достаточно сильные межцепные взаимодействия, обеспечивающие формирование стабильной пространственной структуры; во-вторых, сама полимерная матрица должна обеспечивать возможность проникновения и удерживания воды внутри геля. Подобные структуры могут формироваться за счёт нековалентных взаимодействий между полимерными цепями, включая электростатические взаимодействия, водородные связи и гидрофобные силы. Гидрогели, образующиеся благодаря таким взаимодействиям, относятся к физическим гелям и характеризуются высокой чувствительностью к воде и термообратимыми свойствами [40]. Однако такие системы, как правило, обладают ограниченной стабильностью в физиологических условиях, где их срок

существования может варьироваться от нескольких дней до примерно одного месяца. В связи с этим физические гидрогели часто используются в системах кратковременного высвобождения лекарственных веществ. Дополнительным преимуществом подобных материалов является их биобезопасность, поскольку процесс гелеобразования не требует применения токсичных химических сшивающих агентов. Физически сшитые гидрогели на основе полисахаридов могут быть получены путем смешивания полимерных компонентов при соответствующих условиях. Например, ионное комплексообразование хитозана с небольшими анионными молекулами, такими как сульфаты, фосфаты, цитраты или анионы металлов Pt(II), Pd(II) и Mo(VI), приводит к формированию физически сшитых гидрогелей. Связывание анионов осуществляется через протонированные аминогруппы хитозана. При этом свойства получаемых гидрогелей существенно зависят от заряда и размера анионов, концентрации полимера, а также степени дезацетилирования хитозана. Следует отметить, что при значениях pH выше 6 заряд хитозана уменьшается, что снижает его способность к образованию ионных комплексов и ограничивает применение данного полимера в физиологических средах [41]. Производные хитозана также способны формировать физические гидрогели за счёт ионных взаимодействий. Так, гидрогелиевые гранулы на основе N-сукцинилхитозана могут образовываться при взаимодействии с альгинатом в присутствии ионов Ca^{2+} и Zn^{2+} [42]. Альгинат, в свою очередь, является широко известным природным полисахаридом, который способен образовывать гидрогели в присутствии ионов Ca^{2+} благодаря ионному сшиванию полимерных цепей [43]. Каррагинан, представляющий собой полисахарид, состоящий из остатков D-галактозы и 3,6-ангидро-D-галактозы с различным содержанием сульфатных групп, также способен формировать гидрогели в присутствии ионов калия.

Другим важным природным полисахаридом является пектин — гетерополисахарид растительного происхождения, состоящий преимущественно из остатков галактуроновой кислоты, соединённых 1,4-гликозидными связями. Благодаря своей биосовместимости пектин широко используется для получения физически сшитых гидрогелей различного назначения. Для повышения механической прочности пектиновых гидрогелей были разработаны системы на основе двойных сетей, например гидрогели пектин–Fe^{3+}/полиакриламид, полученные в два этапа с применением УФ-инициируемой полимеризации и использованием N,N-метиленбисакриламида в качестве сшивающего агента [44]. Металл-координационно сшитые пектиновые гидрогели обладают улучшенными механическими свойствами и могут проявлять широкий спектр биологических функций. Например, двойные гидрогели на основе пектина, ионов Fe^{3+} и гидрофобно

модифицированного акриламида были синтезированы в несколько стадий под воздействием ультрафиолетового излучения (365 нм, 8 Вт) [45].

Полиэлектролитные гидрогели могут формироваться также за счет комплексообразования между поликатионными и полианионными макромолекулами. Например, хитозан, являющийся поликатионным полисахаридом, способен образовывать комплексы с различными полианионами, включая сульфат декстрана и полифосфорную кислоту [46]. Кроме того, многие природные анионные полисахариды, такие как альгинат, каррагинан, карбоксиметилцеллюлоза, пектин и ксантановая камедь, также способны взаимодействовать с хитозаном с образованием полиэлектролитных комплексов. Аналогичные структуры могут формироваться и при взаимодействии хитозана с синтетическими анионными полимерами, например с полиакриловой кислотой. Стабильность таких полиэлектролитных комплексов определяется рядом факторов, среди которых наиболее важными являются плотность заряда полимерных цепей, значение pH среды, природа растворителя, ионная сила раствора и температура системы. Физически сшитые гидрогели могут также образовываться путем физического структурирования неионных полимеров. В подобных системах точки сшивания формируются в виде кристаллитов, возникающих после проведения циклов замораживания–оттаивания или замораживания–высушивания. Образование пространственной сетки в данном случае связано с кристаллизацией полимерных цепей и их ассоциацией за счет водородных связей. Типичным примером является поливиниловый спирт (ПВС). Водный раствор ПВС при хранении при комнатной температуре может образовывать слабый гель с низкой механической прочностью. Однако после проведения циклов замораживания–оттаивания происходит формирование устойчивой гидрогелиевой структуры ПВС. Механическая прочность этого гидрогеля становится выше, чем до процесса замораживания-оттаивания. Свойства гидрогелей зависят от концентрации ПВС, времени и количества циклов замораживания-оттаивания [47]. Более того, добавление полисахаридов, таких как хитозан, снизило кристалличность гидрогелей ПВС, декстран усилил процесс кристаллизации гидрогелей ПВС, а альгинат увеличил механическую прочность гидрогелей ПВС [48,49].

1.6. Химически сшитые гидрогели

Ковалентные сшивки могут быть образованы либо посредством использования многофункциональных мономеров (3 или более реакционноспособных функциональных групп при

ступенчатой полимеризации или 2 или более реакционноспособных функциональных групп при цепной полимеризации), либо посредством химической реакции функциональных групп, связанных с полимерами [40]. Один из первоначально используемых химических процессов получения гидрогелей включает радикальную полимеризацию поли(2-гидроксиэтилметакрилата) (pHEMA), сшитого с этиленгликольдиметакрилатом (EGDMA) или тетраэтиленгликольдиметакрилатом (TEGDMA) в присутствии инициатора или сшивающего агента [50, 51]. УФ-индуцированная фотополимеризация особенно широко используется в качестве стратегии инициирования, поскольку для гелеобразования не требуется нагревание [52, 53].

Хотя плотность сшивки можно просто отрегулировать, изменив содержание сшивающего агента, неполные превращения мономеров, сшивающих агентов или инициатора могут ограничить использование этого подхода для биомедицинских приложений, если гидрогель не будет тщательно промыт перед использованием. Кроме того, углерод-углеродный остов, образованный в результате свободнорадикальной полимеризации, не поддается разложению, что ограничивает область применения in vivo. Различные разлагаемые сшивающие агенты, включая разлагаемые тиолированной матриксной металлопротеиназой (ММП) пептиды, дисульфиды или ангидриды, использовались для решения этой проблемы, с помощью которых сеть может разлагаться с течением времени или при применении стимула [54-56]. В качестве другого примера можно привести создание в лаборатории Ансета фоторазлагаемых гидрогелей на основе ПЭГ, сшитых с использованием синтезированного фотолабильного макромера, деградация которого может быть вызвана пространственно-временным воздействием света, что позволяет осуществлять точный внешний контроль за высвобождением лекарственных средств и активностью клеток [57-59].

В качестве альтернативы, сшитые сети могут быть образованы рядом реакций присоединения или конденсации [60]. Если реактивные функциональные группы для таких реакций привязаны к реактивным преполимерам, сшитые in situ гидрогели могут быть получены без какой-либо последующей обработки или малых молекул, что сводит к минимуму любой потенциальный цитотоксический вклад. В этом контексте были разработаны различные in situ-гелеобразующие химии гидрогелей (помимо уже описанной химии гидразона [61, 62]). Лю и др. приготовили гидрогели на основе декстрана путем сшивания глицидилметакрилированного декстрана (Dex-GMA) и дитиотреитола (DTT) через тиол-михаэлевские добавки в физиологических условиях, с низкой токсичностью полимеров-предшественников, полезных для прямой инкапсуляции клеток [63].

Вэй и др. подготовили термочувствительный гидрогель путем сшивания функциональных групп малеимида и фурана с помощью химии Дильса-Альдера в воде, продемонстрировав, что гелеобразование можно контролировать температурой. Гровер и др. разработали гидрогелиевую систему, которая может быть доставлена через катетер путем сшивания 4-лучевого кетон-ПЭГ с 4-лучевым аминоокси-ПЭГ/или окисленным полисахаридным полимером (гиалуроновая кислота и альгинат) in situ с использованием химии оксима [64, 65].

1.7. Свойства гидрогелей

Полимеры как естественные, так и искусственные материалы с гидрофильными группами широко используются для синтеза гидрогелей для медицинских целей. Гидрофильные боковые группы не только помогают эффективно впитывать воду, но и способствуют взаимодействию с биологическими тканями и слизистыми оболочками. Полностью набранные гидрогели имеют мягкую, эластичную и резиновую структуру и обладают вязкоэластичными свойствами. Кроме того гидрогели имеют низкий угол контакта с биологическими жидкостями что минимизирует иммунную реакцию. Этот набор свойств приводит к высокой биосовместимости гидрогелиевых систем. Уровень биоразлагаемости гидрогелей может зависеть от типа используемого связующего агента. Одной из основных особенностей гидрогелей является их способность набухать. Процесс набухания обычно происходит в нескольких шагах. Первый шаг включает в себя диффузию воды в полимерный матрикс в котором вода называется первично связанной. Затем следующий шаг включает расслабление полимерных цепей с дальнейшим входом воды называемой вторично связанной. Последний шаг включает расширение матрица гидрогеля в котором вода свободна.

По теории Флори-Райнера уровень свертывания гидрогеля определяется степенью совместимости сетчатой структуры полимера с молекулами воды и его эластичностью[66]. Что отличает гидрогели от других материалов так это то что их свойства могут меняться под воздействием различных внешних и внутренних стимулов. Эти факторы обычно делятся на три основные группы – физические (температура или свет), химические (pH, ионная сила раствора) и биологические (энзимы). Следует отметить что физические факторы считаются внешними а химические и биологические - внутренними хотя в зависимости от случая эффект температуры может принадлежать и к той и к другой категории.

Особый интерес в этом отношении вызывает то что обычно называют "умными" гидрогелями. Это специальные материалы способные чувствовать изменения окружающей среды и реагировать на них. Особенно заслуживают внимания такие гидрогели как память формы. Характерной чертой таких материалов является их способность иметь определённую форму и возвращаться к ней после деформации. Этот процесс основан на химической или физической системе кодирования которая позволяет материалу "запоминать" своё предыдущее состояние [67]. Следовательно такие гидрогели полезны когда необходимо не только реагировать на стимул но и восстанавливать свою первоначальную форму.

Ковалентно связанные полимерные матрицы, несущие в своей структуре ионогенные фрагменты, классифицируются как pH-зависимые системы ввиду их выраженной способности трансформировать свои свойства при флуктуациях кислотности среды. Механизм функционирования сетчатых гидрогелей с анионной архитектурой базируется на депротонировании боковых групп в щелочной среде: возникающее при этом кулоновское отталкивание одноименно заряженных центров индуцирует интенсивное поглощение растворителя и, как следствие, увеличение степени набухания. Зеркальный паттерн поведения характерен для катионных гидрогелей, чей максимальный гидродинамический объем достигается в условиях низких значений pH.

Параллельно со стимул-чувствительностью к pH, определенные полимерные гидродинамические системы обнаруживают выраженную температурную лабильность. Термическое воздействие детерминирует реструктуризацию конформационных взаимодействий в системе «полимер – полимер» и «полимер – растворитель», что макроскопически выражается в контролируемом изменении объема полимерного каркаса. Эталонным объектом для исследования подобных интерференций выступает гидрогель на основе поли(N-изопропилакриламида) (PNIPAM). В зависимости от направленности термического отклика выделяют два ключевых термодинамических типа систем. Системы с положительным температурным коэффициентом переходят в высоконабухшее состояние при преодолении верхней критической температуры растворения (UCST). Напротив, полимеры с отрицательным температурным откликом демонстрируют интенсификацию набухания при охлаждении ниже границы нижней критической температуры растворения (LCST). Особый научно-практический интерес вызывают термообратимые композиты (в частности, макромолекулярные структуры на базе полоксамеров [68–

70]), способные к контролируемому фазовому переходу золь–гель при варьировании температурного градиента.

1.8. Механические свойства

Механические характеристики гидрогелей важны при применении этих материалов в фармацевтических и биомедицинских сферах. Определение механической устойчивости подобных материалов важно для их эффективного применения во многих отраслях (таких как, например, тканевая инженерия, восстановление сухожилия и связок, замена хряща, материалы для заживления ран, матричные материалы для направленного высвобождения лекарств). Одним из ключевых критериев для гидрогелей выступает стабильность структуры и формы во время длительного отдачи лекарственных веществ. Механические свойства гидрогелей способны варьироваться путем подбора полимеров, сомономера, агента сшивки и/или модификацией степени сшивки полимерной сетки. Чем выше степень сшитости полимерной сетки, тем прочнее гель. Но при слишком высокой степени сшивания возможно уменьшение удлинений и снижение эластичности материала, из-за чего он становится более ломким. Эластичность же гарантирует гибкость полимерной сетки и способствует транспорту включенных терапевтических молекул. Так что для гидрогелей необходим оптимальный баланс механической прочности и эластичности структуры [71, 72]. Механические свойства гидрогелиевых матриц оцениваются как по деструктивным, так и по недеструктивным методам. К основным относятся испытания на сжатие и одноосное растяжение, метод локального индентирования, динамический механический анализ (ДМА) и ротационная реометрия, что позволяет охватить весь спектр их поведения под нагрузкой. Частотные развертки на реометре часто применяют для анализа вязкоупругих характеристик систем. Методология реологического скрининга базируется на помещении исследуемого образца в измерительную ячейку с верифицированной геометрией, что позволяет прецизионно воспроизводить заданные режимы сдвигового нагружения. Такой подход открывает возможность детально верифицировать кинетику деформационных процессов и особенности течения полимерных систем под влиянием строго контролируемых внешних факторов [73–75]. В рамках фундаментальной механики сплошных сред идеализированные жидкие и твердые субстанции подчиняются линейным законам Ньютона и Гука соответственно. Тем не менее, реальные конденсированные состояния зачастую обнаруживают промежуточный характер реологического отклика. Ранние труды Максвелла и Вильгельма Вебера

экспериментально доказали, что определенные жидкие среды способны аккумулировать высокоэластическую деформацию, тогда как ряд твердых тел демонстрирует выраженные отклонения от идеальной упругости за счет релаксационных процессов. Консистентные системы, сочетающие в себе данные феномены, идентифицируются в современной физикохимии как вязкоупругие и неньютоновские среды [68]. Способность вязкоупругих сред к упругому восстановлению исходной геометрии после малоамплитудных деформационных воздействий разграничивает их с неньютоновскими системами, ключевым признаком которых является функциональная зависимость динамической вязкости от градиента скорости сдвига и кинетики нагружения. При деформационном тестировании в качестве базисных реологических дескрипторов рассматривают сдвиговое напряжение, эквивалентное нормализованному к единице площади тангенциальному усилию, и относительную деформацию, отражающую пространственное смещение смежных слоев фазы. Под действием внешнего поля механических сил макроскопический отклик образца детерминируется характером межмолекулярных и межчастичных взаимодействий внутри его структурного каркаса. Изучение механического профиля гидрогелей традиционно реализуется в квазиравновесном режиме малых деформаций, при котором пространственная реконфигурация элементов полимерной матрицы остается минимальной. Данный методологический подход позволяет напрямую проецировать макроскопические изменения на молекулярную динамику внутри полимерной сетки. В то время как идеально эластичные тела обратимо трансформируют конформацию под нагрузкой, а истинно вязкие среды претерпевают пластическое течение с необратимой диссипацией энергии, гидрогели демонстрируют смешанный вязкоупругий реологический статус. Экспериментальный анализ гидрогелиевых матриц, как правило, локализован в границах области линейной вязко упругости (LVR). В данном диапазоне механические модули материала инвариантны относительно амплитуды приложенного напряжения или деформации. Сохранение микроструктуры полимерной сети в состоянии, близком к термодинамическому равновесию, гарантирует, что фиксируемый реологический отклик аутентично отражает фундаментальные молекулярные процессы и релаксационные явления в исследуемой полимерной системе.

Для реометров с контролируемой деформацией деформация сдвига определяется как синусоидальная функция времени (t), которую можно выразить как в уравнении (1):

$$\gamma_{(t)} = \gamma_0 sin(\omega t) \quad (1)$$

где γ_0— величина приложенной деформации, ω — угловая частота колебаний. Она измеряется в рад/с. Соотношение между угловой частотой и измеренной частотой, f, в Герцах равно ω: 2 πf.

Кроме того, синусоидальная деформация вызывает синусоидальное напряжение, которое можно проиллюстрировать как в уравнении (2):

$$\tau_{(t)}: \tau_0 (\sin \omega t + \delta) \quad (2)$$

где τ_0 — амплитуда напряжения, δ — разность фаз между двумя волнами.

Для реометров с контролируемым напряжением напряжение сдвига определяется как синусоидальная функция времени (t), которую можно выразить следующим уравнением (3):

$$\tau_{(t)}: \tau_0 (\sin \omega t) \quad (3)$$

Синусоидальное напряжение вызывает синусоидальную деформацию, которую можно проиллюстрировать в уравнении (4):

$$\gamma_{(t)}: \gamma_0 (\sin \omega t + \delta) \quad (4)$$

Идеально эластичные материалы подчиняются закону Гука, согласно которому напряжение и деформация изменяются синхронно и находятся в одинаковой фазе. В этом случае фазовый угол равен нулю (δ = 0°). Напротив, для идеально вязких материалов характерно смещение фаз между напряжением и деформацией на 90° (δ = 90°). Вязкоупругие системы занимают промежуточное положение между этими двумя предельными состояниями, поэтому фазовый угол для них принимает значения в диапазоне от 0° до 90°.

При проведении малоамплитудных осцилляционных реологических измерений важными параметрами, характеризующими гидрогели, являются модуль накопления сдвига (G’), модуль потерь (G’’), а также коэффициент потерь tan δ. Модуль накопления (G’) отражает количество энергии, которое накапливается в материале в процессе его деформации при сдвиге и характеризует упругие свойства и жёсткость системы. В свою очередь модуль потерь (G’’) связан с энергией, рассеиваемой в процессе деформации, и описывает вязкое поведение материала. Коэффициент потерь tan δ определяется как отношение модуля потерь к модулю накопления (G’’/G’). Если

значение tan δ превышает единицу (G'' > G'), материал проявляет преимущественно вязкие свойства. В противоположном случае, когда tan δ < 1 (G' > G''), система характеризуется более выраженными упругими свойствами и ведёт себя как твёрдое тело. Значения модулей накопления и потерь обычно анализируются как функции деформации, времени и частоты. Процесс гелеобразования может быть исследован путём наблюдения за изменением этих модулей во времени. Линейная область вязкоупругости (LVR) определяется диапазоном деформаций, в котором значения G' и G'' остаются постоянными и не зависят от величины приложенной деформации. Поведение гидрогелей на различных временных масштабах может быть проанализировано при помощи частотных зависимостей модулей. При высоких частотах и коротких временных интервалах, когда G' значительно превышает G'', материал проявляет более выраженные твёрдоподобные свойства. Напротив, при низких частотах и длительном времени наблюдается ситуация, при которой G'' становится больше G', что указывает на преобладание жидкоподобного поведения. Кроме того, важными характеристиками гидрогелиевых систем являются кинетика гелеобразования и жёсткость сформированной структуры, поскольку именно эти параметры во многом определяют области их практического применения. Для вязкоупругих материалов характерно существование определённого предельного значения деформации, называемого критической деформацией. До достижения этого значения механические характеристики практически не изменяются. Однако при превышении критической деформации наблюдается снижение модуля накопления и переход системы к нелинейному механическому поведению. Обычно линейную область вязкоупругости определяют, измеряя, как модули G' и G'' меняются с деформацией при одной фиксированной частоте, например на 1 Гц. Если исследовать материал при постоянной деформации, меньшей критической, можно узнать больше о его структуре. Этот метод помогает оценить роль межчастичных взаимодействий и коллоидных сил внутри системы. Когда деформация меньше критической, модуль накопления G' практически не зависит от частоты - это признак твёрдоподобного поведения материала. Если же G' явно зависит от частоты, система ведёт себя скорее как жидкость [77, 78].

1.9. Набухание гидрогеля

Способность гидрогелей к набуханию в различных средах, таких как вода, растворы с различным pH и среды с разной ионной силой, является одной из их ключевых характеристик,

определяющих возможности применения в различных областях. Гидрогелиевые материалы способны реагировать на изменения окружающей среды, включая колебания pH, ионный состав раствора, тип растворителя, воздействие электрического поля, световое излучение и температуру [79]. На кинетику процесса набухания и на установление равновесного состояния влияет ряд факторов. К ним относятся степень сшивания полимерной сети, химическая природа используемых полимеров, характеристики ионной среды, а также условия синтеза материала. Степень набухания обычно определяется как отношение массы гидрогеля после поглощения воды к массе сухого образца. Степень сшивания оказывает существенное влияние на способность гидрогеля поглощать воду. Более высокая плотность сшивания ограничивает подвижность полимерных цепей и уменьшает свободный объём в структуре, что приводит к снижению степени набухания. В противоположность этому гидрогели с меньшей степенью сшивания обладают большей способностью к поглощению воды. Важную роль играет и химическое строение полимерных цепей. Наличие гидрофильных функциональных групп способствует увеличению водопоглощения, тогда как присутствие гидрофобных фрагментов, напротив, ограничивает процесс набухания. Поэтому гидрогели, содержащие большее количество гидрофильных групп, как правило, демонстрируют более высокую степень набухания. Набухание гидрогелей также зависит от температуры и кислотности среды. В pH-чувствительных гидрогелях изменение значения pH приводит к ионизации функциональных групп полимерных цепей. В результате возникают электростатические силы отталкивания между одноимённой заряженными группами, что ослабляет межцепные взаимодействия и способствует увеличению степени набухания материала. Процесс набухания гидрогеля можно условно разделить на несколько стадий. На первом этапе происходит диффузия молекул воды в полимерную сеть. Затем наблюдается релаксация и частичное разрыхление полимерных цепей. На заключительной стадии происходит расширение структуры гидрогеля, сопровождающееся дальнейшим увеличением объёма системы. В сухом состоянии гидрогель находится в так называемом стеклообразном состоянии, тогда как после поглощения воды он переходит в резиноподобное состояние. Свободные объёмы внутри полимерной сети обеспечивают возможность проникновения молекул растворителя в структуру материала. Когда количество поглощённой воды достигает определённого уровня, происходит переход системы из стеклообразного состояния в резиноподобное, что и соответствует процессу набухания. Диффузионные процессы играют ключевую роль в транспорте воды внутрь гидрогелиевой матрицы и её выходе из неё [80].

1.10. Гидрогели, чувствительные к раздражителям

Одними из самых популярных гидрогелей в настоящее время являются стимулирующие полимерные гидрогели. Они отвечают на воздействие различных условий окружающей среды, таких как pH, свет, температура, ионный состав и различные электромагнитные поля. Одни из них рассмотрены в данном разделе, а сами факторы представлены на рисунке 1.4.

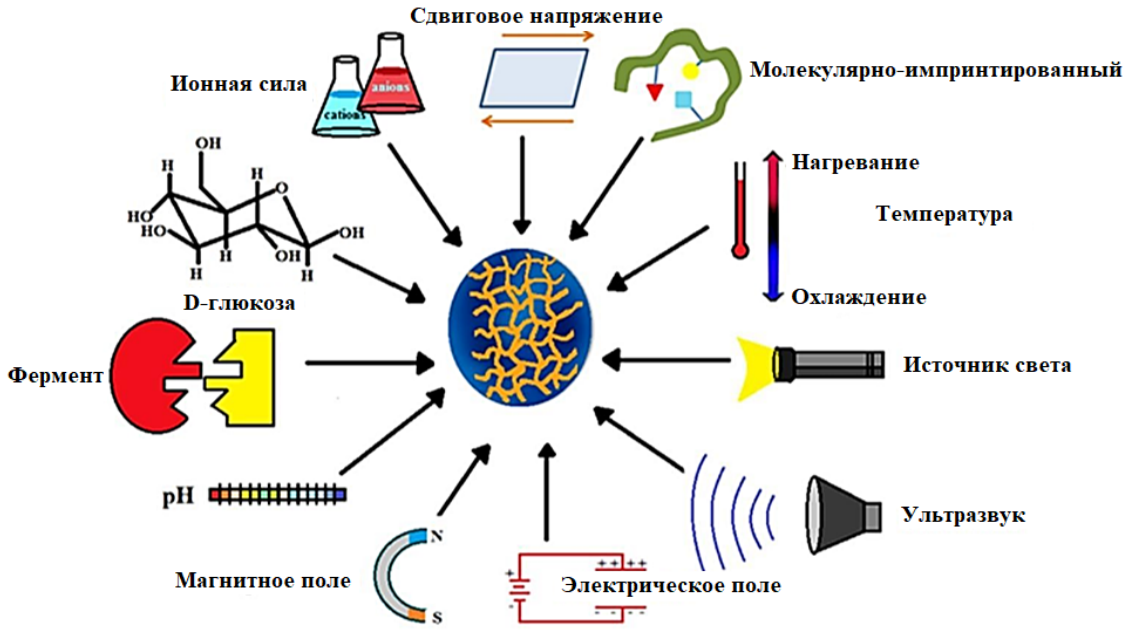


Рисунок 1.4 – Стимулы окружающей среды, к которым могут быть чувствительны гидрогели [81]

1.10.1. Гидрогели, чувствительные к pH

pH-чувствительные полимеры содержат функциональные группы кислотного или основного свойства. К анионным полимерам относятся содержащие кислотные группы (карбоксильные, сульфоные) структуры, а к катионным – содержащие основные группы (аминогруппы). Функциональные группы подвергаются протонизации, и эта реакция определяет их ионизацию в условиях меняющейся кислотности среды. Системы полимеров, насыщенные большим количеством активных групп, как правило, именуются полиэлектролитами. Трёхмерные сшитые полиэлектролитные сети демонстрируют выраженную зависимость степени набухания от значения pH среды. Ионизация боковых групп в полиэлектролитах может приводить к изменению кажущихся констант диссоциации (Ka) по сравнению с соответствующими свободными кислотами или основаниями. Основным фактором, определяющим способность таких систем к набуханию,

является электростатическое отталкивание между ионизированными группами полимерной сети. Поэтому степень набухания полиэлектролитных гидрогелей существенно зависит от pH среды, её ионной силы и интенсивности электростатических взаимодействий.

Системы направленного и контролируемого транспорта лекарственных средств для перорального администрирования активно используют потенциал pH-чувствительных гидрогелиевых матриц. Ключевой предпосылкой для внедрения таких полимерных носителей служит выраженный градиент кислотности в различных сегментах желудочно-кишечного тракта, в частности, контраст между ультракислым содержимым желудка (pH < 3) и слабощелочной средой кишечника (pH > 7). Данная физиологическая неоднородность позволяет программировать кинетику набухания гидрогелей и, как следствие, строго регулировать диффузионный поток инкапсулированных биологически активных соединений. В случае полимерных сеток на основе поликатионов максимум гидродинамического объема закономерно достигается в сильнокислых средах. В основе этого макроскопического эффекта лежит протонирование латеральных аминогрупп, которое индуцирует кулоновское отталкивание одноименно заряженных звеньев и последующее пространственное расширение макромолекулярного каркаса. Ввиду указанной специфики катионные гидрогели позиционируются как перспективные платформы для локального высвобождения терапевтических агентов непосредственно в полости желудка. Характерным примером служит сополимерная матрица на основе (N,N')-диметиламиноэтилметакрилата (ДМАЭМА) и метилметакрилата: при нейтральных значениях pH материал сохраняет компактную, плотно свернутую конформацию, однако демонстрирует резкую интенсификацию набухания при переходе в кислую среду. Модельные испытания in vitro с использованием кофеина подтверждают жизнеспособность данной концепции: диффузия маркерного вещества практически полностью блокируется в нейтральных условиях, но лавинообразно возрастает при снижении pH до 3 [82]. Схожие данные авторы получили при тестировании полу-ИПН-матриц на основе полиэтиленоксида (PEO) и поперечно сшитого хитозана, показавших интенсивное влагопоглощение в условиях pH 1,2. Авторы статьи [83] рассматривают такие структуры как потенциальные депо-формы для интрагастрального введения амоксициллина и метронидазола против Helicobacter pylori, поскольку десорбция упомянутых антибиотиков ускоряется именно в кислой среде (при pH порядка 1,2). Иной механизм наблюдается у гидрогелей с анионными фрагментами, которые, в отличие от катионных полимеров, переходят в заряженную форму преимущественно в нейтральной среде. Соответственно, пик их набухания приходится на нейтральные или слабощелочные значения, что делает полианионы

удобным инструментом для транспортировки медикаментов в отделы кишечника. Среди наиболее востребованных полимеров этого класса выделяют метакриловую и полиакриловую кислоты, пектин, анионные модификации хитозана и разнообразные природные камеди. На примере полу-ИПН-систем из полиакриловой кислоты и полиэтиленоксида хорошо заметна эта зависимость от кислотности среды: максимальные объемы поглощения жидкости фиксируются при нейтральном pH, тогда как в кислом содержимом желудка (pH около 1,2) данный показатель резко падает.

Эксперименты по оценке десорбции целого ряда терапевтических агентов с варьирующейся гидрофильностью (включая салициламид, преднизолон, клонидина гидрохлорид и никотинамид) выявили прямую корреляцию кинетики их выхода со спецификой набухания полимерных каркасов. В нейтральной среде регистрировался наиболее динамичный транспорт лекарственных соединений из матриц, в то время как при падении pH до уровня 1,2 диффузионные процессы резко замедлялись. Параллельно с этим, гидрогелиевые системы на основе карбоксиметилхитозана, структурированные глутаровым альдегидом, также продемонстрировали чувствительность к кислотности окружения, в связи с чем они позиционируются как эффективные платформы для колоректальной доставки медикаментов. В свою очередь, коллектив исследователей под руководством Mura сфокусировался на изучении диффузии 5-аминосалициловой кислоты (5-ASA) из полимерных сеток хитозана и его N-сукцинилированной модификации (NSC). Лабораторные тесты in vitro подтвердили, что высвобождение целевого вещества из немодифицированного хитозана активизируется в кислых условиях, тогда как применение NSC-матриц обеспечивает форсированный выход препарата именно в щелочной среде [84–86].

1.10.2. Термочувствительные гидрогели

Температура является одним из наиболее распространённых внешних факторов, используемых для управления свойствами экологически чувствительных гидрогелей. Термочувствительные полимерные гидрогели способны изменять свой объём и структуру при изменении температуры, что связано с фазовыми переходами внутри полимерной сети. Изменения температуры могут влиять на растворимость полимеров в воде, что непосредственно отражается на степени набухания гидрогеля. Некоторые полимеры демонстрируют снижение растворимости в воде при повышении температуры. Для таких систем характерно наличие нижней критической температуры растворения (НКТР, LCST). Гидрогели с НКТР проявляют высокую степень набухания

при низких температурах, однако при нагревании выше НКТР их структура уплотняется и происходит сжатие гелевой сети. Такие материалы обычно относят к системам с отрицательной температурной чувствительностью. Подобные гидрогели применяются в системах импульсного высвобождения лекарственных веществ. Например, гидрогели на основе сополимера поли(N-изопропилакриламид-со-бутилметакрилат) (poly(NIPAM-co-BMA)) были разработаны для исследования импульсного высвобождения лекарственных препаратов.

Было показано, что увеличение содержания бутилметакрилата приводит к повышению механической прочности гидрогеля. При низких температурах наблюдалось высвобождение индометацина, тогда как при повышенных температурах процесс высвобождения прекращался. Такое поведение коррелировало со степенью набухания гидрогеля. В других исследованиях были синтезированы гидрогели на основе сополимера поли(N-изопропилакриламид-со-акриловая кислота). Было установлено, что температурная чувствительность таких систем может регулироваться изменением молярного соотношения исходных мономеров. В качестве модельного лекарственного вещества использовался 5-фторурацил (5-FU), при этом эффективность его включения в гидрогель составила около 4 %. Полученные результаты продемонстрировали зависимость скорости высвобождения препарата как от температуры, так и от pH среды. В отличие от систем с НКТР, полимерные гидрогели с верхней критической температурой растворения (ВКТР, UCST) демонстрируют противоположное поведение. Для таких материалов характерно увеличение степени набухания при повышении температуры и уменьшение объёма при её понижении. Поэтому подобные гидрогели относят к системам с положительной температурной чувствительностью. Например, гидрогели на основе взаимопроникающих сетей поли(акриловой кислоты) и поли(AAm-co-BMA), а также сшитые системы поли(AAm-co-BMA) и поли(AAm-co-AA-co-BMA), демонстрировали положительную температурную чувствительность. Было показано, что увеличение содержания гидрофобного мономера бутилметакрилата приводит к смещению температуры фазового перехода в область более высоких температур. При этом степень набухания гидрогеля и скорость высвобождения модельного лекарственного вещества (кетопрофена) изменялись обратимо при изменении температуры. Существует также особый класс термочувствительных материалов термообратимые гидрогели. Наиболее распространёнными представителями таких систем являются полоксамеры (Pluronics) и тетрониксы. Некоторые из этих соединений были одобрены Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) и Агентством по охране окружающей среды (EPA) для применения в фармацевтической, пищевой и

сельскохозяйственной промышленности. Например, водный раствор Pluronic F127 с концентрацией около 20 мас.% при температурах ниже 25 °C ведёт себя как жидкость с низкой вязкостью, однако при повышении температуры до примерно 27 °C превращается в полутвёрдый гель. Исследования цитотоксичности показали, что такие системы обладают низкой токсичностью.

Ранее термочувствительные растворы Pluronic F127 рассматривались для лечения ожогов, местной доставки противоопухолевых препаратов, а также для пролонгированного высвобождения лекарств после внесосудистых парентеральных инъекций. После введения полоксамерные гели способны обеспечивать более длительное высвобождение лекарственного вещества по сравнению с обычными растворами, однако продолжительность высвобождения обычно ограничивается несколькими днями. Благодаря этому такие системы могут быть перспективными для краткосрочных терапевтических задач, включая купирование болевого синдрома, лечение инфекций и контроль фертильности. Кроме того, гидрогели на основе полоксамера, модифицированного полиакриловой кислотой (poloxamer-g-PAA), также были описаны в работах Homan и соавторов [87–90].

1.11. Системы доставки лекарств

Традиционное введение лекарств часто требует высоких дозировок или повторного введения для стимуляции терапевтического эффекта; это может снизить общую эффективность и соблюдение пациентом режима лечения, а также привести к серьезным побочным эффектам и даже токсичности [91-93].

Например, внутривенное введение интерлейкина-12 (ИЛ12) привело к системной токсичности, которая привела к смерти в клиническом исследовании. Пероральное введение, которое является наиболее распространенным подходом к доставке фармацевтических препаратов, часто ограничено плохой таргетингом и коротким временем циркуляции (<12 часов) [94, 95]. Пептидные и белковые препараты часто имеют короткие периоды полураспада в сыворотке, всего минуты или часы. Для решения этих проблем исследования в последние десятилетия были сосредоточены на контролируемых системах доставки лекарств, включая мембраны, наночастицы, липосомы и гидрогели [96]. Эти системы доставки лекарств могут контролировать как лекарства доступны клеткам и тканям с течением времени и в пространстве. Они могут, в принципе, улучшать результаты терапии, повышая её эффективность и снижая токсичность препаратов и требуемую

дозировку. Клиническое использование систем доставки лекарств является значительным, с глобальным рынком более 150 миллиардов долларов США в 2013 году [97].

Гидрогели являются особенно привлекательным типом системы доставки лекарств и используются во многих отраслях медицины, включая кардиологию, онкологию, иммунологию, заживление ран и лечение боли. Гидрогели состоят из большого количества воды и сшитой полимерной сети. Высокое содержание воды (обычно 70–99%) обеспечивает физическое сходство с тканями и может придать гидрогелям превосходную биосовместимость и способность легко инкапсулировать гидрофильные препараты.

Более того, поскольку они обычно образуются в водных растворах, риск денатурации и агрегации лекарств при воздействии органических растворителей сведен к минимуму. Сшитая полимерная сеть делает гидрогели твердыми, и они могут обладать широким спектром механических свойств. Например, их жесткость можно регулировать от 0,5 кПа до 5 МПа, что позволяет сопоставлять их физические свойства с различными мягкими тканями в организме человека [98-100]. Сшитая сеть может препятствовать проникновению различных белков и, таким образом, как полагают, защищает биоактивные терапевтические средства от преждевременной деградации под действием ферментов, диффундирующих внутрь. Эта особенно важно для высоколабильных макромолекулярных препаратов (например, рекомбинантных белков и моноклональных антител), которые составляют все большую долю новых одобренных лекарств, а многие другие находятся в стадии разработки. С момента появления человеческого инсулина Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) одобрило более 130 белковых терапевтических средств. Упомянутые выше характеристики делают гидрогели привлекательными материальными системами для доставки широкого спектра терапевтических средств [101-103].

Гидрогели различаются по размеру, архитектуре и функции, и вместе эти особенности определяют, как гидрогели используются для доставки лекарств. В гидрогелях есть поры с масштабами длины от сантиметров до субнанометров (Рисунок 1.5) .

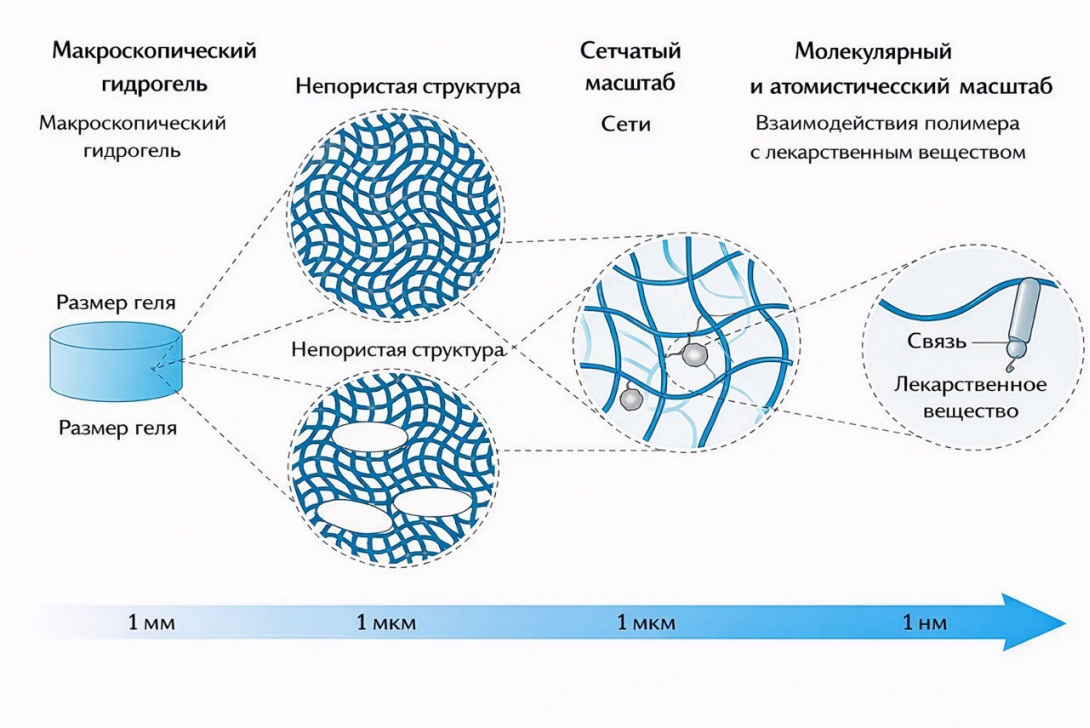


Рисунок 1.5 – Многомасштабные свойства гидрогелей. Макроскопическая конструкция гидрогелей включает размер и пористую структуру. Гидрогели могут быть как непористыми, так и содержать макроскопические поры размером 10–500 мкм. Расстояние между молекулами полимера в сети (то есть размер ячейки) можно настраивать от примерно 5 до примерно 100 нм. На молекулярном (или атомистическом) уровне лекарственные средства могут взаимодействовать с полимерными цепями посредством ряда механизмов; здесь показана ковалентная связь с полимерной цепью.

Макроскопическая конструкция в значительной степени определяет пути, по которым гидрогели могут быть доставлены в организм человека. Гидрогели могут быть сформированы практически в любой размер и форму. Микропоры, если они присутствуют, существенно влияют на общие физические свойства (например, деформируемость), одновременно обеспечивая конвективный транспорт лекарств. В масштабе нескольких нанометров сшитая полимерная сеть окружает воду, содержащуюся в сети гидрогеля. Такие сети содержат открытые пространства, размер которых называется размером ячейки сети. Важно, что размер ячейки определяет, как лекарства диффундируют внутри сети гидрогеля.

Наконец, в молекулярном и атомистическом масштабе между лекарствами и полимерными цепями могут происходить различные химические взаимодействия. Полимерные цепи

обеспечивают большое количество мест связывания лекарственного препарата, причем сами группы могут подвергаться предварительному модификации физическими и химическими способами. Важнейшими параметрами в механизме контролируемого высвобождения ЛВ являются структурные особенности полимерной матрицы на разных уровнях (молекулярном и атомарном). Данные параметры можно оптимизировать независимо от макроскопических характеристик гидрогеля, обеспечивая тем самым точечную настройку для каждого уровня структуры. Многослойная стратегия значительно облегчает процесс создания «конструктора» гидрогелей и формирует универсальную основу, способную быстро реагировать на разные задачи терапии.

Часть требований к конструкции одинакова для всех гидрогелиевых систем доставки, но есть и такие, что строго зависят от конкретного терапевтического приложения. В любом случае системы доставки на основе гидрогеля всегда должны сохранять биоактивность препарата. Кроме того, и препарат, и сам гидрогель должны оставаться химически и физически стабильными на этапах упаковки, транспортировки и хранения. Гидрогели могут доставляться различными способами, такими как хирургическая имплантация, местная инъекция иглой или системная доставка посредством внутривенной инфузии. Выбор метода доставки для данного применения основан на максимизации общей эффективности и соблюдении пациентом режима лечения. То, как гидрогель высвобождает препарат, часто имеет важное значение для достижения желаемых терапевтических результатов, а требуемая продолжительность доступности препарата (краткосрочная или долгосрочная) и его профиль высвобождения (непрерывный или пульсирующий) зависят от конкретного применения. Когда препарат заканчивается, гидрогель должен быть спроектирован либо так, чтобы он распадался, чтобы избежать хирургического удаления, либо для повторного использования путем повторного заполнения препарата. Распад гидрогеля также может потребоваться адаптировать для координации с регенерацией тканей. Помимо общих требований, существуют и другие требования, основанные на применении. Например, при лечении кожных ран гидрогели наносятся на динамические поверхности, и они должны прилипать и соответствовать таким поверхностям, будучи при этом достаточно прочными, чтобы выдерживать движение поверхности (например, деформацию при сгибании колена до 50%) и деформацию, возникающую под воздействием окружающей среды (например, сжатие и царапание) [104-106].

1.12. Термочувствительные гидрогели на основе ксантановой камеди для доставки лекарств

Термочувствительные гидрогели на основе ксантановой камеди становятся перспективными материалами для современных систем доставки лекарств. Эти гидрогели могут реагировать на изменения температуры, обеспечивая контролируемое и специфичное для места высвобождение лекарств, и часто сочетаются с другими полимерами для улучшения их свойств для различных терапевтических применений. Ксантановую камедь часто смешивают с полимерами, такими как метилцеллюлоза, поливинилпирролидон, полоксамер и Pluronic F-127, или сшивают с такими агентами, как акриловая кислота или ионы Fe^{3+}, для образования гидрогелей с регулируемыми свойствами [107]. Такие системы, как ксантановая камедь/метилцеллюлоза и ксантановая камедь/полоксамер, демонстрируют переходы золь-гель при температуре тела, что позволяет инъекционным растворам образовывать гели in situ для локализованной доставки лекарств. Многие гидрогели на основе ксантановой камеди также чувствительны к pH, набухая и высвобождая лекарства преимущественно при более высоком pH (например, в толстой кишке), а некоторые могут подвергаться обратимым переходам золь-гель в ответ на окислительно-восстановительные изменения [108, 109]. Полимерные гидрогели сейчас активно изучают как удобные носители для лекарств. С их помощью можно настроить выделение самых разных веществ. Это и обычный ацикловир от вирусов, и тяжелая химия против рака вроде паклитаксела или метотрексата. Сюда же относятся противовоспалительный ибупрофен и левофлоксацин, который работает как сильный антибиотик. Если смотреть на математику процесса, то тут все обычно идет по первому порядку или формуле Корсмейера–Пеппаса. Эти модели четко показывают две вещи: полимер сначала сильно набухает в воде, а потом лекарство просто диффундирует наружу через сетку.

Самое интересное, что эти системы умеют реагировать на нагрев или смену кислотности среды. Это дает возможность доставлять молекулы точно в цель. Например, так можно довезти 5-фторурацил до толстой кишки, потому что в ЖКТ постоянно меняется уровень pH. Или можно уколоть те же противогрибковые пептиды и паклитаксел прямо внутрь опухоли, чтобы не травить весь организм. Некоторые составы делают жидкими — они превращаются в плотный гель уже внутри тела от его тепла. Другие же хорошо липнут к слизистым оболочкам, поэтому дольше остаются там, куда их нанесли [110, 111]. Гидрогели по своей природе обладают высокой пористостью и значительной способностью к набуханию, важными свойствами, которые можно точно регулировать, просто изменяя концентрацию полимера или количество сшивающего агента. Лабораторные исследования также показывают, что после процесса сшивания или разрушения

полимера значительно улучшаются термическая стабильность и механическая прочность матрицы. С другой стороны, оценка токсичности и биосовместимости этих материалов подтверждает, что эти гидрогели в целом совместимы с живыми тканями, не оказывают разрушительного воздействия на клетки (нецитотоксичность) и полностью совместимы с клетками крови (гемосовместимость); это подтверждает их безопасную эффективность в биомедицинской инженерии [112, 113]. Следует отметить, конечно, что точная настройка состава и плотности сшивания играет ключевую роль в достижении желаемого механического поведения и профиля высвобождения лекарственного средства, которые нас интересуют. Интересно, что некоторые из этих систем демонстрируют обратимое поведение фазового перехода золь-гель и возможность повторной обработки, что еще больше увеличивает их потенциал для биомедицинских применений и изготовления сенсоров. Наконец, мукоадгезивные и локальные системы доставки лекарств могут снизить системные побочные эффекты во всем организме за счет концентрации препарата в целевом месте и преодоления барьера лекарственной устойчивости, особенно в протоколах противогрибкового и противоракового лечения [114-116].

1.13. Термочувствительные гидрогели для доставки лекарств на основе поливинилового спирта

Гидрогели на основе поливинилового спирта (ПВС) широко исследуются для доставки лекарств из-за их биосовместимости, настраиваемых свойств и способности реагировать на внешние стимулы. Термочувствительные и pH-чувствительные гидрогели ПВС могут обеспечить контролируемое, длительное и целенаправленное высвобождение лекарств, что делает их перспективными кандидатами для современных систем доставки лекарств. Гидрогели ПВС могут быть разработаны для реагирования на изменения температуры, что позволяет высвобождение лекарств по требованию при воздействии определенных температурных условий. Это достигается путем включения термочувствительных полимеров или фрагментов в сеть ПВС, что позволяет гидрогелю набухать или сжиматься в ответ на температуру, тем самым модулируя скорость диффузии лекарств [117, 118]. Многие гидрогели на основе ПВС также разработаны с учетом pH-чувствительности, высвобождая лекарственные средства преимущественно при определенных уровнях pH. Это особенно полезно для целевого высвобождения лекарственных средств в определенных средах организма, таких как кислые опухолевые ткани или желудочно-кишечный

тракт [119]. ПВС часто комбинируют с другими полимерами (например, сукциногликаном, глутаминовой кислотой, хитозаном, желатином, карбополом, альгинатом натрия) для повышения отзывчивости, механической прочности и биосовместимости. Гидрогели изготавливаются с использованием физического (циклы замораживания-оттаивания) или химического сшивания (например, глутаральдегида), которое влияет на пористость, набухание и профили высвобождения лекарств. Встраивание наночастиц, содержащих лекарства (например, хитозана, лигнина), в гидрогели ПВС может дополнительно контролировать скорость высвобождения и добавлять такие функциональные возможности, как антиоксидантные или антибактериальные свойства [120, 121].

Гидрогели на основе ПВС имеют много преимуществ. Они могут обеспечить пролонгированное высвобождение лекарств, снижая частоту дозирования и побочные эффекты. Свойства pH и термочувствительности обеспечивают специфическое высвобождение лекарств, что полезно для терапии рака, заживления ран и пероральной доставки лекарств. Большинство гидрогелей на основе ПВС демонстрируют хорошую биосовместимость и минимальную токсичность in vitro и in vivo [122-124].

1.14. Кинетическое моделирование высвобождения лекарственных веществ из контролируемых систем доставки

За последние несколько десятилетий были достигнуты значительные успехи в области доставки лекарств с разработкой лекарственных форм с контролируемым высвобождением. Существует большое разнообразие формул, предназначенных для перорального контролируемого высвобождения лекарств, а также различные физические свойства, которые влияют на высвобождение лекарств из этих образцов. Модели высвобождения можно разделить на те, которые высвобождают лекарство с медленной нулевой или первой скоростью, и те, которые обеспечивают начальную быструю дозу, за которой следует медленное нулевое или первое высвобождение поддерживаемого компонента. Целью систем с контролируемым высвобождением является поддержание концентрации лекарства в крови или целевых тканях на желаемом уровне как можно дольше. Другими словами, они способны контролировать скорость и продолжительность высвобождения лекарства [125-127]. Для этой цели, как правило, системы с контролируемым высвобождением первоначально высвобождают часть содержащейся дозы, чтобы быстро достичь эффективной терапевтической концентрации лекарства. Затем кинетика высвобождения лекарства

следует четко определенному поведению, чтобы поставлять поддерживающую дозу, позволяющую достичь желаемой концентрации лекарства. В свете широкой универсальности применения рецептур с контролируемым высвобождением в области медицинских наук они являются неизбежными инструментами для эксплуатации современной концепции терапевтического лечения, целью которой является повышение эффективности лекарств, снижение частоты приема и побочных эффектов, связанных с дозировкой.

По сути, рецептуры с контролируемым высвобождением объединяют инженеров и фармацевтов для совместной работы с общей целью создания все более эффективных продуктов. Для этой цели использование математического моделирования оказывается очень полезным, поскольку этот подход позволяет, в лучшем случае, прогнозировать кинетику высвобождения до того, как будут реализованы системы высвобождения. Чаще всего он позволяет измерять некоторые важные физические параметры, такие как коэффициент диффузии лекарства, и прибегать к подгонке модели на основе экспериментальных данных о высвобождении. Таким образом, математическое моделирование, разработка которого требует понимания всех явлений, влияющих на кинетику высвобождения лекарства [128], имеет очень важное значение в оптимизации процесса такой формулировки. Модель можно просто рассматривать как «математическую метафору некоторых аспектов реальности», которая в данном случае отождествляется с ансамблем явлений, управляющих кинетикой высвобождения [129, 130]. Для этой общности математическое моделирование широко применяется в различных дисциплинах, таких как генетика, медицина, психология, биология, экономика и, очевидно, инженерия и технология.

Зависимые от модели методы основаны на различных математических функциях, которые описывают профиль растворения. После выбора подходящей функции профили растворения оцениваются в зависимости от полученных параметров модели. Зависимые от модели подходы включали нулевого порядка, первого порядка, Хигучи и Корсмейера-Пеппаса [131, 132].

Модель нулевого порядка

Модель нулевого порядка описывает процесс высвобождения, при котором скорость выделения лекарственного вещества остается постоянной во времени и не зависит от концентрации препарата в матрице [133, 134]. Эта модель может быть выражена следующим уравнением (5):

$$M_t=M_0+k_0t \quad (5)$$

Где: M_t- количество лекарственного вещества, высвобожденного в момент времени;

M_0- начальное количество лекарственного вещества в системе;

k_0- константа скорости высвобождения нулевого порядка;

t - время.

Модель первого порядка

Модель первого порядка предполагает, что скорость высвобождения лекарственного вещества пропорциональна количеству вещества, оставшегося в системе [135, 136]. Эта модель описывается следующим выражением (6):

$$\ln (1- M_t/M_\infty) = -k_1 t \quad (6)$$

где M_t- количество высвобожденного препарата в момент времени

M_∞- общее количество препарата в системе;

k_1- константа скорости первого порядка.

Модель Хигучи

Модель Хигучи применяется для описания диффузионного высвобождения лекарственных веществ из пористых матриц и основана на законе Фика [137- 139]. Она выражается следующим уравнением (7):

$$M_t/M_\infty = k_H t^{1/2} \quad (7)$$

Где: M_t/M_∞ - доля высвобожденного лекарственного вещества;

k_H- константа скорости высвобождения по Хигучи;

t- время

Модель Корсмейера-Пеппаса

Корсмейер и др. (1983) вывели простое соотношение, описывающее высвобождение препарата из уравнения полимерной системы (8) и (9). Чтобы выяснить механизм высвобождения

препарата, первые 60% данных по высвобождению препарата были подобраны в модели Корсмейера–Пеппаса [140].

$$M_t / M_\infty = k_{KP}\, t^n \quad (8)$$

Или:

$$\log (M_t / M_\infty) = \log k_{KP} + n \log t \quad (9)$$

где M_t / M_∞ — доля препарата, высвобождаемого в момент времени t, k — константа скорости высвобождения, а n — показатель высвобождения. Значение n используется для характеристики различного высвобождения для матриц цилиндрической формы. В этой модели значение n характеризует механизм высвобождения препарата. Для случая цилиндрических таблеток $0.45 \leq n$ соответствует механизму диффузии по закону Фика, $0.45 < n < 0.89$ — нефиковскому транспорту, $n = 0.89$ — транспорту по случаю II (релаксационному), а $n > 0.89$ — транспорту по суперслучаю II. Чтобы узнать показатель степени n, следует использовать только часть кривой высвобождения, где $M_t / M_\infty < 0.6$. Для изучения кинетики высвобождения данные, полученные в исследованиях высвобождения препарата in vitro, были нанесены на график в виде логарифмического кумулятивного процента высвобождения препарата в зависимости от логарифма времени [141, 142].

1.15. Физико-химическое обоснование исследования

Гидрогели стали одним из наиболее перспективных классов биоматериалов для доставки лекарств благодаря своей уникальной способности впитывать большие объемы воды, имитировать биологические ткани и обеспечивать регулируемую платформу для контролируемого высвобождения. Однако, несмотря на обширные исследования последних десятилетий, рациональная разработка систем доставки лекарств на основе гидрогелей остается серьезной проблемой. Сложность обусловлена тем, что загрузка, удержание и высвобождение лекарства определяются не только макроскопическими свойствами, такими как набухаемость или пористость, но и тонкими физико-химическими взаимодействиями на молекулярном уровне между полимерной матрицей и молекулами лекарства. Понимание и контроль этих взаимодействий требует строгого физико-химического подхода, связывающего структурные особенности гидрогеля с его функциональными характеристиками [143, 144].

С физико-химической точки зрения проблема складывается из двух частей. Во- первых, механизмы адсорбции и десорбции молекулы лекарств в гидрогелиевых матрицах определяются деликатным равновесием водородных связей, гидрофобными эффектами, ионными взаимодействиями и стерическими ограничениями. При этом на взаимодействия сильно сказывается структура полимерных цепочек — плотность сетки, расположение гидрофильных/гидрофобных звеньев, функциональные группы — а также условия среды (температура, pH). Во-вторых, транспорт молекул лекарств внутри гидрогелиевой сетки — это не просто диффузия (по закону Фика); скорее, речь идёт о сложном явлении, сочетающем перестраивающуюся динамику набухания/сжатия сетки, зависимые от температуры фазовые переходы и, вероятно, обратимый кросслинкинг с полимерными цепями. Именно сопряженное действие этих параллельно происходящих факторов на практике создает существенные трудности при построении и конструировании прогнозирующих моделей кинетики высвобождения лекарственных препаратов [145-148].

Решение данной проблемы представляется насущным, принимая во внимание ограничения, присущие современным системам доставки на основе гидрогелей. Многие традиционные разработки основаны на эмпирической оптимизации, а не на механистическом понимании, что приводит к созданию систем, которые часто страдают от взрывного высвобождения, плохой воспроизводимости или отсутствия реакции на физиологические условия. Без установления четких физико-химических принципов, определяющих взаимосвязь между структурой, свойствами и функцией, практически невозможно систематически конструировать гидрогели с предсказуемыми и контролируемыми профилями высвобождения. Этот пробел в знаниях особенно важен для термочувствительных гидрогелей, где фазовые переходы и взаимодействия полимера с лекарственным средством происходят одновременно и динамично, что обуславливает крайне нелинейный характер высвобождения. Следовательно, крайне необходимо систематическое исследование физико-химических основ взаимодействия лекарственного средства с гидрогелем.

Сосредоточившись на том, как структурные параметры, такие как плотность сшивки, распределение пор по размерам и гидрофильно-гидрофобный баланс, регулируют как кинетику адсорбции/десорбции, так и механизмы молекулярного транспорта, можно выявить ключевые физико-химические детерминанты высвобождения. Это не только способствует фундаментальному пониманию поведения гидрогелей, но и обеспечивает рациональную основу для разработки новых

платформ доставки лекарственных средств, которые являются эффективными, воспроизводимыми и адаптируемыми к различным терапевтическим потребностям [149-151].

В данном исследовании синтезированы и структурно модифицированы тонкие пленки и гибридные гидрогели на основе поливинилового спирта, ксантановой камеди и глицерина для достижения контролируемой сетевой архитектуры. Физико-химические свойства этих гидрогелей, включая набухание, термостабильность и диффузионные характеристики, систематически коррелируют с их структурными особенностями. Целью исследования является выявление доминирующих механизмов высвобождения и установление взаимосвязей между структурой, свойствами и кинетикой, путем изучения кинетики адсорбции и десорбции молекул лекарственных средств при различных условиях окружающей среды (температуре и pH).

ГЛАВА 2. Экспериментальная часть

2.1. Материалы

Поливиниловый спирт (ПВС) (со средней молекулярной массой 85000–124000 г/моль, 99% гидролизованный), глицерин (Гли), буферный раствор (pH 4,6 и 9,1) были приобретены у Sigma-Aldrich. Промышленная ксантановая камедь (КК) был приобретен у компании HSH chemie. Метронидазол (МТЗ) (API) был подарком от Iran Avandfar company. Фосфатный буферный солевой раствор (PBS) 10X (pH 7,4) был получен от Fisher Bio Reagents. желатин (типа B, выделенный из коллагена) и лимонная кислота были приобретены у компании Sigma-Aldrich. Порошок эритромицина (активный фармацевтический ингредиент) был приобретен у компании Shafa Pharma Co. (Тегеран, Иран). Деионизированная вода использовалась во всех частях экспериментов. Все химикаты использовались без какой-либо дополнительной очистки.

2.2. Характеристика материалов

ИК спектроскопия

ИК–Фурье спектры поливиниловый спирт (ПВС), ксантановая камедь (КК), глицерин (Гли), метронидазол (МТЗ), синтезированные гидрогели, желатин, эритромицин и тонкие пленки были записаны с использованием прибора Thermo Scientific FTIR (Nicolet 8700) в интервале длин волн от 650 до 4000 $см^{-1}$ со спектральным разрешением 4 $см^{-1}$ с приставкой НПВО. ИК-Фурье спектры были записаны с использованием прибора Thermo Scientific FTIR (Nicolet 8700) в интервале длин волн от 650 до 4000 $см^{-1}$ со спектральным разрешением 4 $см^{-1}$ в режиме пропускания с использованием метода прессования таблеток. Для получения таблеток 1 мг лиофилизованных CDs-C2…C12 смешивали с 200 мг порошка KBr в агатовой ступке, смесь прессовали под нагрузкой ~7 тонн в течение 2-4 мин. В качестве фонового сигнала использовали таблетку чистого KBr.

2.3. Измерения методом рентгеновской дифракции (XRD)

Кристаллические структуры ПВС, КК, синтезированных ПВС–Гли–КК гидрогелей (Образцы F1 и F2) и ПВС–Гли–КК гидрогелей содержащих метронидазол (Образцы F1+ МТЗ и F2+ МТЗ) , исследовали с помощью рентгеноспектрального аналитического прибора (ДРОН-3М, Буревестник,

Россия), оснащенного детектором HyPix-3000. ПВС и КК анализировали в порошкообразном виде, а образцы гидрогелей готовили путем лиофилизации перед измерением. Рентгеновские дифракционные картины (РФА) в диапазоне 2θ = 10–80 градусов анализировали с использованием излучения CuKα при напряжении трубки 30 кВ и токе трубки 20 мА.

2.4. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

Структуры поперечного сечения гидрогелей исследовали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с помощью прибора ZEISS Gemini SEM 500. Перед наблюдением гидрогели подвергали замораживанию в течение 4 часов. Затем образцы покрывали тонкой золотой пленкой. Затем образцы наблюдали при увеличении 100x и ускоряющем напряжении 5,0 кВ. Энергодисперсионный рентгеновский спектр (EDX) использовался с целью определения наличия атомов C, O и N с последующим картированием их распределения в гидрогелях.

2.5. Термический анализ

Термогравиметрический анализ (ТГА) проводился с использованием прибора SDT Q600 на образцах весом 22 ± 0,1 мг. Эти образцы помещались в тигли Al_2O_3 и нагревались от 25 до 400 °C со скоростью 10 °C/мин в атмосфере аргона. Кроме того, термические свойства материалов оценивались с использованием дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) с тем же оборудованием.

2.6. Испытание на сжатие и измерение твердости

Испытания на сжатие проводились с использованием испытательной машины (GOTECH AI-7000M, Китай). Эти испытания проводились на образцах влажного гидрогеля при комнатной температуре, высотой 10 мм и диаметром 15 мм, с компрессией, применяемой со скоростью 10 мм/мин. Точные измерения (диаметр, высота) каждого образца проводились с помощью штангенциркуля перед испытанием.

2.7. Измерение толщины тонких пленок желатина/глицерина

Толщина сухих пленок определялась с помощью цифрового микрометра Mitutoyo (погрешность ± 2 мкм). Для обеспечения точности измерения проводились как минимум в трех разных местах на каждой пленке.

2.8. Оценка прочности на разрыв, относительного удлинения при разрыве, модуля Юнга и трещиностойкости тонких пленок желатина/глицерина

Для измерения прочности на растяжение, относительного удлинения при разрыве, модуля Юнга и трещиностойкости пленок использовалась электронная испытательная машина с микрокомпьютерным управлением (GOTECH AI-7000M, Китай). Измерения проводились в соответствии со стандартным методом ASTM D882-01 (ASTM, 2001a). Пленки, используемые для измерения механических свойств, были подготовлены в виде дисков диаметром 7,5 см. Из каждой пленки были извлечены образцы соответствующего размера, закреплены между зажимами машины и подвергнуты испытанию на разрушение. Анализ проводился шесть раз.

2.9.тест на краевой угол смачивания водой

Гидрофильность поверхности пленок оценивали путем измерения краевого угла смачивания (микроскоп Veho USB 400x и программное обеспечение DSA4). Результаты представлены в виде средних значений, полученных в результате пяти независимых измерений, проведенных в различных случайно выбранных точках.

2.10. Поведение гидрогеля при набухании

Чтобы оценить степень набухания ПВС–Гли–КК гидрогелей, каждый высушенный гидрогель оценивали при различных значениях pH (pH 4,6, 7,4 и 9,1) и различных температурах (20 ℃, 30 ℃, 40 ℃, 50 и 60 ℃). Для этих экспериментов каждый высушенный гидрогель взвешивали и погружали в деионизированную воду при различных температурах и в буферы с различным pH на 24 часа. Затем набухшие гидрогели взвешивали и определяли степень набухания с помощью следующей формулы:

Набухание %=$(W_f - W_d)/W_d \times 100$

Где, W_f- вес влажного гидрогеля после погружения (г), W_d- вес сухого гидрогеля до погружения (г).

2.11. Загрузка лекарств (метронидазол (МТЗ)) в гидрогели

В этом исследовании метронидазол (МТЗ) был выбран в качестве модельного лекарства для экспериментов по загрузке и высвобождению. ПВС–Гли–КК Гидрогели (Образцы F1 и F2) были индивидуально загружены лекарством с помощью метода диффузии набухания [152, 153]. Для этой цели были приготовлены растворы лекарств путем растворения 50 мг метронидазола в 50 мл деионизированной воды, и предварительно взвешенные гидрогели были погружены в растворы при комнатной температуре на 24 часа. После этого периода гидрогели с лекарством были извлечены из растворов лекарств, промыты дистиллированной водой и оставлены сохнуть в течение 48 часов при комнатной температуре. Полученные гидрогели с метронидазолом были помечены как F1+ МТЗ и F2+ МТЗ.

Чтобы определить количество активного фармацевтического ингредиента (АФИ), гидрогели с лекарством (Образцы F1+ МТЗ и F2+ МТЗ) были погружены в фосфатно-солевой буферный раствор (PBS) с pH 7,4 при комнатной температуре и перемешивались в течение 24 часов, чтобы вызвать распад гидрогеля [154]. После этого концентрацию метронидазола оценивали путем измерения поглощения раствора при 319 нм с использованием спектрофотометра UV-Vis (EVOLUTION 201) [155]. Процент загрузки лекарственного препарата рассчитывается по следующей формуле:

Загрузка препарата (%) = (Масса препарата в образце/Масса образца) × 100

2.12.Загрузка лекарственного препарата в тонкие пленки из желатина/глицерина

Был приготовлен 15-мМ раствор эритромицина в дистиллированной воде. Высушенные диски из тонких пленок замачивали в растворе эритромицина при комнатной температуре в течение 24 часов. Затем набухшие пленки промывали дистиллированной водой и оставляли сохнуть в течение 48 часов при комнатной температуре.

2.13. Исследование высвобождения лекарств in vitro

Перед началом экспериментов по высвобождению лекарств in vitro была тщательно установлена калибровочная кривая для метронидазола. Это было достигнуто путем измерения поглощения УФ-излучения стандартных растворов метронидазола при концентрациях 0,1, 0,3, 0,6 и 0,9 мг/мл. Все растворы были приготовлены в 0,1 М фосфатно-солевом буфере (PBS) при физиологическом pH 7,0, а показания поглощения были записаны на длине волны 319 нм с использованием спектрофотометра УФ-видимого диапазона. Эта калибровочная кривая позже использовалась в качестве эталона для количественной оценки количества препарата, высвобождаемого во время исследования.

Затем поведение высвобождения препарата из ПВС–Гли–КК гидрогелей, загруженных метронидазолом, оценивалось в различных условиях окружающей среды для имитации различных физиологических сценариев. В частности, систематически исследовалось влияние различных уровней pH (4.6, 7.4 и 9.1) и температур (20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C и 60 °C) на кинетику высвобождения препарата. Для каждого условия теста образцы гидрогеля, содержащие известное количество метронидазола, погружали в 20 мл раствора PBS внутри отдельных стаканов. Эти стаканы поддерживались при постоянном перемешивании со скоростью 100 оборотов в минуту (об/мин) для обеспечения равномерного смешивания и диффузии. Через заданные интервалы времени 2 мл среды высвобождения осторожно извлекали и немедленно заменяли равным объемом свежего PBS для поддержания постоянного объема и обеспечения условий погружения на протяжении всего эксперимента. Концентрацию высвобожденного метронидазола в собранных образцах количественно определяли с помощью УФ-спектрофотомерии при 319 нм, ссылаясь на ранее установленную калибровочную кривую. Кумулятивное количество препарата, высвобождаемого из гидрогелиевой матрицы, было рассчитано и выражено в процентах от начального содержания препарата, загруженного в гидрогель, при этом 100% соответствовало общему начальному количеству метронидазола. Этот подход позволил провести комплексную оценку профиля высвобождения при различных значениях pH и температурных условиях, что дало ценную информацию о потенциале гидрогеля для контролируемой доставки лекарств.

2.14. Антимикробная активность

Антибактериальные свойства синтезированных композитных гидрогелей были систематически оценены с использованием стандартизированного диско-диффузионного анализа, широко распространенного метода оценки антимикробной эффективности. Этот метод был использован для исследования ингибирующего потенциала гидрогелей против двух штаммов бактерий, представляющих различные физиологические характеристики: Bacteroides fragilis (B. fragilis), строгий анаэроб, и Escherichia coli (E. coli), факультативная аэробная бактерия, обычно используемая в качестве модельного организма в микробиологических исследованиях. Ингибирующее действие гидрогелей оценивалось путем измерения диаметра зоны ингибирования, образованной вокруг каждого образца гидрогеля, помещенного на поверхность агаровых пластин. Размер этой зоны зависит от множества факторов, в первую очередь от концентрации антимикробного агента, включенного в матрицу гидрогеля, скорости диффузии соединения через агаровую среду и бактериальной нагрузки или плотности, присутствующей на пластине во время инокуляции. Для оценки антибактериальной активности против B. fragilis бактериальные суспензии изначально культивировались на агаре Мюллера-Хинтона в строго анаэробных условиях, имитирующих естественную среду роста этого организма. Анаэробная атмосфера поддерживалась с помощью газовой смеси, содержащей 10% CO_2, 10% H_2 и 80% N_2. Инкубация проводилась при температуре 37 °C в течение 48 часов для обеспечения оптимального роста. После инкубации бактериальные колонии собирались и суспендировались в стерильном физиологическом растворе для создания однородного инокулята. Затем мутность бактериальной суспензии корректировалась до соответствия стандарту Макфарланда 0.5, что обеспечивало постоянную и воспроизводимую плотность клеток на всех тестовых пластинах.

Соблюдая стандартные асептические методы, приготовленные бактериальные суспензии равномерно распределялись по поверхности агара с помощью стерильных тампонов для обеспечения однородного распределения. Гидрогели разрезали на стандартизированные сегменты в форме дисков размером 10 × 10 мм² и стерилизовали с помощью ультрафиолетового (УФ) облучения для устранения любого потенциального микробного загрязнения перед тестированием. Затем эти стерильные гидрогелиевые диски аккуратно размещали на поверхности инокулированных агаровых пластин. Затем пластины инкубировали в анаэробных условиях при 37 °C в течение еще 48 часов. По завершении инкубации чистые зоны ингибирования, окружающие каждый гидрогелиевый диск, измеряли с помощью точной линейки. Эти измерения давали количественные данные об

антимикробной эффективности гидрогелиевых составов против B. fragilis. Идентичную процедуру повторяли для оценки антимикробной активности против E. coli. В этом случае пластины агара Мюллера-Хинтона инокулировали культурами E. coli и инкубировали аэробно при 37 °C в течение 48 часов. Сравнительные результаты между двумя бактериальными штаммами позволили более широко понять бактериостатические или бактерицидные возможности гидрогелей против организмов с различной потребностью в кислороде. Эта методология обеспечила комплексную и воспроизводимую оценку антимикробной эффективности композитных гидрогелей, нагруженных лекарственными средствами, тем самым продемонстрировав их потенциальное применение при лечении инфекций, вызванных анаэробными и аэробными патогенами [156, 157].

2.15. Изучение кинетики высвобождения лекарственных средств

Кинетику высвобождения препарата метронидазол измеряли с помощью различных математических моделей, таких как модели первого порядка, Zero-order, Хигучи и Корсмейера-Пеппаса, с использованием данных высвобождения препарата in vitro.

Модель нулевого порядка: $M_t=M_0+k_0t$

Модель первого порядка: $\ln (1- M_t/M_\infty) = -k_1t$

Модель Хигучи: $M_t/M_\infty = k_Ht^{1/2}$

Модель Корсмейера-Пеппаса: $\log (M_t / M_\infty) = \log k_{KP} + n \log t$

ГЛАВА 3. Физико-химические свойства и кинетические закономерности высвобождения метронидазола из ПВС–Гли–КК гидрогелей

3.1. Синтез гидрогеля поливинилового спирта-ксантановой камеди-глицерина

Термочувствительные гидрогели на основе поливинилового спирта (ПВС), ксантановой камеди (КК) и глицерина (Гли) были синтезированы методом физического сшивания с применением циклов замораживания–оттаивания (Рисунок 3.1).

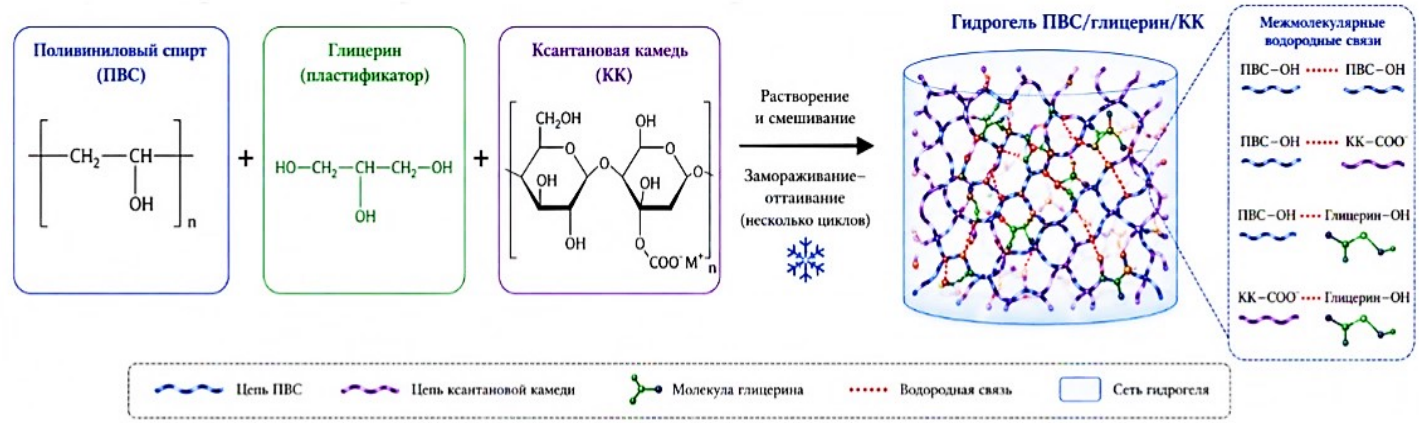


Рисунок 3.1– Схематическое изображение (А) получения гидрогеля ПВС/глицерин/ксантановая камедь методом физического сшивания (замораживание-оттаивание)

Сначала порошок ПВА растворяли в дистиллированной воде при 80°C в течение 6 часов при непрерывном перемешивании до получения прозрачного и однородного раствора. Порошок ксантановой камеди также растворяли в воде при комнатной температуре в течение 3 часов до получения однородного раствора без комков. После получения обоих растворов раствор КК вводили в раствор ПВС в массовых соотношения составов, указанные в Таблице 3.1, были соблюдены при температуре 80 ºC. В ход процесса внедрялся глицерин, дозировка которого опиралась на данные для образцов F1 и F2 (Таблица 3.1); он выполнял роль пластификатора, способствуя формированию эластичной полимерной структуры. Смесь тщательно вымешивали до достижения полной однородности и отсутствия фазового расслоения.

Для инициирования физического сшивания и формирования пространственной сетчатой структуры гидрогеля композиции подвергали двум последовательным циклам замораживания–оттаивания. Каждый цикл включал замораживание при температуре –15 °C в течение 18 ч и последующее оттаивание при комнатной температуре в течение 4 ч. В ходе данного процесса происходило образование кристаллитов ПВС и усиление водородных связей между компонентами, что приводило к формированию прочной пористой гидрогелиевой матрицы. Метод замораживания–оттаивания применяли в соответствии с подходами, описанными в литературе [158–167], с учетом модификаций состава. Схематическое изображение этапов синтеза представлено на Рисунке 3.2.

Таблица 3.1 – Состав ПВС–Гли–КК гидрогелей

Составы, наименование образцов	**ПВС, грамм**	**КК, грамм**	**Гли, мл**	**Дистиллированная вода (мл)**
F 1	1.4	0.4	2	50
F 2	1.4	0.6	2	50

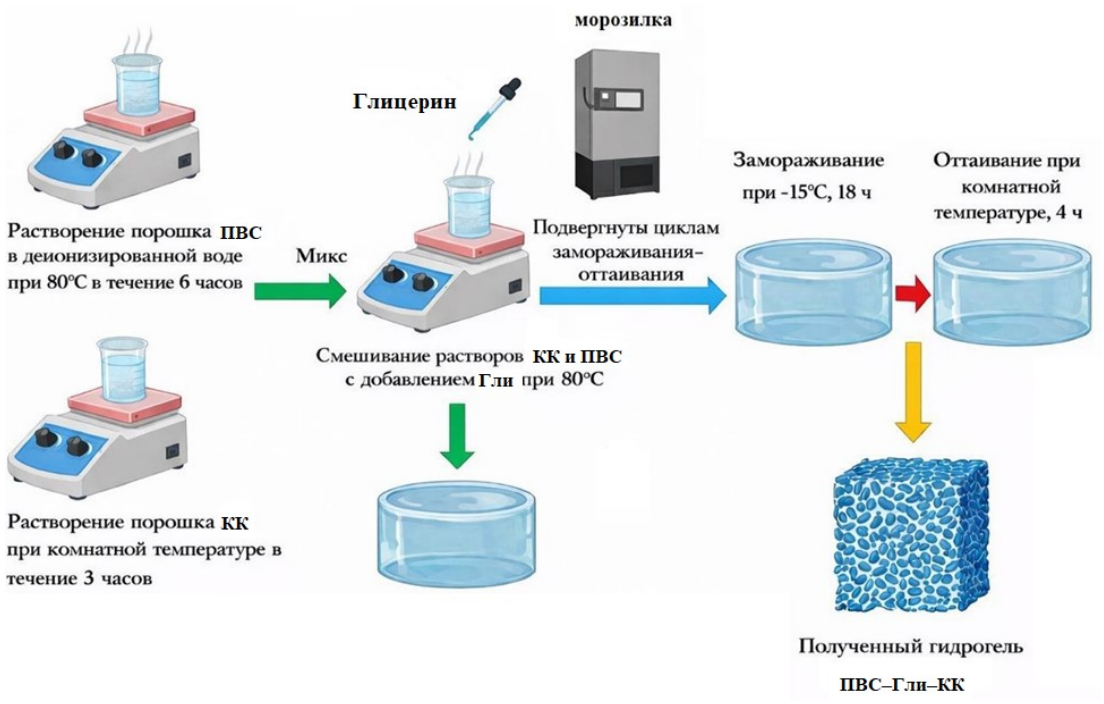


Рисунок 3.2– Схематическое изображение процесса синтеза ПВС–Гли–КК гидрогеля

После получения гидрогеля загрузка метронидазола осуществлялась методом набухания–диффузии, при котором молекулы лекарственного вещества диффундируют внутрь пористой полимерной матрицы и удерживаются в гидрогелиевой сети за счет межмолекулярных взаимодействий (Рисунок 3.3).

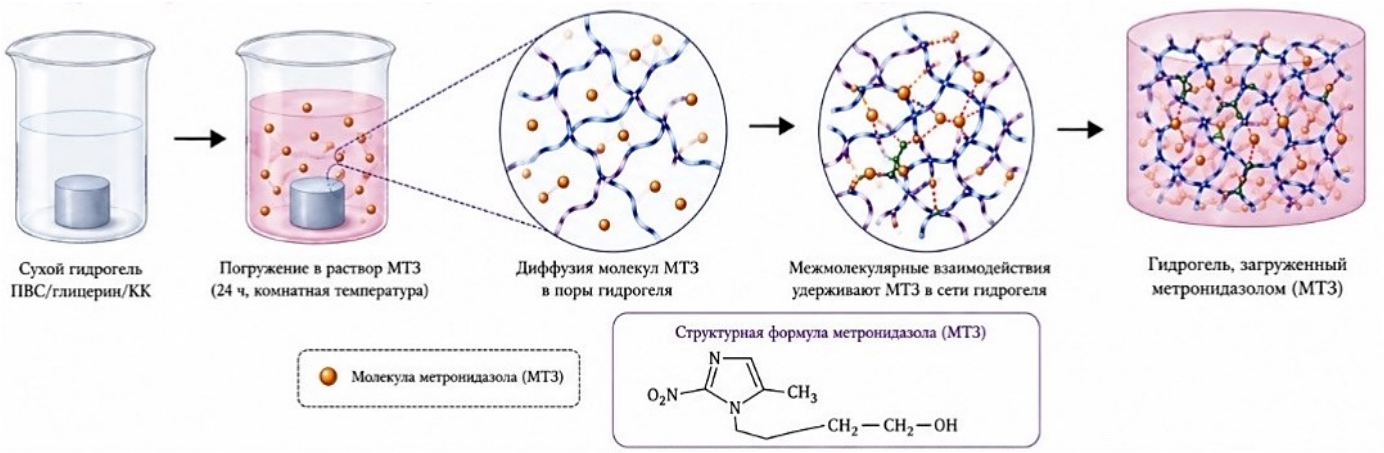


Рисунок 3.3 – загрузки метронидазола в гидрогель методом диффузии (набухание-диффузия).

3.2. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) и Энергодисперсионный рентгеновский анализ (ЭДС)

Для изучения морфологии поверхности синтезированных образцов гидрогеля была использована сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) (Рисунок 3.4). Анализ проводился на лиофилизированных образцах составов F1, F2, F1 + МТЗ и F2 + МТЗ. Снимки СЭМ показали, что все образцы гидрогеля демонстрируют отчетливую асимметричную морфологию, характеризующуюся взаимосвязанной и нерегулярной пористой сетью.

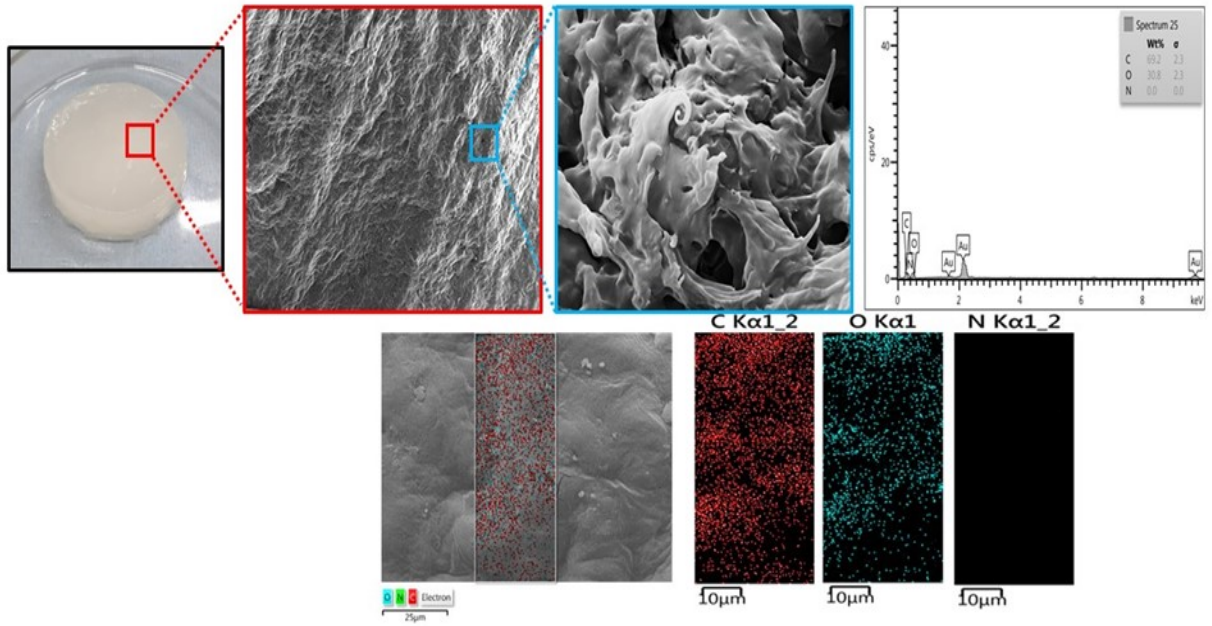
Такая Пористая структура гидрогеля необходима для реализации физиологических процессов, поскольку именно она обеспечивает условия для приклеивания, движения, размножения и превращения клеток в нужные ткани [168]. Развитая сеть пор сразу улучшает способность гидрогеля пропускать вещества, благодаря чему вода легче проникает внутрь полимерной сетки и надёжнее там задерживается. В результате повышается общая степень набухания и становится возможным управлять переносом влаги не только пассивно, но и активно. Сама по себе такая регуляция нужна главным образом для того, чтобы сохранять упругость и надёжные прочностные свойства гидрогеля именно под нагрузкой [169–171]. За счёт сочетания этих свойств подобные

материалы широко используются в терапии раневых поверхностей, в тканевой инженерии и при разработке лечебных систем с контролируемым высвобождением лекарственных веществ.

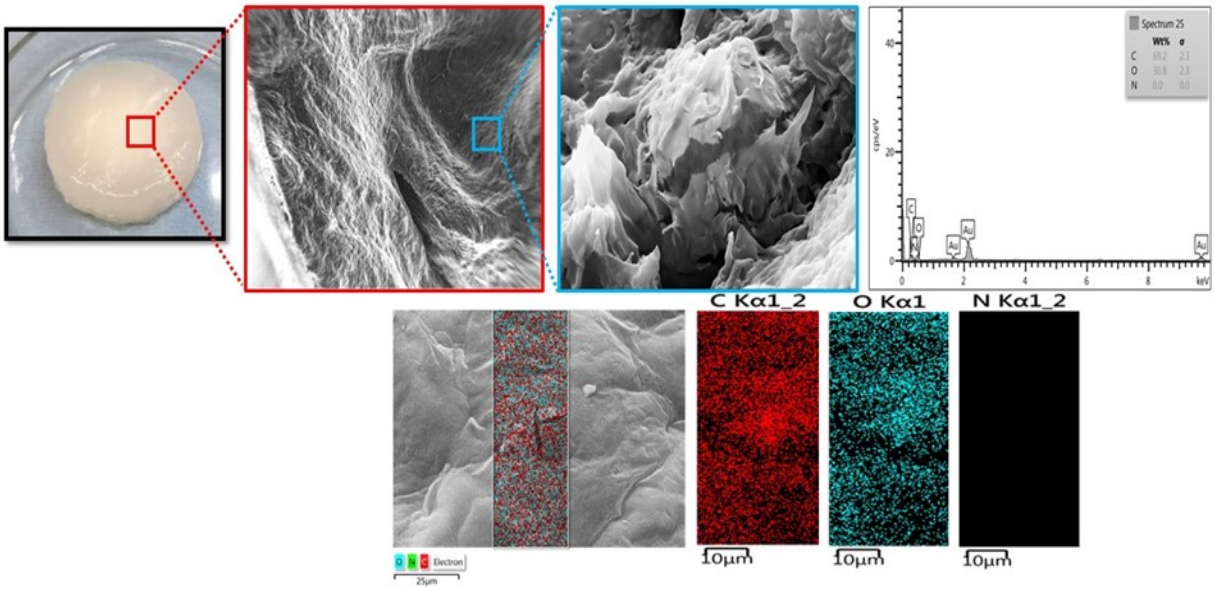
Физическая сеть гидрогелей формируется в результате циклов замораживания–оттаивания и системы межмолекулярных водородных связей между гидроксильными группами поливинилового спирта, гидроксильными группами глицерина, а также гидроксильными и карбоксильными группами ксантановой камеди. Такие взаимодействия стабилизируют трехмерную полимерную сеть, тогда как аморфные области обеспечивают взаимосвязанность пористой структуры и способствуют проникновению воды и молекул лекарственного вещества внутрь гидрогеля. Анализ EDX дополнительно подтвердил элементный состав гидрогелей, указав на присутствие углерода (C), кислорода (O) и азота (N) (Рисунок 3.4). Сравнение спектров EDX между гидрогелями без лекарств (F1 и F2) и препаратами с лекарством (F1 + МТЗ и F2 + МТЗ) показало заметное увеличение содержания азота в последних. Это увеличение концентрации азота является убедительным доказательством успешного включения метронидазола (МТЗ) в матрицу гидрогеля.

Кроме того, элементное картирование во время анализа СЭМ-EDX выявило пространственное распределение элементов в образцах. Атомы углерода, кислорода и азота были представлены красными, синими и зелеными точками соответственно, что указывает на равномерную дисперсию по всей матрице гидрогеля. Однородное распределение азота в образцах, загруженных МТЗ, подчеркивает эффективность метода набухания-диффузии для загрузки лекарств, подтверждая, что метронидазол успешно абсорбировался и хорошо распределялся в пористой структуре гидрогелей. В целом, анализы СЭМ и EDX подтверждают структурную целостность, биосовместимость и эффективность загрузки лекарств разработанных гидрогелиевых составов, что делает их перспективными кандидатами для биомедицинского применения.

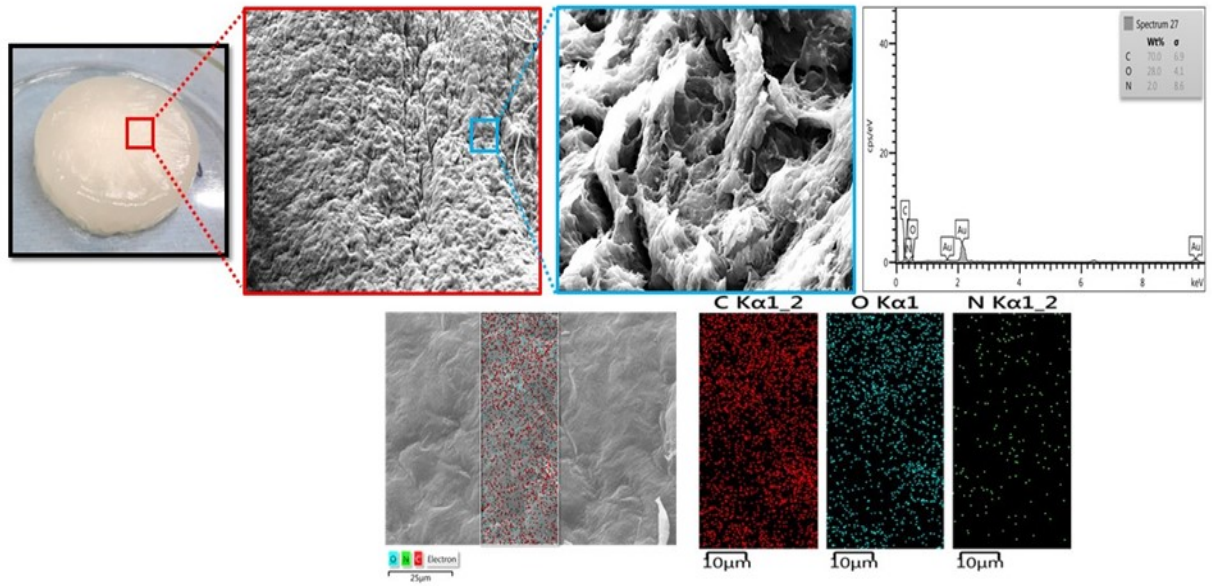
a)


Spectrum 25
Wt% σ
C 69.2 2.3
O 30.8 2.3
N 0.0 0.0
cps/eV
keV
C Kα1_2
O Kα1
N Kα1_2
O N C Electron
25µm
10µm
10µm
10µm

b)


Spectrum 25
Wt% σ
C 69.2 2.3
O 30.8 2.3
N 0.0 0.0
cps/eV
keV
C Kα1_2
O Kα1
N Kα1_2
O N C Electron
25µm
10µm
10µm
10µm

c)



d)

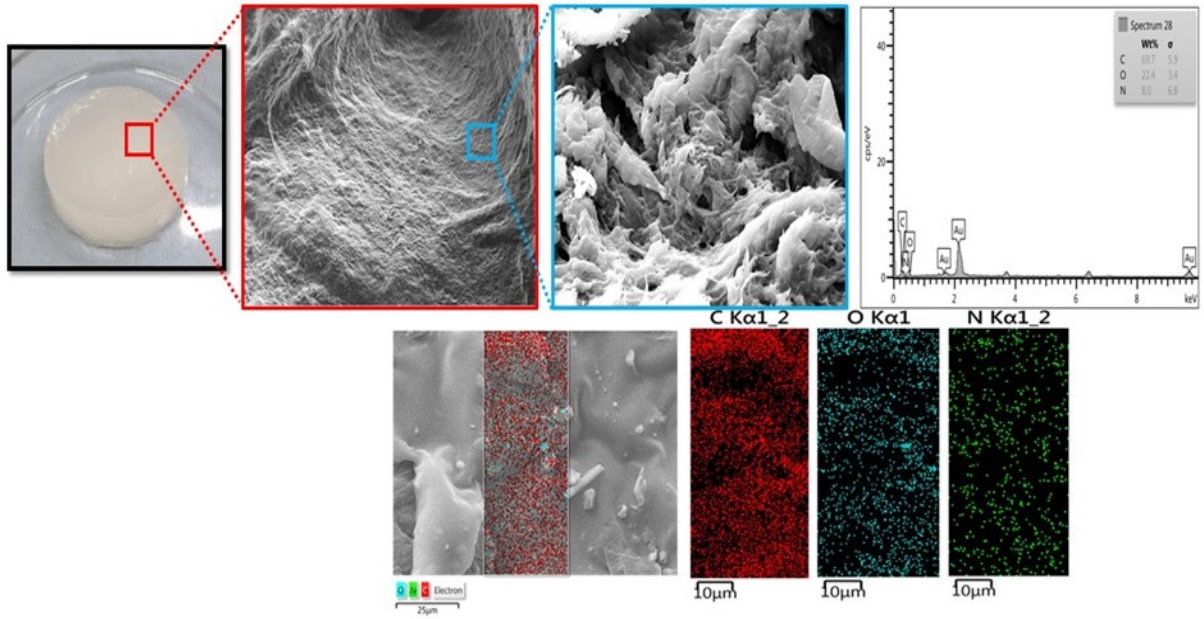


Рисунок 3.4 – СЭМ-изображения, EDX и картирование поверхности a) F1, b) F2, c) F1+ МТЗ и d) F2+ МТЗ

3.3. Структурный анализ

ИК Спектральный анализ образцов

Спектры Фурье-преобразования инфракрасных (*ИК*) спектров различных проанализированных образцов показаны на Рисунке 3.5, что дает представление об их молекулярных структурах и функциональных группах.

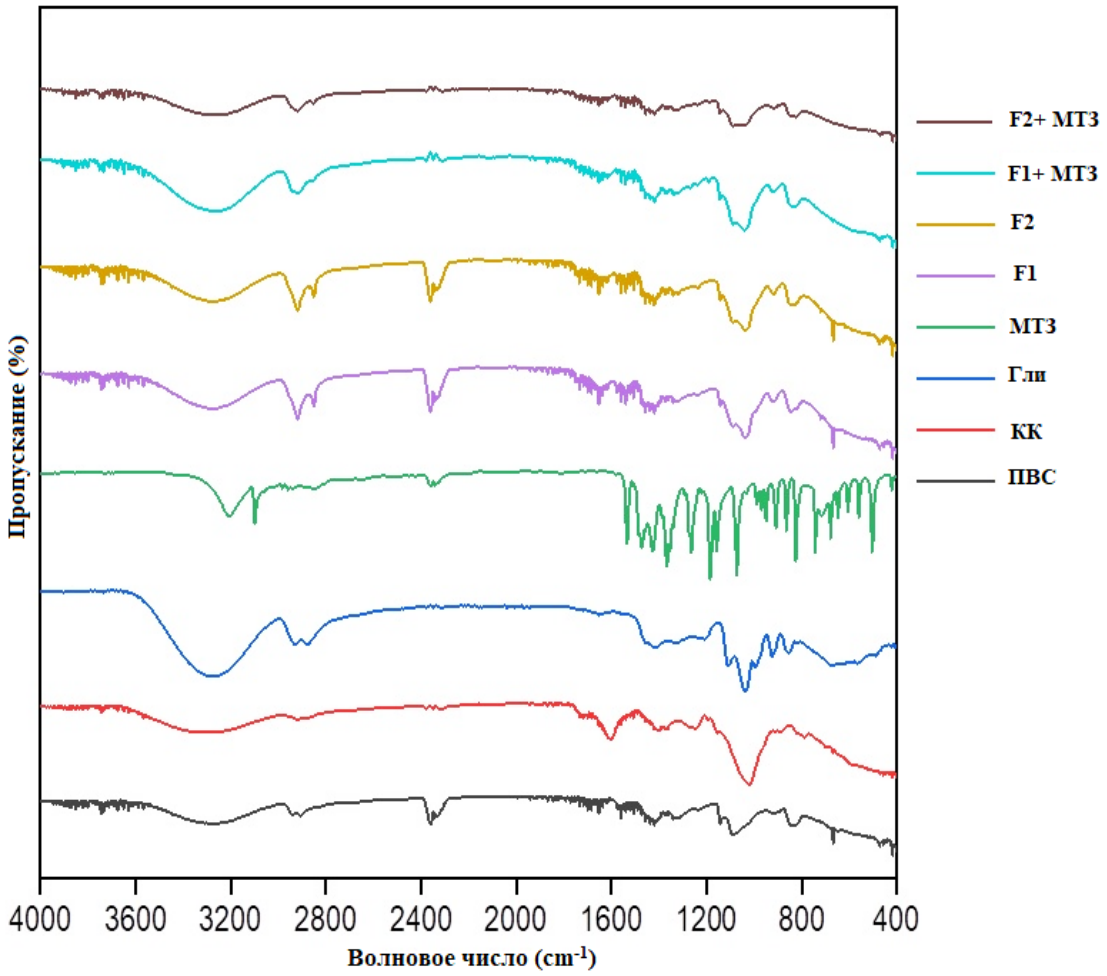


Рисунок 3.5 – ИК-спектры с преобразованием Фурье для гидрогелей ПВС, КК, Гли, МТЗ, ПВС–Гли–КК и гидрогелей ПВС–Гли–КК с лекарственным средством

В ИК-спектре ПВС широкая интенсивная полоса поглощения в районе 3200–3600 $см^{-1}$ отнесена к валентным колебаниям гидроксильных (–OH) групп. Наличие этого пика указывает на сильное развитие межмолекулярных водородных связей, что соответствует гидрофильному характеру полимера. Полоса при 2926 $см^{-1}$ соответствует валентным колебаниям C–H алкильных цепей [172].

ИК-спектр ксантановой камеди (КК) имеет также широкую полосу 3200 – 3600 $см^{-1}$, связанную с валентными колебаниями O-H гидроксильных групп полимерного углевода. Пик поглощения при частоте 2926 $см^{-1}$ отнесён к валентным колебаниям C-H алифатических частей молекулы. Помимо этого сильные полосы при частотах 1626 $см^{-1}$ и 1054 $см^{-1}$ соответствуют асимметричному валентному растяжению карбоксильной группы и колебаниям C-O-C циклических эфирных групп соответственно. Дополнительные пики (при 1723 $см^{-1}$, 1419 $см^{-1}$ и 790 $см^{-1}$) обусловлены растяжением C=O ацетильных групп, деформационным колебанием метильных групп и циклическим изгибом –CH, свидетельствуя о полидисперсной структуре сахаридной матрицы КК [173].

В ИК-спектре глицерина (Гли) выявлены характерные полосы функциональных групп. Широкая полоса около 3300 $см^{-1}$ соответствует валентным колебаниям O–H, тогда как сигнал в области ~2900 $см^{-1}$ обусловлен растяжением C–H связей. Полосы при 1635 $см^{-1}$, 1370 $см^{-1}$ и 1030 $см^{-1}$ в составе гидрогелей относятся к колебаниям C–C, изгибу C–H и растяжению C–O соответственно. Эти результаты подтверждают полиспиртовую природу глицерина и его участие в формировании водородных связей, а также пластифицирующее действие в структуре гидрогеля [174].

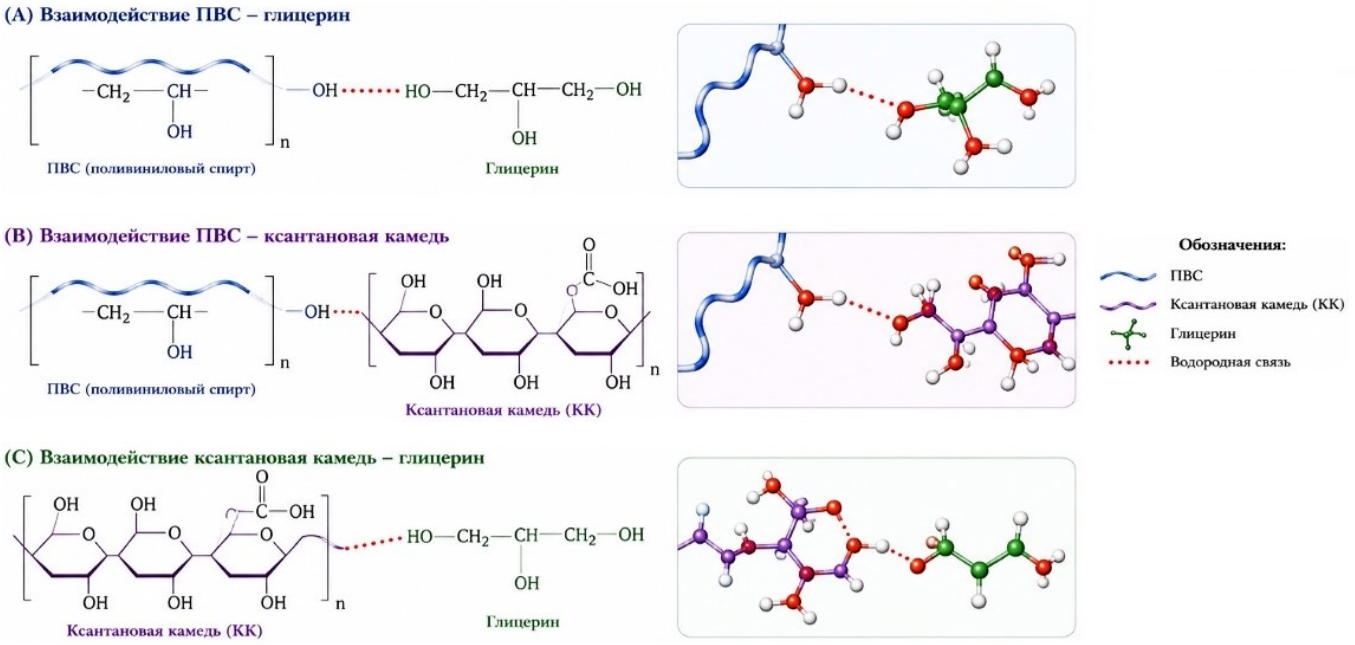


Рисунок 3.6 – Схематическое изображение межмолекулярных водородных связей между ПВС, глицерином и ксантановой камедью в гидрогелиевой сети

Как показано на рисунке 3.6, гидроксильные группы ПВС и глицерина, а также гидроксильные и карбоксильные группы ксантановой камеди способны образовывать разветвленную систему межмолекулярных водородных связей. Образование этих взаимодействий является основным механизмом формирования физически сшитой гидрогелиевой сети и объясняет изменения характеристических полос O–H, C=O и C–O в FTIR-спектрах исследуемых образцов.

Анализ ИК-спектра чистого метронидазола (МТЗ) показывает широкий пик при 3217 $см^{-1}$, свидетельствует о наличии в его составе O–H групп, ответственных за гидрофильность вещества. Явные пики на 2991, 1600 и 1523 $см^{-1}$ относятся к валентным колебаниям C-H, C=C и C=N соответственно и указывают на наличие в молекуле ароматического и гетероциклического ядер. Наличие дополнительных полос поглощения в спектральных диапазонах 1477, 1425-1430, 1452-1466, 1275-1095 и 711 $см^{-1}$ свидетельствует о присутствии в молекуле МТЗ как нитрогруппы, так и имидазольного остатка [175].

Представлены ИК-спектры гидрогелей F1 и F2. Как следует из полученных данных, характерные полосы поглощения ПВС и КК сохранились, что указывает на включение обоих

полимеров в матрицу гидрогеля и отсутствие деструктивного физического или химического взаимодействия между ними. В спектрах образцов F1, F2, F1+МТЗ и F2+МТЗ четко проявляется поглощение в области 2900 $см^{-1}$, соответствующее валентным колебаниям связей С–Н основной цепи ПВС, глицерина и КК, что подтверждает присутствие данных компонентов в составе синтезированных гидрогелей. Дополнительные полосы в области 1535 $см^{-1}$, 1054 $см^{-1}$ и 1030 $см^{-1}$ также подтверждают присутствие ПВС, КК и глицерина в структуре гидрогеля. В то же время на спектральных кривых гидрогелей с лекарственной нагрузкой (F1+МТЗ и F2+МТЗ) полосы ‹ характерные для чистого метронидазола практически не визуализируются. Такое падение интенсивности или взаимное нивелирование сигналов МТЗ мы связываем как с относительно малым содержанием допирующего агента в объеме гидрогелиевой матрицы так и с его возможным межионным или межмолекулярным взаимодействием с функциональными группами полимерных цепей ‹сопровождающимся эффектами маскирования и незначительным сдвигом частот. При этом уширение полосы поглощения в области ~3300 $см^{-1}$ для модифицированных образцов закономерно объясняется суперпозицией (наложением) валентных колебаний гидроксильных групп О-Н полимерной сетки и аминогрупп N–H самого лекарственного препарата. Более того, интенсивность полос С=О и С–О различается между образцами, что отражает влияние состава и относительных пропорций составляющих компонентов. Это хорошо согласуется со схемой межмолекулярных взаимодействий, представленной на рисунке 3.6.

Несмотря на ограниченную видимость пиков МТЗ в ИК, его присутствие в гидрогелях было окончательно подтверждено анализом EDX (энергетической дисперсионной рентгеновской спектроскопии), который обнаружил атомы азота из нитрогруппы метронидазола, подтвердив успешную инкапсуляцию препарата. Сводка пиков ИК приведена в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Сводная таблица пиков ИК-Фурье

Образец	Позиции пиков ($см^{-1}$)	Функциональные группы	Интерпретация
ПВС	3300, 2920, 1420, 1090, 840–880	O–H, C–H, CH2 bending, C–O, out-of-plane vibrations	Характеристика гидроксильных и алкановых групп в структуре ПВС.
КК	3300, 1600, 1030–1070, 890	O–H, C=O (carboxylate), C–O–C, ring vibrations	Указывает на полисахаридный остов с карбоксильными группами..
Гли	3300–3400, 2925, 1050–1100	O–H, C–H, C–O	Спиртовые функциональные группы, присутствующие в глицерине.
МТЗ	3200–3300, 1540, 1360–1380, 1070	N–H, NO2, C–N/C–O	Сигнатура нитроимидазольного кольца и аминогруппы.
F1	3300, 2920, 1600, 1100, 840–880	O–H, C–H, C=O, C–O–C, polymer vibrations	Составной спектр из ПВА, КК и Гли.
F2	3300, 2920, 1600, 1050–1100, 840–880	O–H, C–H, C=O, C–O, polymer vibrations	Подобно F1, различия в интенсивности обусловлены составом.
F1 + МТЗ	3300, 1540, 1370, 1070, 1600	O–H/N–H, N–H bending, NO2, C–O/C–N, C=O	Включение препарата подтверждается пиками N–H и NO_2.
F2 + МТЗ	3300, 1540, 1370, 1070, 1600	O–H/N–H, N–H bending, NO2, C–O/C–N, C=O	Повышенная интенсивность пиков подтверждает лучшую загрузку препарата.

Анализ структур полимеров и гидрогелей методом рентгеновской дифракции (XRD)

Структурные характеристики синтезированных полимеров и гидрогелей были исследованы с использованием анализа рентгеновской дифракции (XRD). Полученные дифракционные картины для отдельных компонентов ксантановой камеди (КК), поливинилового спирта (ПВС), а также для приготовленных гидрогелей, как с включением модельного препарата метронидазола, так и без него, показаны на рисунке 3.7.

Для чистого ПВС спектр XRD показал выраженные широкие дифракционные пики при значениях 2θ приблизительно 20° и 23°, которые соответствуют определенным кристаллическим плоскостям отражения, связанным с ПВС. Кроме того, более интенсивный пик, наблюдаемый около 40,58°, дополнительно подтверждает полукристаллическую природу ПВС. Эта структурная характеристика объясняется сильными межмолекулярными водородными связями между цепями ПВС, которые играют важную роль в поддержании частичной кристалличности в полимерной матрице [176–178]. Напротив, рентгенограмма чистого КК показала отчетливый пик при 2θ = 19,9°, что указывает на его преимущественно аморфную структуру. Наличие нескольких других острых дифракционных пиков в спектре КК приписывается кристаллическому хлориду натрия (NaCl), который может присутствовать в качестве остаточной примеси или побочного продукта кристаллизации [179].

При образовании композитных гидрогелей, включающих ПВС, Гли и КК, результаты рентгенодифракционного анализа показали, что включение КК не привело к значительному изменению полукристаллической структуры ПВС. Сохранение характерных пиков ПВС при 2θ = 20°, 23° и 40° во всех образцах гидрогеля (F1, F2, F1 + МТЗ и F2 + МТЗ) подтверждает, что кристаллические области ПВС сохраняются в процессе сшивания и в течение всего процесса образования гидрогеля. При этом сохранение характерных дифракционных максимумов ПВС не исключает образования межмолекулярных взаимодействий. Формирование сети гидрогеля происходит преимущественно за счет водородных связей между гидроксильными группами ПВС и глицерина, а также гидроксильными и карбоксильными группами ксантановой камеди, не приводя к образованию новых кристаллических фаз. Аналогично, наличие аморфного пика при 2θ = 19,9°, приписываемого КК, предполагает его успешное включение в матрицу гидрогеля без нарушения кристаллической структуры ПВС.

Примечательно, что в гидрогелиевых составах с лекарственным средством не было обнаружено отчетливых дифракционных пиков, соответствующих кристаллическому метронидазолу. Отсутствие данного эффекта свидетельствует о том, что активное вещество находится в аморфном состоянии либо в виде молекулярного дисперса в матрице гидрогелиевого носителя. Тогда растворимость активного вещества может оказаться выше и профиль высвобождения улучшится.

Полученные рентгенограммы наглядно показывают, что сетчатая структура на основе ПВС остается стабильной и подтверждают сохранение эффективности комбинирования ксантановой камеди с метронидазолом и успешность аморфного внедрения метронидазола в состав гидрогеля. Таким образом, результаты свидетельствуют об успешном формировании гидрогелей ПВС–Гли–КК, которые благодаря своим свойствам являются подходящими системами для доставки лекарственных средств.

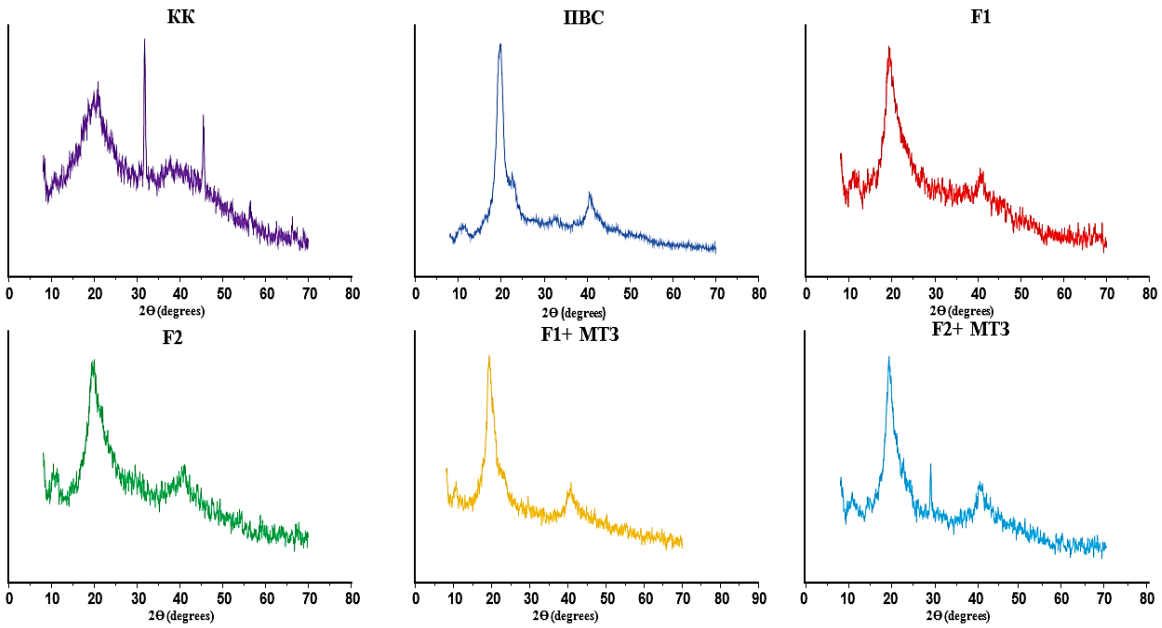


Рисунок 3.7 – Рентгеновская дифракция КК, ПВС, F1, F2, F1+ МТЗ и F2+ МТЗ

3.4. Термическая стабильность и термоаналитическая характеристика ПВС–Гли–КК гидрогелей

Для оценки термических свойств гидрогелей ПВС–Гли–КК (F1 и F2) были проведены термогравиметрический анализ (ТГА) и дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК). Образцы массой около 22 мг помещали в термостойкие тигли и нагревали до 400 °C. Полученные термограммы представлены на рисунке 3.8.

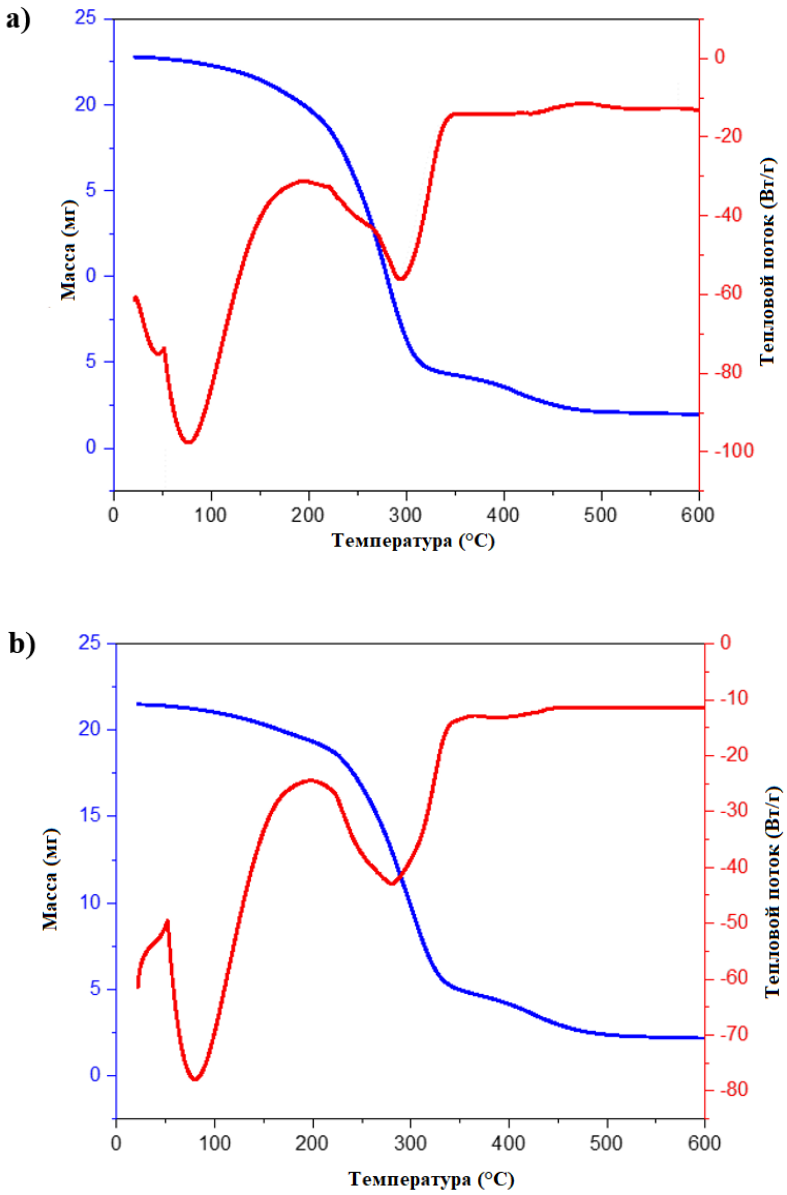


Рисунок 3.8 – Образцы термического анализа (ДСК и ТГА) a) F1 (ПВС-Гли- КК гидрогель) и b) F2 (ПВС–Гли–КК гидрогель)

Согласно результатам ТГА, для обоих образцов наблюдался многостадийный процесс термического разложения. Первая потеря массы происходила в интервале 100–250 °C. Вероятно, это связано с удалением связанной воды, а также с частичным разложением глицерина и дегидратацией сахаридных фрагментов ксантановой камеди. Дополнительный вклад в потерю массы вносит разрушение гидроксильных групп в структуре ПВС, глицерина и КК. Для образцов F1 и F2 наблюдался схожий характер термического поведения. Вероятно, это связано с достаточно равномерным распределением компонентов в объеме полимерной матрицы. В области температур ниже 100 °C существенных изменений массы не отмечалось, что говорит о стабильности гидрогелей при температурах, близких к физиологическим условиям. После 250 °C образцы еще сохраняли относительную устойчивость до начала интенсивной термической деструкции. По всей видимости, это обусловлено наличием водородных связей между ПВС, глицерином и ксантановой камедью. За счет таких межмолекулярных взаимодействий формируется более устойчивая структура гидрогеля.

ДСК-анализ проводили для оценки термического поведения гидрогелей F1 и F2. На полученных кривых было видно несколько термических переходов (рисунок 13). Это может быть связано с тем, что внутри гидрогелей присутствуют области с разной структурной организацией. На термограммах определялась температура стеклования Tg. В этой области увеличивается подвижность полимерных цепей, поэтому материал становится менее жестким. Для F1 и F2 наблюдалось несколько значений Tg. По-видимому, это связано с неоднородностью системы и особенностями взаимодействия между ПВС, глицерином и ксантановой камедью.

В частности, F1 показал два значения Tg в диапазонах 30–35 °C и 55–60 °C, в то время как F2 показал слегка повышенные диапазоны Tg 40–44 °C и 62–67 °C. Эти изменения, вероятно, связаны с различиями в плотности сшивки и степени водородных связей, в частности, под влиянием относительных концентраций КК и глицерина в матрице гидрогеля. Явление множественных температур стеклования хорошо документировано в полимерных системах с гетерогенными доменами или различными взаимодействиями полимер-полимер. Например, в гидрогелиевой системе p(NiPAm-HPMet), сшитой с этиленгликольдиметакрилатом (EGDM), наблюдалось похожее поведение, где различные значения Tg коррелируют с областями дифференциальной плотности сшивок и полимерного взаимодействия [180]. Более того, было установлено, что увеличение водородных связей или сшивок обычно приводит к сдвигу Tg в сторону более высоких температур из-за ограниченной молекулярной подвижности и повышенной жесткости сети [181]. Такое

поведение согласуется с нашими текущими наблюдениями, дополнительно подтверждая успешную интеграцию и взаимодействие компонентов гидрогеля.

По мере того, как температура продолжала расти, в обоих образцах появился широкий экзотермический пик примерно при 185 °C, что соответствует температуре кристаллизации (Tc). Этот переход отражает процесс, посредством которого ранее аморфные молекулярные сегменты начинают самоорганизовываться в более упорядоченную кристаллическую фазу. Экзотермическая природа пика указывает на то, что энергия высвобождается, когда молекулярные цепи выстраиваются и образуют кристаллические домены [182].

После кристаллизации на ДСК-кривых появлялись эндотермические пики. Наиболее интенсивный пик наблюдался примерно при 275 °C. Вероятно, он связан с плавлением более упорядоченных участков гидрогелиевой структуры. В этой температурной области происходит нарушение кристаллических доменов полимерной сетки. Результаты ДСК показывают, что исследуемые гидрогели имеют не полностью аморфное строение. В структуре одновременно присутствуют как аморфные, так и частично кристаллические области. Вероятно, формирование такой структуры связано с взаимодействиями между ПВС и ксантановой камедью внутри гидрогелиевой матрицы. Наличие более упорядоченных участков может положительно влиять на механическую устойчивость материала. При этом аморфные области сохраняют определенную подвижность полимерных цепей, что важно для процессов диффузии и набухания гидрогеля. Согласно результатам ТГА и ДСК, гидрогели ПВС–Гли–КК сохраняли стабильность примерно до 180 °C. Такие температуры превышают диапазон, используемый при стандартной термической стерилизации.

Показано, что гидрогели сохраняют устойчивость после термообработки, используемой при стерилизации. Полученные результаты также показывают, что изменение состава позволяет менять свойства системы. Поэтому такие гидрогели могут использоваться в системах доставки лекарственных веществ и в других биомедицинских материалах.

3.5. Механическая характеристика: анализ прочности на сжатие и твердости ПВС-Гли- КК гидрогелей

Для определения механических свойств и структурных параметров полученных гидрогелей выполнены испытания прочности на сжатие и твердости. Определение физической прочности полученного материала необходимо для применения в области биомедицинской инженерии, поскольку при использовании имплантата крайне важна его механическая прочность при физиологических условиях.

Анализ прочности на сжатие

Проведены испытания на сжатие в целях изучения механических свойств гидрогелей состава ПВС–Гли–КК (F1, F2) в условиях нагружения. На рисунке 3.9 приведены зависимости напряжение - деформация при сжатии для исследуемых составов. Зависимости имеют свойственный вязкоупругим материалам нелинейный вид. Выполнен математический анализ по графикам изменения напряжения сжатия в зависимости от деформирования образцов, полученная зависимость была описана экспонентой и показала отличный коэффициент детерминации (R^2>0,999) для обоих образцов. Такая хорошая аппроксимация говорит об упорядоченности процесса деформирования и достоверности полученных результатов.

Такой специфический график «напряжение-деформация» напрямую связан с тем, как устроена матрица нашего гидрогеля. По сути, это полукристаллическая сетка из ПВС и КК, где глицерин работает как пластификатор, а внутри удерживается очень много связанной и абсорбированной воды. Благодаря гибким звеньям в цепях ПВС и КК, гидрогель может легко менять свою молекулярную конфигурацию прямо во время сжатия. Именно эта подвижность молекул позволяет материалу выдерживать сильные деформации и не разрушаться сразу. А вот за вязкоупругие свойства упругость и рассеивание энергии при нагрузке отвечают аморфные участки, свободная вода и глицерин [183].

Примечательно, что сопоставление двух серий гидрогелей указало на обратную связь между их прочностью и количеством КК. В частности, образцы F1, где концентрация КК ниже, на всех этапах деформации выдерживали гораздо более высокое сжимающее напряжение по сравнению с F2. К примеру, при 90% сжатии этот показатель для F1 составил 0,1 МПа, тогда как у F2 он просел

до 0,065 МПа. Такое заметное падение механических свойств наглядно доказывает: если перешагнуть определенный порог по содержанию КК, это начнет портить несущую способность гидрогеля. В литературе данный эффект описан довольно подробно. Избыток КК обычно попросту ломает правильную полимерную сетку ПВС. Наш взгляд на механизм этого явления таков: огромная молекулярная масса и ветвистая структура КК создают сильное стерическое (пространственное) препятствие. Из-за этого цепи ПВС не могут нормально выстроиться и зацепиться друг за друга, что мешает формированию прочных водородных связей кристаллических зон. Плюс ко всему, когда КК становится слишком много, в гидрогеле начинается разделение фаз или коагуляция, что окончательно добивает механическую целостность материала. Эти результаты согласуются с более ранними данными, в которых также показано снижение прочности на сжатие гидрогелей на основе ПВС при чрезмерном включении полисахаридных добавок, таких как КК [184].

Испытание твердости

В дополнение к прочности на сжатие измерялась твердость гидрогелей для оценки их устойчивости к деформации поверхности под действием приложенной силы. Твердость в данном контексте определяется как максимальная сила, необходимая для возникновения постоянной деформации, и обеспечивает сравнительный показатель механической жесткости. Результаты этого анализа обобщены на рисунке 3.9 с.

Значения твердости для гидрогелей F1 и F2 составили 10 Н и 6,5 Н соответственно. Эта существенная разница снова подчеркивает влияние содержания КК на механическое поведение гидрогелиевой системы. Более низкая твердость, наблюдаемая в F2, может быть связана с его более высоким содержанием КК, что повышает гидрофильность гидрогеля. Повышенные гидрофильные взаимодействия приводят к большему поглощению воды, что, в свою очередь, смягчает матрицу гидрогеля. Кроме того, более высокая плотность гидроксильных групп, связанных с КК, способствует образованию обширных водородных связей с молекулами воды. Это способствует повышению пластификации и молекулярной подвижности в сети, что делает гидрогель более гибким и более поддающимся деформации.

Подобные результаты наглядно иллюстрируют извечный компромисс при проектировании таких биоматериалов: с одной стороны, добавление КК повышает эластичность, способность впитывать влагу и скорость выхода лекарственного вещества, но с другой неизбежно бьет по

жесткости и стойкости к деформации. Именно поэтому прочностные свойства гидрогелей приходится очень тонко настраивать, подбирая баланс под конкретную задачу будь то направленный транспорт препаратов, создание раневых покрытий или конструирование скаффолдов для тканевой инженерии. Если подводить итог механическим тестам, становится очевидно, что предел прочности на сжатие и твердость систем ПВС–Гли–КК напрямую завязаны на то, сколько именно КК введено в полимерную матрицу. Когда КК мало, кристаллическая структура ПВС почти не страдает от дефектов, а межцепные связи формируются без помех, что и обеспечивает высокую механическую целостность. И напротив, избыток КК приводит к падению твердости и прочности, поскольку материал начинает слишком сильно разбухать от воды и становится избыточно податливым, а громоздкие цепи КК попросту блокируют контакты между молекулами ПВС. В конечном счете наши данные еще раз доказывают, как важно грамотно оптимизировать дозировки компонентов, чтобы поймать идеальное соотношение между прочностью и гибкостью для нужд биомедицины.

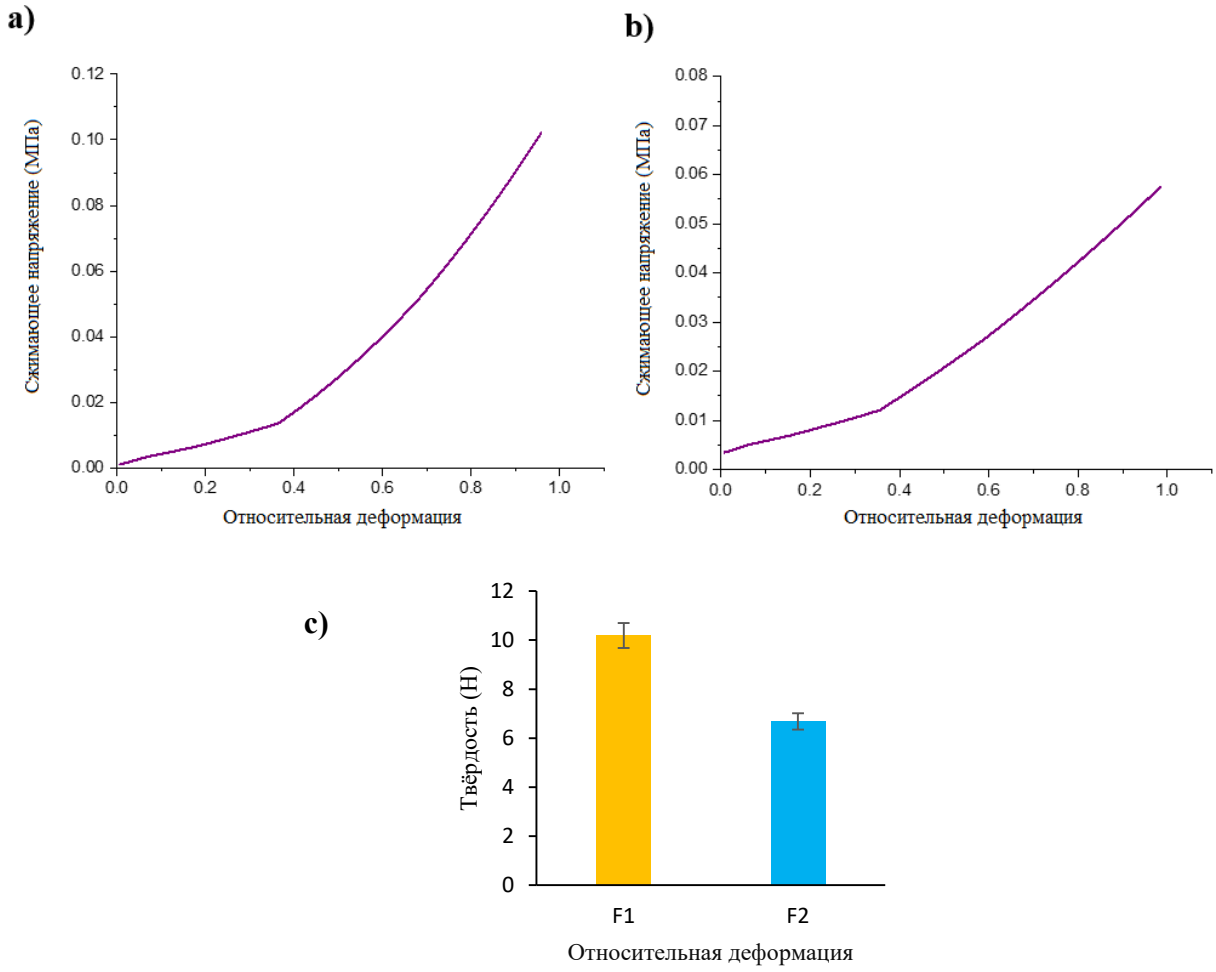


Рисунок 3.9 – Механические свойства a) при сжатии образцов гидрогеля F1, b) при сжатии образцов гидрогеля F2 и c) твердость F1 и F2

3.6. Набухание ПВС–Гли–КК гидрогелей

Изучение особенностей набухания гидрогелей во многом определяет то, насколько эффективными они окажутся в реальных биомедицинских и фармацевтических задачах. Способность матрицы удерживать влагу не просто влияет на ее механическую устойчивость, но и напрямую управляет скоростью выхода лекарственных веществ, диффузионными процессами и тем, как материал будет приживаться в окружающих биологических тканях. Детальный анализ таких параметров позволяет целенаправленно проектировать гидрогелиевые системы под конкретные нужды, будь то адресная доставка препаратов, создание скаффолдов для регенерации тканей или разработка эффективных раневых покрытий [185].

На рисунке 3.10a наглядно представлены профили набухания двух серий полученных образцов (F1 и F2) в деионизированной воде при варьировании температуры в диапазоне от 20 °C до 60 °C. Опытные данные указывают на выраженную положительную корреляцию: с ростом температуры гидрофильность обеих систем заметно увеличивается. Подобный тренд вполне закономерен и объясняется термочувствительной природой полимерных гидрогелей. Приток тепловой энергии попросту ослабляет внутри и межмолекулярные контакты между цепями, заставляя полимерную сетку расправляться, что открывает свободный доступ для проникновения дополнительного объема молекул воды.

Интересно отметить, что максимум по коэффициенту набухания для F1 достигается в температурном интервале 40-50 C°, а у F2 в интервале 50-60 C°. Перемещение максимума набухания в гидрогели F2 в сторону более высокой температуры указывает на хорошую термостойкость этого гидрогеля, вероятно обусловленную большим содержанием ксантановой камеди (КК) в нем. КК за счет жесткой полисахаридной основы, большой молекулярной массы увеличивает плотность сшивок и влаг удерживающие свойства гидрогеля. Устойчивость F2 к более высокой температуре говорит о том, что матрица структуры не разрушается и достаточно устойчива при нагревании до высоких температур. Это говорит о том, что её можно использовать там где будет высокая температура окружающей среды при перемещении препарата например, лекарства по организму человека или стерилизация препаратов.

Повышенный уровень содержания КК в F2 обусловливает увеличение степени набухания относительно F1. Это высокогидрофильный полисахарид, который может создавать разветвленную сеть водородных связей с водой. Он имеет также отличные пленкообразующие и гелеобразующие свойства, укрепляя тем самым полимерную сетку и удерживая воду. Такие условия создают более плотную и сшитую сеть гидрогеля в образце F2, которая может удерживать больше жидкости и разбухать сильнее по сравнению с F1. Данный феномен иллюстрирует роль полимерной композиции при формировании свойств набухания, а также демонстрирует потенциал точной настройки физико-химических характеристик гидрогеля через вариацию соотношения ПВС и КК.

Рисунок 3.10b показывает поведение набухания обоих гидрогелей в условиях изменяющегося pH. Интересно, что экспериментальные результаты показывают, что изменения pH среды от кислого до нейтрального и основного оказывают минимальное влияние на способность набухания обоих образцов. При всех уровнях pH F2 последовательно демонстрирует более высокий коэффициент

набухания, чем F1, что подтверждает роль КК в повышении гидрофильности и чувствительности к набуханию. Небольшое влияние значения pH говорит о том, что образцы гидрогеля обладают хорошей устойчивостью по отношению к значению pH. Данный параметр является крайне важным для применения в биомедицине, тем более при разработке систем доставки лекарственных веществ, которые должны сохранять свою работоспособность в широком диапазоне pH человеческого организма (кислый – желудочный сок или близкий к нейтральному — кровь, ткани). Добавление КК, обладающего широкой толерантностью к pH и высокой химической стабильностью также способствует этому фактору. КК обладает карбоксильными и гидроксильными функциональными группами с постоянной способностью к образованию водородных связей и сетей при различных значениях pH. Помимо этого, хорошая смешиваемость ПВС и КК позволяет получить стабильную взаимопроникающую полимерную сеть и тем самым сохранить структурную устойчивость и набухаемость даже в условиях стресса pH.

Ранее полученные данные также подтверждаются Чжаном и др. [184], которые обнаружили рост способности к набуханию при увеличении количества КК в гидрогелях ПВС за счет более высокой гидрофильности КК по отношению к ПВС. Высокая гидрофильность КК позволяет существенно улучшить удержание воды, а совместимость КК с ПВС обеспечивает формирование когезионной матрицы для сохранения структуры и функции в разнородных условиях.

Демонстрация способности таких гидрогелей к управляемому и стабильному набуханию при различных температурах и значениях pH свидетельствует о структурной надежности гидрогелей, что в свою очередь усиливает возможности их использования для адресной доставки лекарственных средств с сохранением стабильности в физиологической среде. Кроме того, термочувствительности и устойчивость к pH позволяют использовать такие гидрогели в качестве носителей с продолжительным действием in situ – например, в виде матриц для тканевой инженерии, при которых крайне важно поддержание уровня гидратации и механической устойчивости.

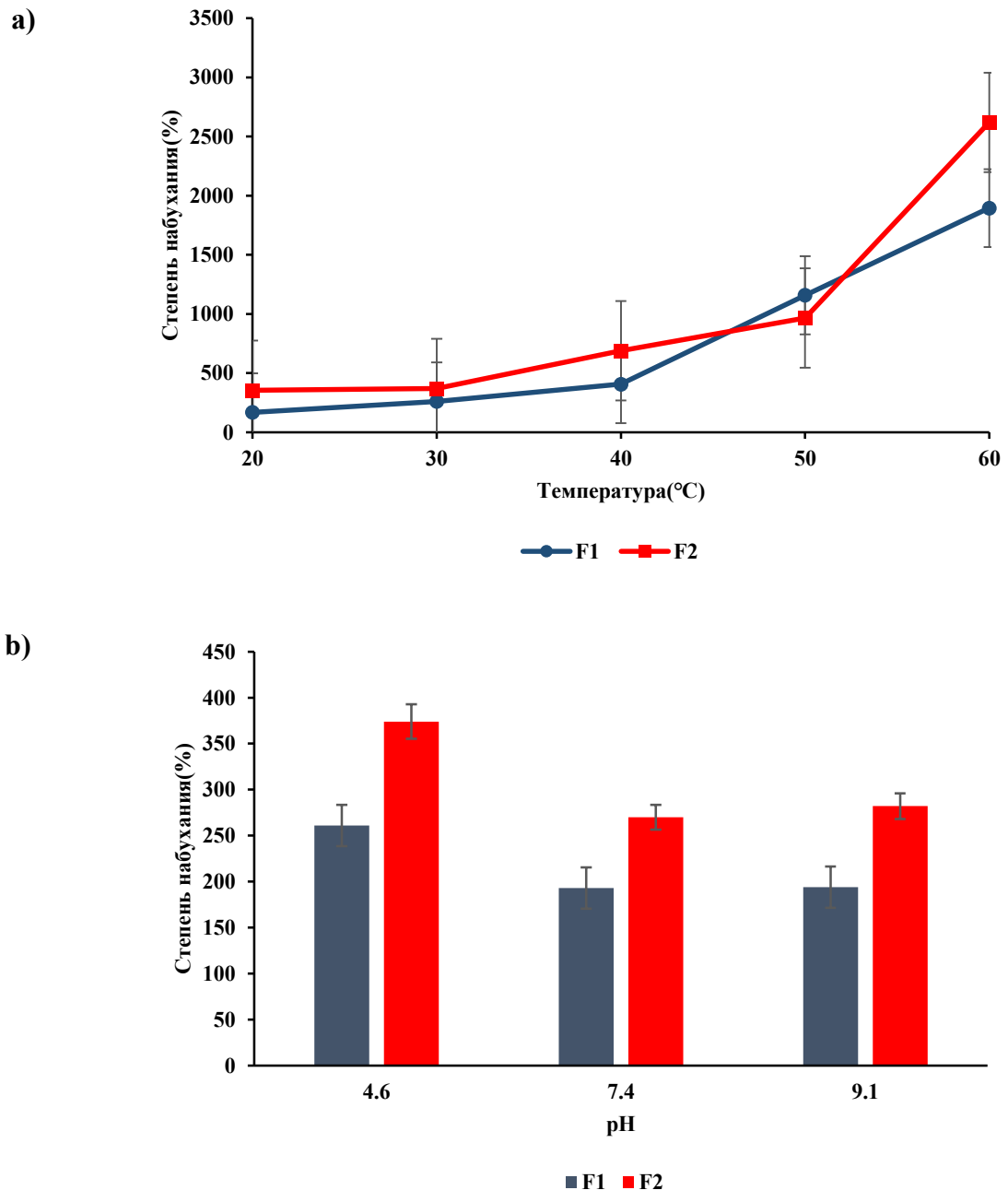


Рисунок 3.10 – Профили набухания ПВС–Гли–КК гидрогелей (F1 и F2) при а) различных температурах б) в буферных растворах (pH 4,6, 7,4, 9,1)

3.7. Характеристики загрузки и высвобождения метронидазола гидрогелями

В первую очередь это исследование было направлено на оценку возможности использования гидрогелей в качестве систем доставки лекарств для контролируемого и пролонгированного высвобождения метронидазола (МТЗ), противомикробного средства, широко используемого для лечения анаэробных инфекций. Для изучения возможностей загрузки лекарств в гидрогелиевые составы использовался метод набухания-диффузии. В этом методе образцы гидрогеля (составы F1 и F2) погружали в 1% (мас./об.) водные растворы метронидазола при температуре окружающей среды и оставляли набухать на 24 часа. Этот период замачивания способствовал поглощению лекарства в матрицу гидрогеля, что в первую очередь регулировалось диффузией и расширением полимерной сети.

Одним из ключевых оцениваемых параметров была способность загрузки лекарства (DL), которая количественно определяет степень, в которой матрица гидрогеля может включать терапевтические средства из окружающего раствора. Как подробно описано в таблице 3.3, состав F2 продемонстрировал значительно более высокую эффективность загрузки по сравнению с F1. Это улучшение объясняется повышенной концентрацией ксантановой камеди (КК) в F2, которая придает большую пористость и гидрофильность сетке гидрогеля. Более высокая пористость обеспечивает более эффективное набухание, тем самым позволяя абсорбировать больший объем раствора лекарственного средства. Этот результат согласуется с выводами, полученными Араужо и др. [136], которые продемонстрировали сильную корреляцию между способностью гидрогеля к набуханию и эффективностью поглощения лекарственного средства, что позволяет предположить, что как взаимодействие полимера с лекарственным средством, так и архитектура сети играют ключевую роль в инкорпорации лекарственного средства. Для изучения поведения высвобождения, зависящего от температуры, гидрогели, нагруженные метронидазолом, инкубировали в фосфатно-солевом буфере (PBS, pH 7,4) при различных температурах (20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C и 60 °C). Кумулятивные профили высвобождения препарата за 10-часовой период показаны на рисунке 3.11.

При более низких температурах (20 °C и 30 °C) высвобождение препарата было минимальным, только ~10% и ~13% препарата высвобождалось из F1+ МТЗ и F2+ МТЗ соответственно. При повышении температуры до 40 °C скорости высвобождения заметно возрастали (~35% для F1 и ~40% для F2), что указывает на поведение гидрогелиевых матриц, чувствительное к температуре. Резкое увеличение высвобождения наблюдалось при 50 °C и 60 °C,

при этом F2+ МТЗ высвобождал до 98% своего лекарственного содержимого в течение 10 часов по сравнению с 95% для F1+ МТЗ - что позволяет предположить, что как термически вызванное набухание, так и релаксация полимера существенно облегчают диффузию лекарственного средства при повышенных температурах.

Такое поведение можно объяснить термочувствительными свойствами набухания гидрогелиевой системы ПВС–Гли–КК. При более высоких температурах полимерные цепи становятся более подвижными, что приводит к увеличению расширения матрицы, увеличению размера пор и снижению диффузионного сопротивления, тем самым способствуя быстрому высвобождению лекарственного средства. Улучшенное высвобождение из F2, вероятно, связано с его более высоким содержанием ксантановой камеди, что способствует более пористой и гидрофильной структуре, улучшая как поглощение лекарственного средства, так и его последующее высвобождение.

Несколько физико-химических и структурных параметров управляют кинетикой высвобождения лекарств из гидрогелей in vitro, в том числе [186]:

- Способность диффузии лекарства через набухшую матрицу.
- Скорость эрозии или деградации полимерной матрицы.
- Кинетика набухания и поглощение воды.
- Динамика релаксации полимерной цепи.
- Взаимодействия лекарство-полимер (например, водородные связи или физическое задержание).

Кроме того, была оценена чувствительность гидрогелиевых составов к pH для оценки их потенциала высвобождения лекарств в зависимости от pH. На рисунке 3.12 показан профиль высвобождения лекарств при различных уровнях pH, показывающий, что только ~12% метронидазола высвобождалось в течение 10 часов, с незначительными различиями между образцами. Это подтверждает, что гидрогелиевая система демонстрирует преимущественно pH-нечувствительное поведение высвобождения, подразумевая, что ионные взаимодействия между матрицей и лекарственным средством минимальны во всем протестированном диапазоне pH. Сравнительный анализ образец показал, что концентрация ксантановой камеди значительно повлияла на способность к набуханию и, как следствие, на поведение высвобождения лекарственного средства. В частности, образец F2, характеризующаяся более высоким содержанием

КК, продемонстрировала превосходное поведение набухания и эффективность высвобождения лекарственного средства. Это, вероятно, связано с повышенной степенью гидратации полимера, большим размером ячеек и повышенной молекулярной подвижностью, которые в совокупности облегчают растворение лекарственного средства и диффузию в среду высвобождения.

Таблица 3.3 – Концентрация лекарственного средства в загрузочном растворе и процент загрузки лекарственного средства в гидрогелях

образцы	**Загрузочный раствор (мас.%)**	**Нагрузка препарата (%)**
F1	1%	2.62%
F2	1%	3.35%

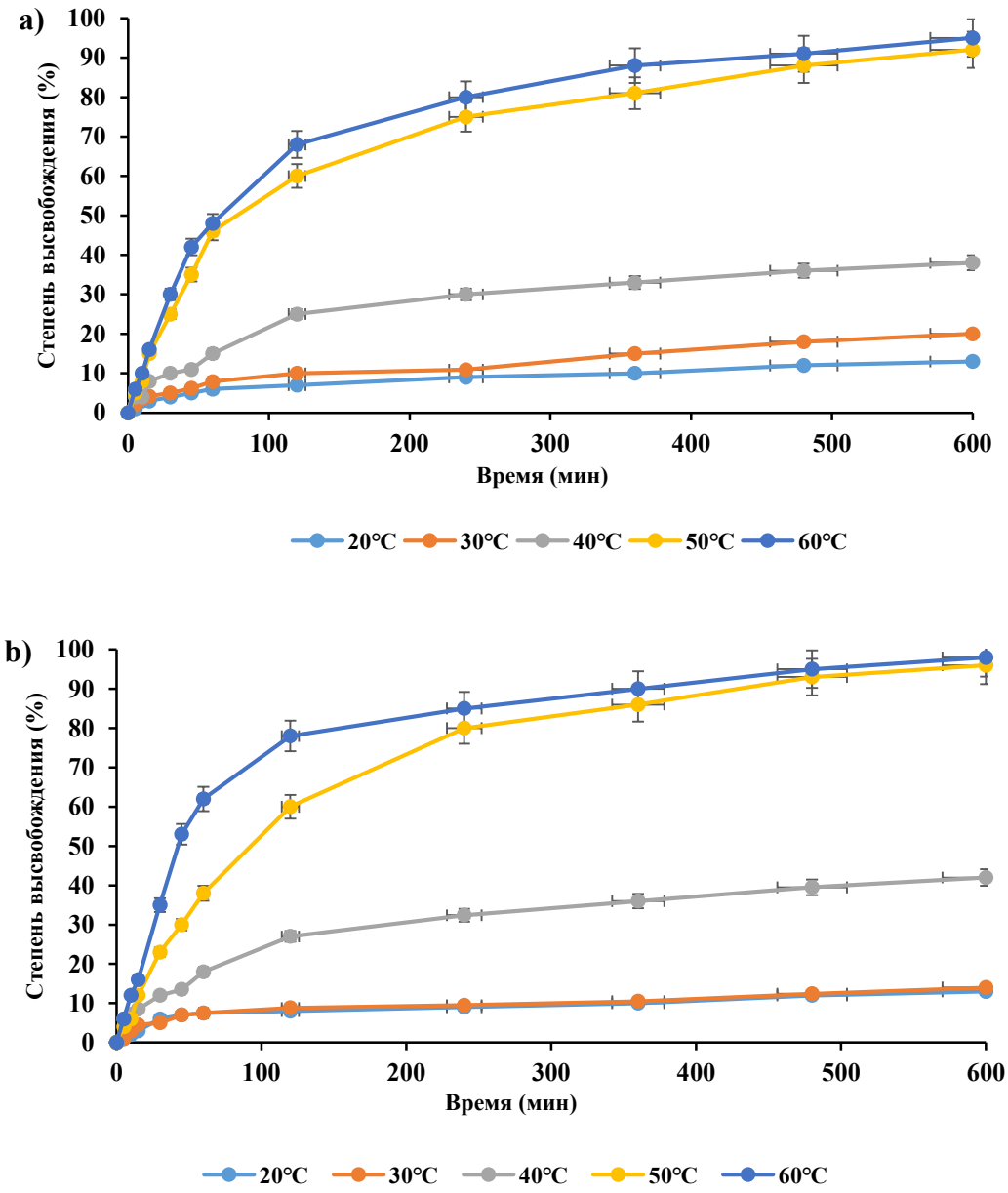


Рисунок 3.11 – Профили высвобождения в зависимости от температуры от a) F1+ МТЗ и b) F2+ МТЗ при 20, 30, 40, 50 и 60°C

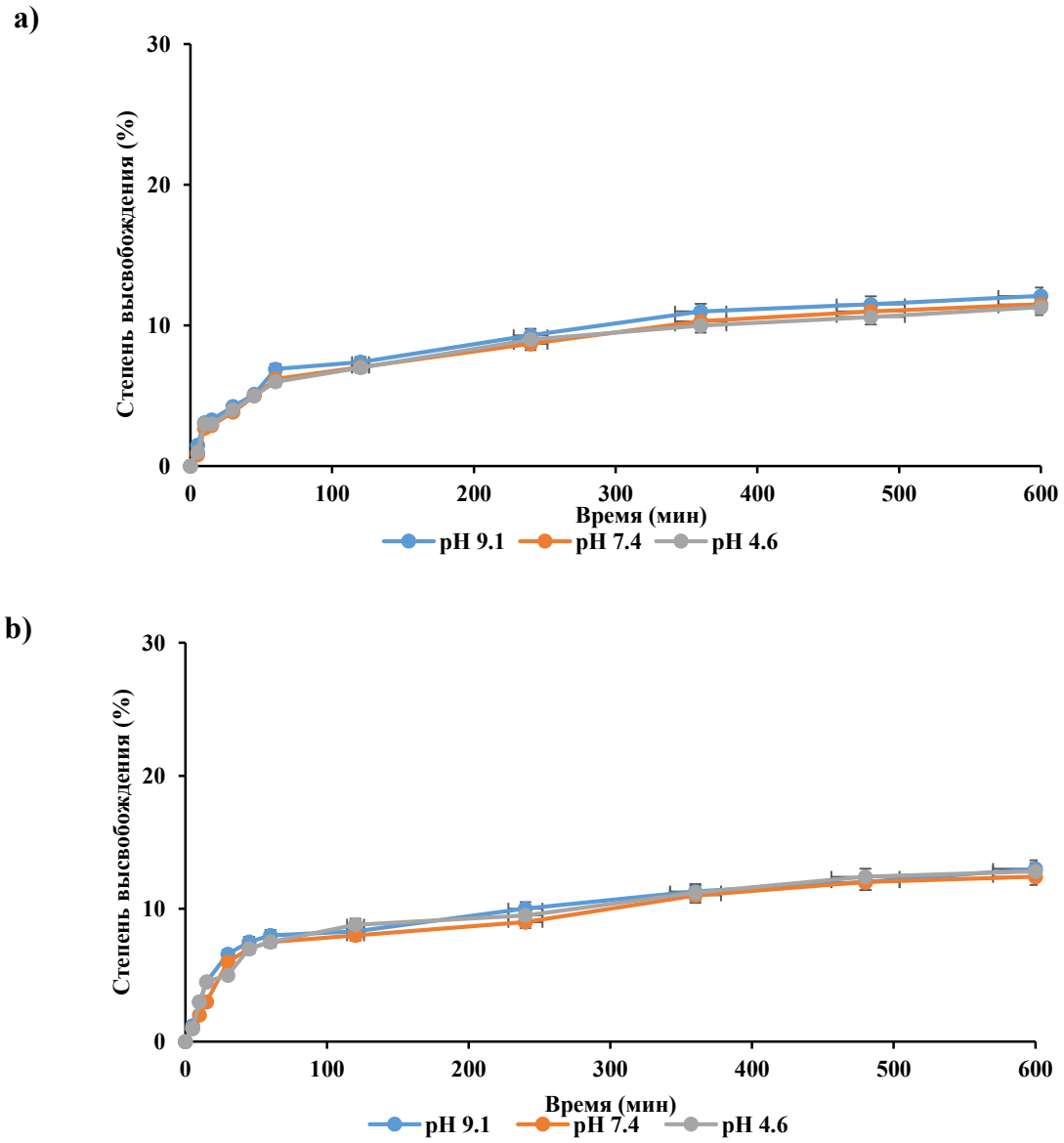


Рисунок 3.12 – Паттерны высвобождения при pH 9,1, 7,4 и 4,6 из a) F1+ МТЗ и b) F2+ МТЗ при комнатной температуре

3.8. Механизм и кинетика высвобождения лекарственного препарата из ПВС–Гли–КК гидрогелиевых матриц

На кинетику высвобождения МТЗ из гидрогелиевых матриц in vitro влияют несколько механизмов, включая диффузию Фика, высвобождение, опосредованное набуханием, релаксацию полимерной цепи и эрозию матрицы. Наблюдаемые профили высвобождения, зависящие от температуры, предполагают сочетание диффузии Фика и аномальных (нефиковских) механизмов транспорта. По мере повышения температуры вклад набухания и релаксации цепи становится более значительным [187]. Будущее моделирование с использованием кинетических уравнений, таких как нулевого порядка, первого порядка, Хигучи и Корсмейера-Пеппаса, может помочь выяснить доминирующие механизмы транспорта в различных условиях [188]. Линейные зависимости, соответствующие данным моделям, представлены на рисунках 3.13 и 3.14, а рассчитанные кинетические параметры и коэффициенты детерминации приведены в таблицах 3.4 и 3.5.

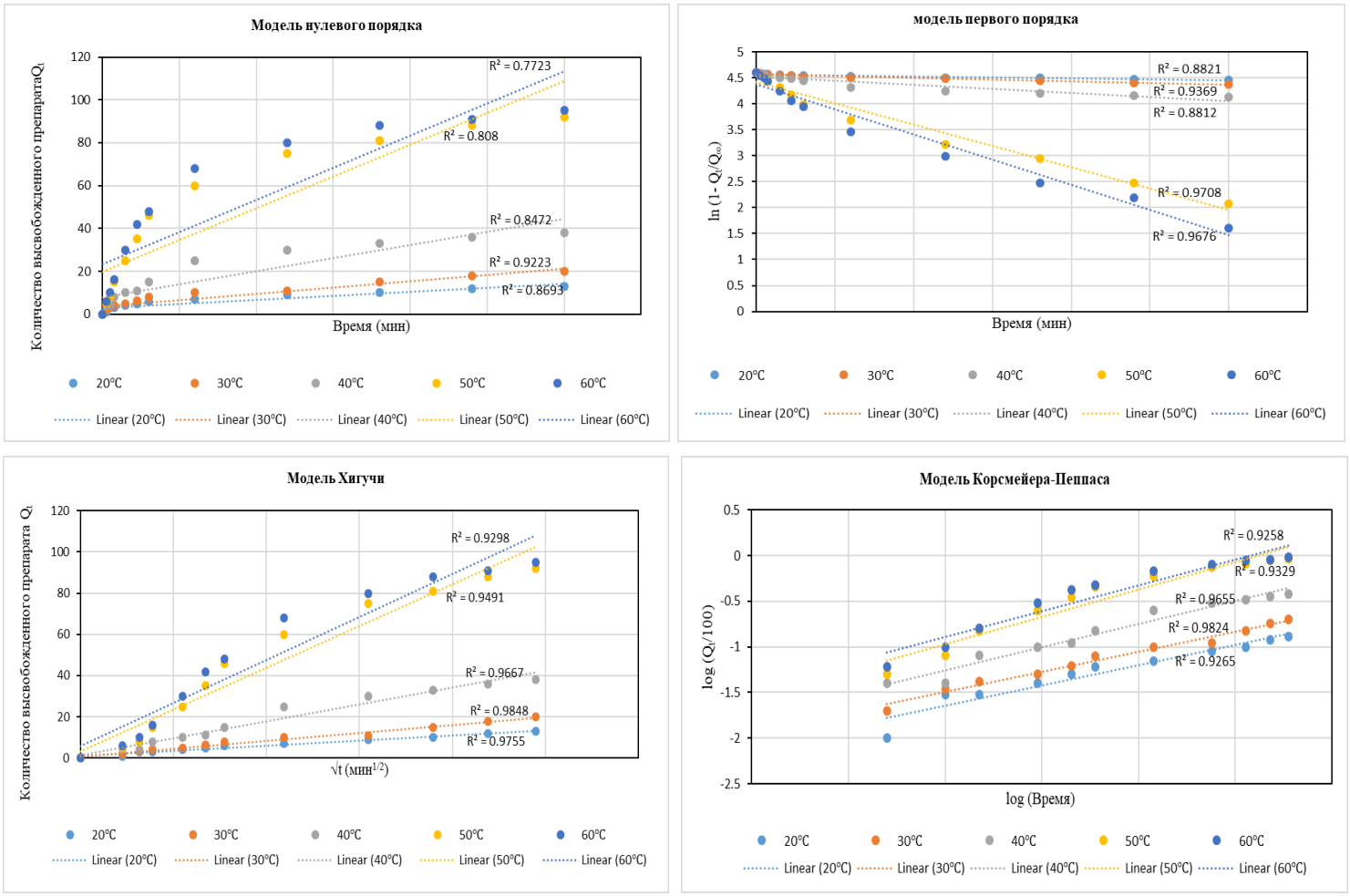


Рисунок 3.13 – Кинетические диаграммы образцов F1+МТЗ

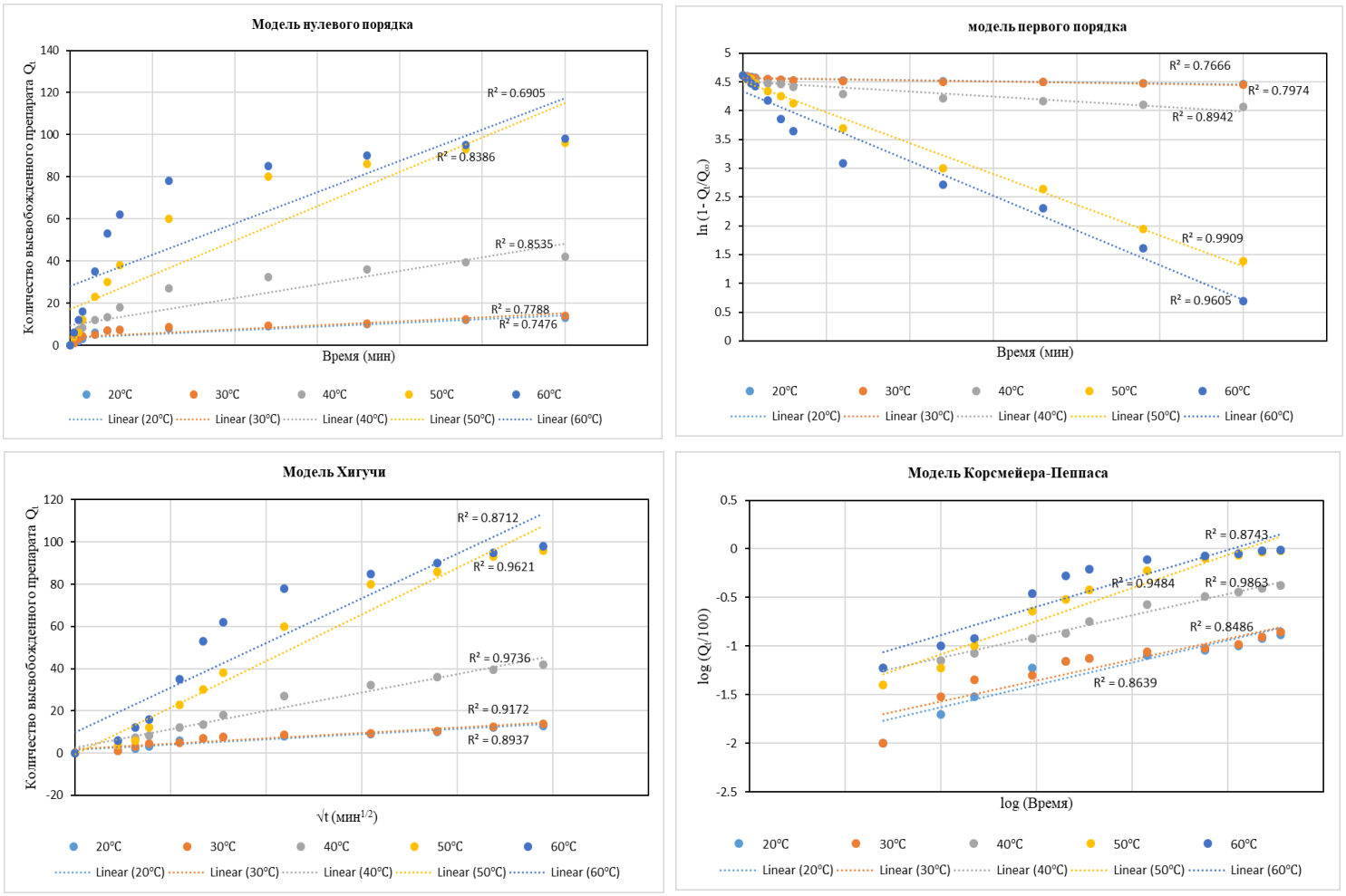


Рисунок 3.14 – кинетические диаграммы образцов F2+МТЗ

Таблица 3.4 – Кинетические параметры высвобождения метронидазола из гидрогеля F1+ МТЗ при различных температурах

R^2 Модель Корсмейера-Пеппаса	**n**	**k_{KP}**	**R^2 Модель Хигучи**	**K_H**	**R^2 модель первого порядка**	**K_1**	**R^2 Модель нулевого порядка**	**K_0**	**T**
0.927	0.446	0.00811	0.975	0.505	0.882	0.000204	0.869	0.0188	20 ℃
0.982	0.440	0.01160	0.985	0.770	0.936	0.000331	0.922	0.0294	30 ℃
0.965	0.506	0.01721	0.967	1.643	0.881	0.000782	0.847	0.0608	40 ℃
0.933	0.596	0.02723	0.949	4.05	0.971	0.00412	0.808	0.1476	50 ℃
0.926	0.565	0.03467	0.930	4.18	0.968	0.00487	0.772	0.1504	60 ℃

Таблица 3.5 – Кинетические параметры высвобождения метронидазола из гидрогеля F2+ МТЗ при различных температурах

R^2 Модель Корсмейера-Пеппаса	**n**	**k_{KP}**	**R^2 Модель Хигучи**	**K_H**	**R^2 модель первого порядка**	**K_1**	**R^2 Модель нулевого порядка**	**K_0**	**T**
0.864	0.458	0.0177	0.894	0.490	0.766	0.000191	0.748	0.0177	20 ℃
0.85	0.427	0.0186	0.917	0.510	0.797	0.000202	0.779	0.0186	30 ℃
0.986	0.436	0.0645	0.974	1.744	0.894	0.000861	0.853	0.0645	40 ℃
0.948	0.671	0.163	0.962	4.417	0.991	0.00535	0.839	0.1629	50 ℃
0.874	0.554	0.149	0.871	4.229	0.961	0.00604	0.690	0.1487	60 ℃

Модель нулевого порядка описывается уравнением:

$$M_t=M_0+k_0t$$

Кинетическая модель первого порядка выражается уравнением:

$$\ln (1- M_t/M_\infty) = -k_1t$$

Для описания диффузионного высвобождения использовали модель Хигучи:

$$M_t/M_\infty = k_Ht^{1/2}$$

Для дополнительной характеристики механизма высвобождения применяли модель Корсмейера–Пеппаса:

$$\log (M_t / M_\infty) = \log k_{KP} + n \log t$$

Сравнение значений R^2 показывает, что степень соответствия различных моделей экспериментальным данным зависит от температуры и состава гидрогеля. Для гидрогеля F1+МТЗ при 20 °С наиболее высокое значение R^2 получено для модели Хигучи (0,975), тогда как для моделей Корсмейера–Пеппаса, первого и нулевого порядка значения составили 0,927, 0,882 и 0,869 соответственно. При 30 °С модель Хигучи также демонстрировала несколько более высокое соответствие экспериментальным данным (R^2=0,985) по сравнению с моделью Корсмейера–Пеппаса (R^2=0,982); для моделей первого и нулевого порядка значения составили 0,936 и 0,922 соответственно. При 40 °С различие между моделями Хигучи и Корсмейера–Пеппаса оставалось минимальным: (R^2) составило 0,967 и 0,965 соответственно, тогда как для моделей первого и нулевого порядка оно составило 0,881 и 0,847.

При повышении температуры до 50 °С для F1+МТЗ максимальное значение R^2 наблюдалось для модели первого порядка (0,971). Для моделей Хигучи и Корсмейера–Пеппаса значения составили 0,949 и 0,933 соответственно, тогда как для модели нулевого порядка 0,808. При 60 °С аналогичная тенденция сохранялась: модель первого порядка имела наиболее высокое значение R^2 (0,968), за ней следовали модели Хигучи (0,930) и Корсмейера–Пеппаса (0,926), тогда как для модели нулевого порядка значение составило 0,772. Таким образом, для F1+МТЗ при 20–40 °С наиболее высокое соответствие в основном демонстрировала модель Хигучи, а при 50–60 °С модель первого

порядка. При этом модель Корсмейера–Пеппаса сохраняла высокие значения R^2, особенно при 30–40 °C, что указывает на ее пригодность для дальнейшей характеристики механизма высвобождения.

Для гидрогеля F2+МТЗ при 20 °C наиболее высокое значение R^2 также наблюдалось для модели Хигучи (0,894), тогда как для модели Корсмейера–Пеппаса оно составляло 0,864. Значения R^2 для моделей первого и нулевого порядка составили 0,748 и 0,766 соответственно. При 30 °C модель Хигучи сохраняла преимущество (R^2=0,917), тогда как для модели Корсмейера–Пеппаса значение составило 0,850; модели первого и нулевого порядка характеризовались значениями 0,797 и 0,779 соответственно.

При 40 °C для F2+МТЗ наблюдалось наиболее высокое соответствие модели Корсмейера–Пеппаса: (R^2=0,986\), по сравнению с 0,974 для модели Хигучи, 0,894 для модели первого порядка и 0,853 для модели нулевого порядка. При 50 °C наиболее высокое значение R^2 соответствовало модели первого порядка (0,991), тогда как для моделей Хигучи и Корсмейера–Пеппаса значения составили 0,962 и 0,948 соответственно. При 60 °C модель первого порядка также имела максимальное значение R^2 (0,961), в то время как для моделей Корсмейера–Пеппаса и Хигучи значения составили 0,874 и 0,871 соответственно.

Сравнение двух гидрогелиевых составов показывает, что увеличение содержания ксантановой камеди в F2 сопровождается изменением кинетических характеристик высвобождения метронидазола. Для F1+МТЗ значение k_{KP} увеличивалось от 0,00811 при 20 °C до 0,03467 при 60 °C. Для F2+МТЗ значение k_{KP} составляло 0,0177 при 20 °C, 0,0186 при 30 °C, 0,0645 при 40 °C и достигало 0,163 при 50 °C, после чего при 60 °C несколько снижалось до 0,149. Таким образом, при повышении температуры кинетическая константа модели Корсмейера–Пеппаса в целом возрастала, причем изменение было более выраженным для F2+МТЗ.

Полученные результаты также согласуются с данными по набуханию гидрогелей. F2 содержит большее количество ксантановой камеди, что сопровождается более высокой степенью набухания и может способствовать изменению условий транспорта метронидазола внутри полимерной матрицы. При этом особенно заметное различие в k_{KP} между двумя составами наблюдается при 40–60 °C, что указывает на более выраженную температурную зависимость кинетики высвобождения для F2.

В целом сравнительный анализ показывает, что ни одна из четырех моделей не обеспечивает максимального значения R^2 для всех исследованных температур и обоих составов. Модель Хигучи

преимущественно характеризует экспериментальные данные при более низких температурах, тогда как модель первого порядка демонстрирует более высокое соответствие при повышенных температурах. Модель Корсмейера–Пеппаса показывает сопоставимо высокие значения R^2 в ряде условий и, в частности, обеспечивает наилучшее соответствие для F2+МТЗ при 40 °C (R^2 =0,986). В отличие от моделей нулевого порядка, первого порядка и Хигучи, которые преимущественно характеризуют математическую зависимость скорости или степени высвобождения от времени, модель Корсмейера–Пеппаса дополнительно позволяет оценивать характер транспорта лекарственного вещества посредством параметров k_{KP} и n. Поэтому именно модель Корсмейера–Пеппаса целесообразно использовать как основную модель для интерпретации механизма высвобождения метронидазола из исследуемых ПВС–Гли–КК гидрогелиевых матриц, сохраняя модели Хигучи, первого и нулевого порядка в качестве сравнительных моделей.

3.9. Оценка антимикробной активности

Антибактериальная эффективность гидрогелиевых составов, содержащих метронидазол (F1+MET и F2+MET), была исследована против двух репрезентативных штаммов бактерий: Bacteroides fragilis (облигатный анаэроб) и Escherichia coli (факультативный анаэроб). Зоны ингибирования, выраженные в диаметрах в миллиметрах (мм), обобщены в Таблице 3.6.

Таблице 3.6 – диаметр зоны ингибирования (в мм) исследуемых образцов в отношении бактерий

Бактерии Диаметр зоны ингибирования	Escherichia coli	Bacteroides fragilis
F1+MET Гидрогелиевый диск (мм)	Зона ингибирования отсутствует	8.2
F2+MET Гидрогелиевый диск (мм)	Зона ингибирования отсутствует	9

Результаты показывают, что гидрогелиевые составы, содержащие метронидазол, проявили выраженную антибактериальную активность против B. fragilis, о чем свидетельствует наличие четко определенных зон ингибирования, окружающих гидрогелиевые диски. Напротив, не было обнаружено значительного антибактериального эффекта против E. coli, с незначительными или

отсутствующими зонами ингибирования. Это наблюдение согласуется с фармакологическим профилем метронидазола, который хорошо документирован своим селективным бактерицидным действием против облигатных анаэробов, таких как B. fragilis, но проявляет минимальную или нулевую эффективность против аэробных или факультативно анаэробных грамотрицательных бактерий, таких как E. coli [189, 190]. Среди протестированных гидрогелиевых, образец F2+ МТЗ продемонстрировала самую высокую антибактериальную активность против B. fragilis, создав самую большую зону ингибирования. Напротив, образец F1+ МТЗ продемонстрировала меньшую зону, что указывает на сравнительно более низкую антимикробную активность.

Эта разница в эффективности, вероятно, объясняется более высокой эффективностью загрузки метронидазола в гидрогель F2+ МТЗ, достигнутой с помощью техники диффузионной загрузки, в сочетании с его превосходной способностью к набуханию. Повышенное набухание F2+ МТЗ способствует большему высвобождению лекарственного средства из матрицы гидрогеля, тем самым увеличивая локальную концентрацию антимикробного агента в месте воздействия бактерий.

Эти результаты в совокупности подтверждают, что метронидазол сохраняет свою биоактивность при включении в гидрогелиевую матрицу и может эффективно высвобождаться в окружающую среду. Наличие четких ингибирующих зон дополнительно подтверждает способность гидрогелиевой системы доставлять метронидазол в биологически активной форме, особенно против анаэробных бактериальных патогенов. Это подтверждает потенциальную полезность этих гидрогелей в качестве локализованных систем доставки для лечения инфекций, преимущественно вызванных анаэробными бактериями.

ГЛАВА 4. Физико-химические свойства тонкопленочного гидрогелиевого композита желатин-глицерин

4.1. Изготовление тонких пленок из композита желатин/глицерин

В этом эксперименте пленки получали методом литья полимерных растворов (6 мл), содержащих различные концентрации желатина (жел) (3, 6, 9, 12, 16, 24%) и глицерина (гли) (2, 4, 6, 8, 10%). Для этого жел и гли растворяли в дистиллированной воде и 2%-ном растворе лимонной кислоты при 60 °C при слабом магнитном перемешивании в течение 2 часов, чтобы избежать образования пузырьков воздуха. Затем все смеси разливали в чашки Петри и сушили при комнатной температуре в течение последующих 24 часов. Таким образом, была получена серия полимерных тонких пленок. На рисунке 4.1 показаны этапы изготовления тонкой пленки из желатина и глицерина.



Рисунок 4.1 – Схема получения тонких пленок желатин/глицерин

При добавлении пластификатора к растворам жел он может ослабить межмолекулярные силы между длинными цепочками молекул жел. Это происходит потому, что пластификатор способен образовывать водородные связи с полимером, делая его более гибким и менее жестким [191]. Рисунок 4.2, показывает схематическое изображение межмолекулярных водородных связей в системе желатин–глицерин.

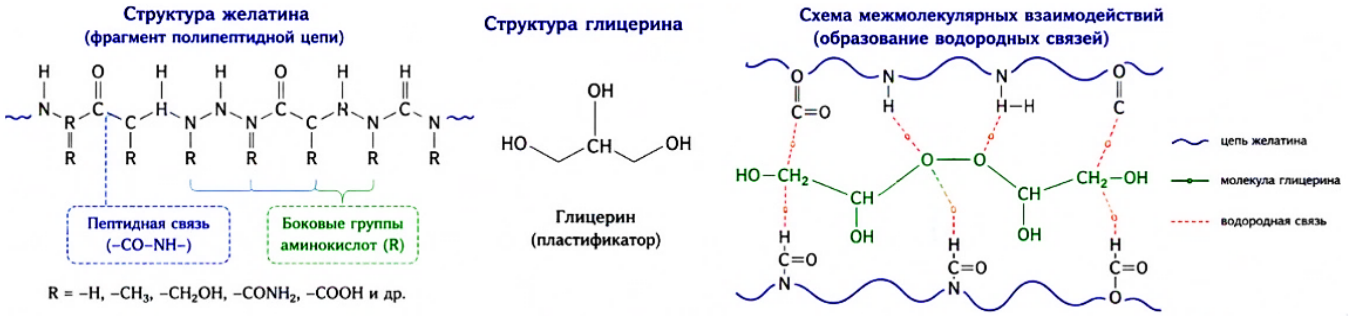


Рисунок 4.2 – Схематическое изображение межмолекулярных водородных связей в системе желатин–глицерин

На рисунке 4.3 показано, что средняя толщина композитных пленок жел/ гли увеличивается с увеличением гли и процентного содержания жел, причем жел играет большую роль в увеличении толщины. Наименьшая и наибольшая толщина соответствуют жел 3% (гли 0%, 43 мкм) и жел 24% (гли 10%, 807 мкм) соответственно.

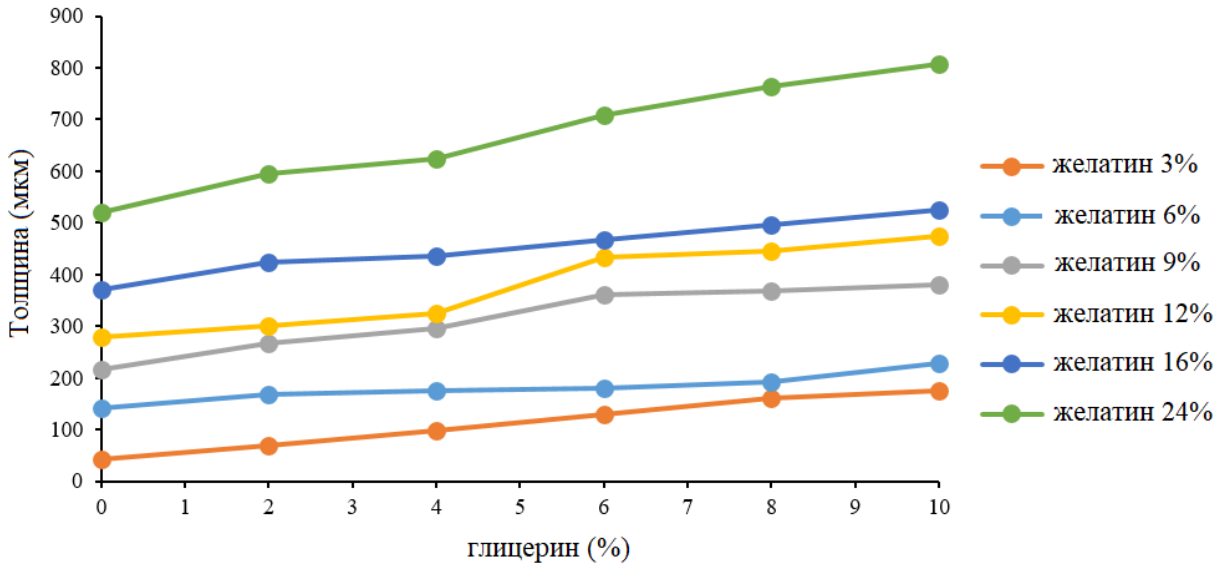
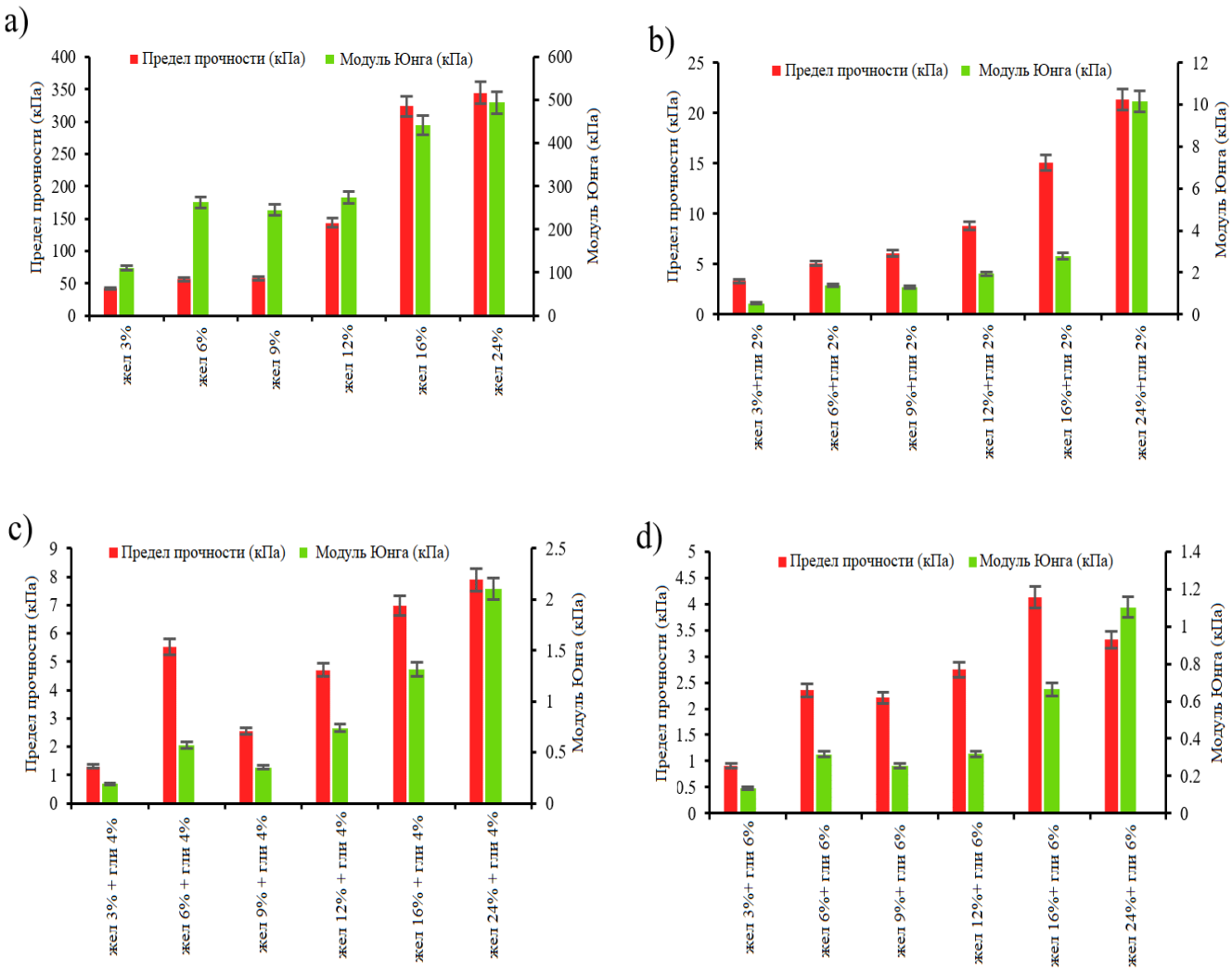


Рисунок 4.3 – Средняя толщина тонких пленок композита желатин-глицерин.

4.2. Механические свойства тонких композитных плёнок желатин-глицерин

Идеальная раневая повязка должна обладать превосходными механическими свойствами и сохранять целостность в процессе использования [192]. Она также должна противостоять механическому истиранию, оставаясь при этом достаточно гибкой, чтобы адаптироваться к движениям кожи. Для оценки механических свойств плёнок в различных областях применения были исследованы предел прочности при растяжении, относительное удлинение при разрыве, модуль Юнга и вязкость разрушения (Рисунок 4.4 и 4.5).



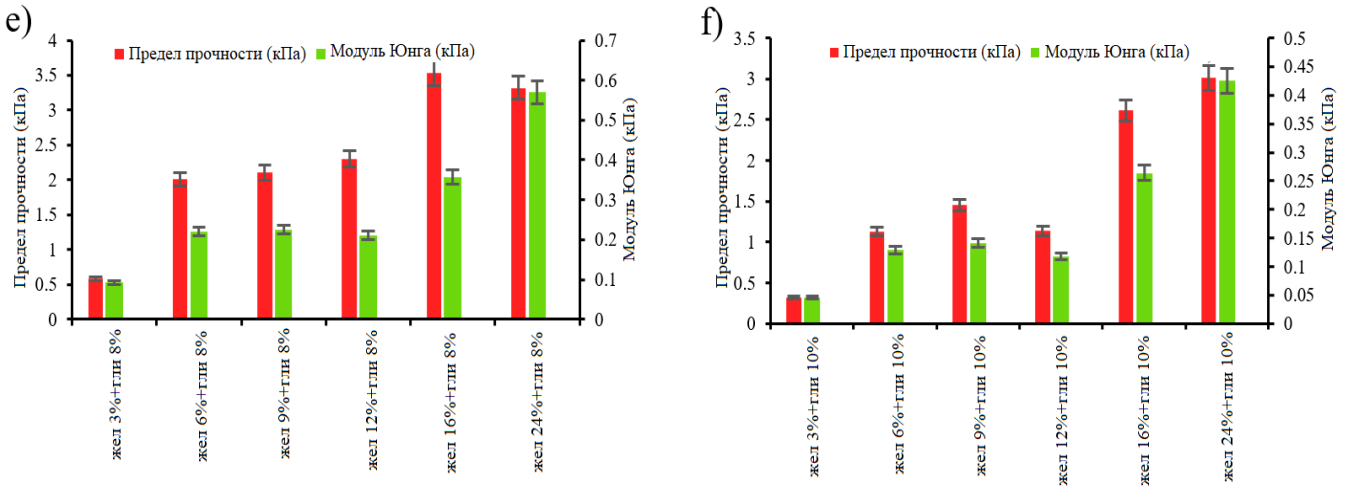
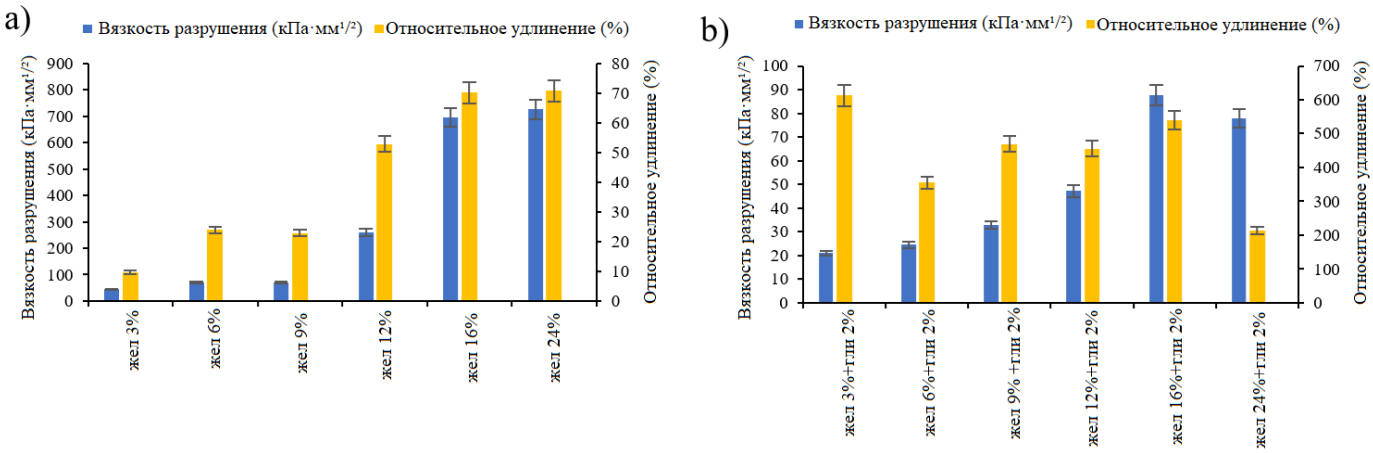


Рисунок 4.4 – Предел прочности на растяжение и модуль Юнга тонких пленок композита жел /гли с различным содержанием жел при: a) 0% b) 2% c) 4% d) 6% e) 8% f) 10%



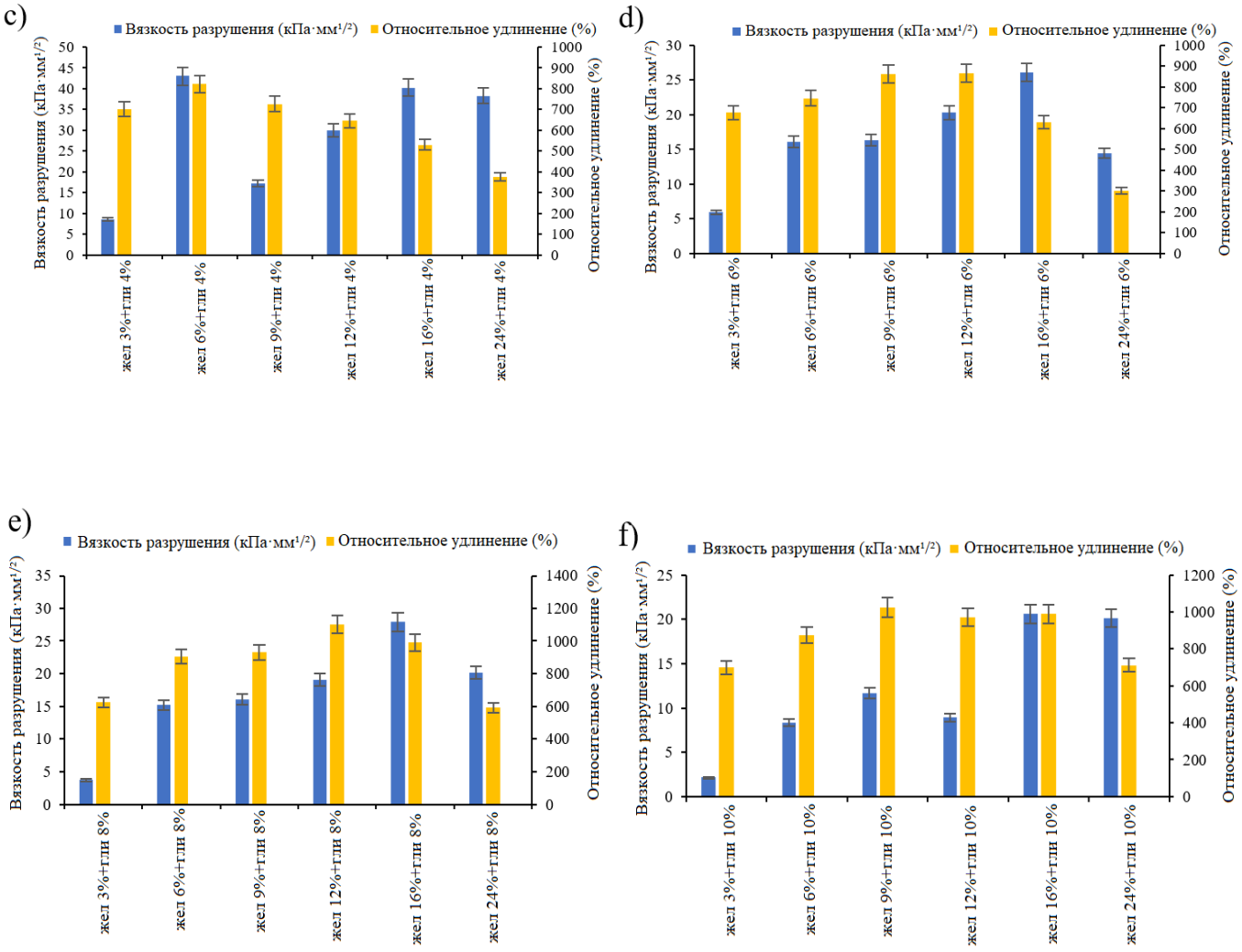


Рисунок 4.5 – Вязкость разрушения и относительное удлинение при разрыве тонких пленок композита жел/гли с различным содержанием жел при: a) 0% b) 2% c) 4% d) 6% e) 8% f) 10%

Как показано на рисунке 4.4, добавление глицерина в состав оказало влияние на механические характеристики композитных плёнок. С увеличением содержания желатина наблюдается рост прочности при растяжении и модуля Юнга. Также были исследованы вязкость разрушения и удлинение при разрыве тонких композитных плёнок жел/гли. Как видно на рисунке 4.5, вязкость разрушения увеличивается с ростом содержания желатина во всех образцах. Удлинение при разрыве плёнок желатина без глицерина (Рисунок 4.5a) возрастает с увеличением содержания желатина, однако в присутствии глицерин чёткой зависимости между удлинением при разрыве и процентным содержанием желатин не наблюдается. Как видно на рисунке 4.5e, наибольшее

удлинение при разрыве наблюдается у плёнок с составом желатин 12% и глицерин 8%, что свидетельствует о хорошей эластичности. В целом, с увеличением концентрации глицерина во всех плёнках прочность при растяжении и вязкость разрушения уменьшаются, тогда как модуль Юнга возрастает. Иными словами, тонкие плёнки с более высоким содержанием желатина обладают большей прочностью при растяжении, а удлинение при разрыве увеличивается с ростом содержания глицерина.

Предполагается, что пластификатор оказывает положительное влияние на механические свойства желатинового полимера за счёт ослабления водородных связей между молекулами, что приводит к увеличению гибкости полимера. Пластификаторы, как правило, представляют собой малые гидрофильные молекулы, способные предотвращать затвердевание желатина и улучшать его физические свойства. В частности, глицерин превосходит другие пластификаторы, такие как этиленгликоль, формамид и сорбит, поскольку делает плёнку менее жёсткой и более гибкой [193, 194]. Таким образом, сочетание желатина и глицерина оказывает благоприятное влияние на улучшение механических характеристик полученных плёнок. Согласно результатам механических испытаний, в последующих экспериментах были исследованы только гибкие тонкие плёнки.

4.3. Набухание тонких пленок композита желатин-глицерин

Водопоглощающая способность тонких пленок композита жел/гли измерялась в течение 24 часов, а процент поглощения показан на рисунке 4.6. Было замечено, что глицерин оказывает заметное влияние на набухание материалов, и наблюдалась четкая тенденция к уменьшению набухания с увеличением содержания глицерина. Также с увеличением количества желатина увеличивается водопоглощения. Без глицерина тонкая пленка была жесткой и негибкой и легче впитывала жидкость по сравнению с материалами, содержащими глицерин, которые были мягкими и гибкими. Это, вероятно, связано с тем, что глицерин образует водородные связи с желатином, уменьшая образование водородных связей с водой. Кроме того, причиной снижения значений водопоглощающей способности может быть введение кислого глицерина с pH 5, который снижает притяжение катионов желатина к воде. Следовательно, это приводит к снижению склонности к поглощению воды [195, 196]. На основании вышеизложенных наблюдений можно заключить, что при необходимости высокой водопоглощающей способности более эффективны пленки с меньшим содержанием глицерина.

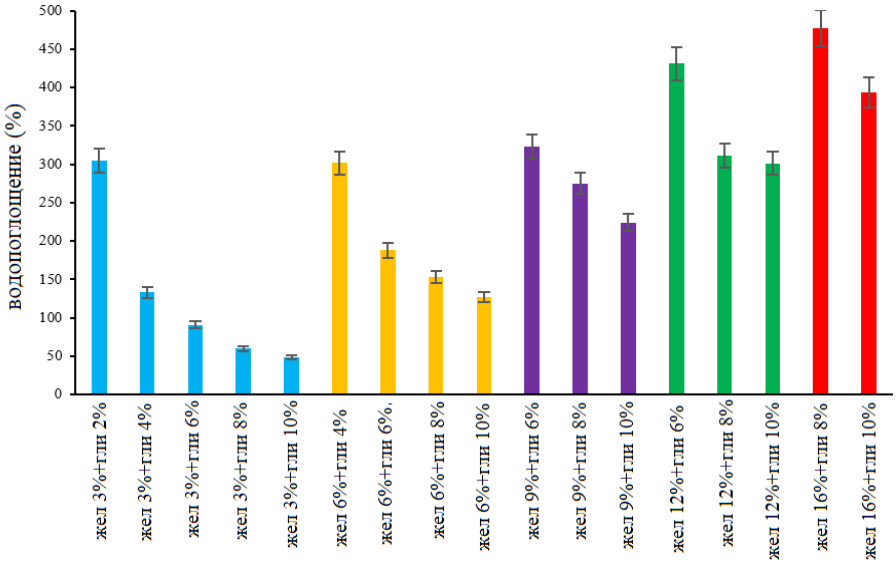


Рисунок 4.6 – Водопоглощающая способность тонких пленок композита жел/гли

4.4. Угол смачивания водой

Для исследования гидрофильности поверхности пленок жел/гли были проведены измерения угла смачивания. Угол, под которым капли воды соприкасаются с поверхностью пленки, определяется межмолекулярными силами между молекулами воды и поверхностью пленки, известными как силы сцепления и адгезии соответственно. Степень отталкивания воды поверхностью пленки можно определить, измерив угол смачивания водой. Угол смачивания более 65 градусов указывает на гидрофобную поверхность, а менее 65 градусов на гидрофильную поверхность [197]. Углы смачивания водой тонких пленок композита жел/гли приведены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Углы смачивания водой тонких пленок композита жел/гли.

Количество желатина	Количество глицерина	θ (◦)±2
3%	2%	73
	4%	67
	6%	66
	8%	64
	10%	46
6%	4%	66
	6%	74
	8%	73
	10%	81
9%	6%	69
	8%	76
	10%	68
12%	6%	82
	8%	70
	10%	83
16%	8%	79
	10%	77

Согласно характеристикам поверхности всех пленок композита жел/гли, пленки с содержанием желатин 6, 9, 12 и 16% имеют угол смачивания водой более 65 градусов, что указывает на гидрофобный характер поверхности. Пленки композита жел/гли, содержащие 3% желатина, показали, что угол смачивания водой уменьшается с увеличением количества глицерина. Однако гидрофильными оказались только образцы, содержащие 3% желатина с 8 и 10% глицерина. Высокие значения угла смачивания водой в пленках жел/гли можно объяснить тем, что некоторые аминокислоты желатина выравниваются в процессе гелеобразования по термодинамическим причинам. В ходе этого процесса гидрофильные аминокислоты, такие как серин, треонин, аспарагин, глутамин, аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота, остаются в водной матрице, образующей пленку, в то время как гидрофобные аминокислоты, такие как лейцин, валин, фенилаланин, изолейцин и метионин, в силу своей гидрофобной природы стремятся выровняться в сторону границы раздела воздух-воздух. Это способствует формированию сильно гидрофобной поверхности [198, 199]. В исследовании, проведенном Хорхе и др. [200], также были показаны высокие значения угла смачивания водой для пленок на основе желатина, пластифицированного глицерином.

4.5. Тепловые свойства

Цель исследования, оценить влияние содержания глицерина на тепловое поведение пленок желатина. На рисунках 4.7 и 4.8 представлены кривые ТГА для желатина и жел/гли. Как видно, на первом этапе не наблюдается существенной разницы в тенденции желатин и жел/гли, в то время как в диапазоне температур от 180 до 250 °C наблюдается различное тепловое поведение. Это объясняется разложением глицерина, который, как ожидается, разлагается выше 180 °C [201]. Тепловое разложение пленок жел/гли происходит в три основных этапа. Потеря массы ниже 110 °C в основном объясняется потерей воды. Значительная потеря массы (около 85%) наблюдается для пластифицированной композитной пленки в диапазоне температур 110–350 °C с двухэтапным разложением желатин и глицерин. Более низкая тепловая стабильность, отмеченная для композита, может быть объяснена более тесной связью глицерина с желатином.

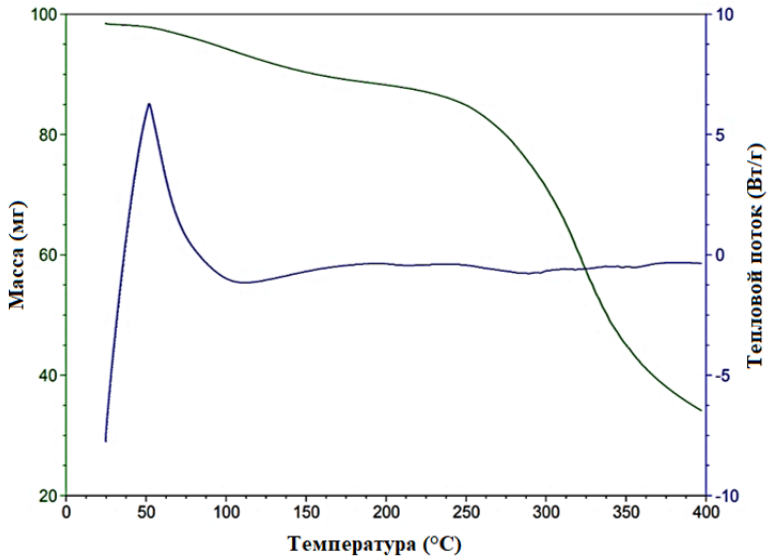


Рисунок 4.7 – ТГА и ДСК тонкой пленки желатин (3%) без глицерина.

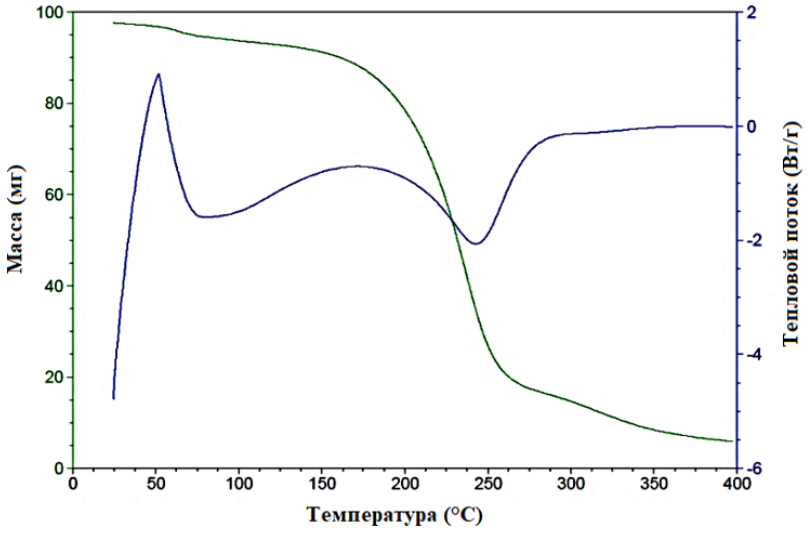


Рисунок 4.8 – ТГА и ДСК тонких пленок композита жел/гли (содержащих 3% жел и 10% гли).

4.6. ИК Спектральный анализ образцов

На рисунке 4.9 показаны ИК-спектры чистого желатин, глицерин, эритромицина, пленки жел/гли и пленки жел/гли, содержащей эритромицин. Спектр чистого желатина показал широкую полосу поглощения при 3285 $см^{-1}$, соответствующую амиду A, валентные колебания C=O при 1636 $см^{-1}$ для амида I, 1500-1550 $см^{-1}$ связаны с группой N-H для амида II. Полоса при 1240 $см^{-1}$ соответствует колебаниям амида III в чистом желатине [202]. Спектр глицерин показывает пики при 3300 $см^{-1}$, ~2900 $см^{-1}$, 1635 $см^{-1}$, 1390 $см^{-1}$ и 1030 $см^{-1}$, соответствующие связям –O–H, –C–H, –C–C, C–H и C–O соответственно [203]. Спектр тонкой пленки композита жел/гли показал, что полосы, приписываемые желатин, присутствуют в полном объеме. Присутствие пиков 3300, 2900, 1390 и 1030 $см^{-1}$, соответствующих глицерин, подтвердило его наличие в полученной тонкой пленке и ее стабильность. Пики при 3475 и 3520, 2972 и 2941, 1714, 1637, 1348–1377, 1462, 1271, 1192 и 1008 $см^{-1}$ соответствуют валентным колебаниям групп O–H, CH и CH_2, валентным колебаниям C=O, C=O сложного эфира, деформационным колебаниям CH и CH_2, C–O сложного эфира, C–O пиранозной группы, C–N и C–OH в эритромицине соответственно [204]. Результаты ИК-спектроскопии, полученные для тонкой пленки композита жел/гли, содержащей эритромицин, показывают присутствие желатина, глицерина и эритромицина, поскольку все они содержат пики всех компонентов.

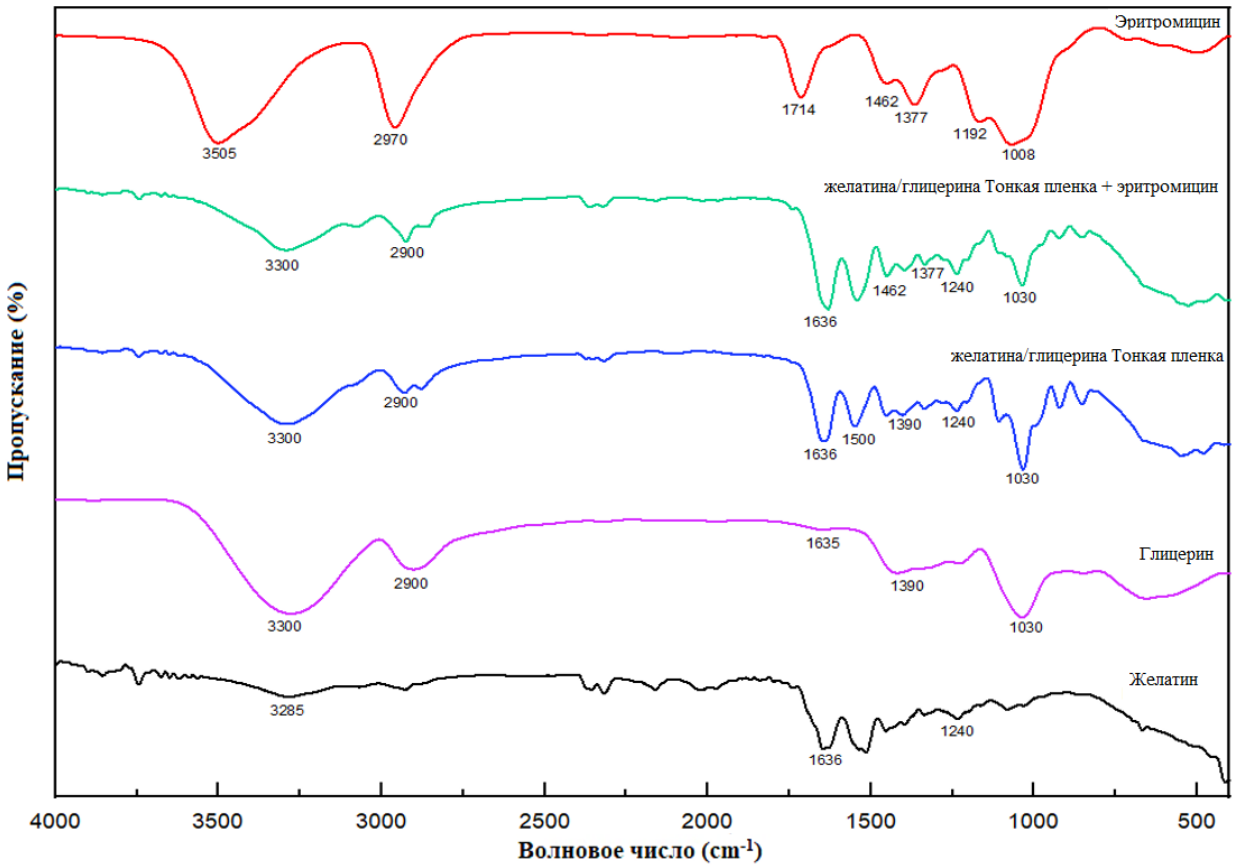


Рисунок 4.9 – ИК-спектры: эритромицина, тонкой пленки композита жел/гли содержащей эритромицин, тонкой пленки композита жел/гли, глицерин и желатин

4.7. Оценка антибактериальной активности

Эритромицин, препарат, находящийся в стадии исследования, известен своей способностью бороться как с грамотрицательными, так и с грамположительными бактериями [205, 206]. Пленки жел/гли, содержащие эритромицин, были протестированы на антибактериальную активность против Staphylococcus aureus и Escherichia coli с использованием модифицированного метода Кирби-Бауэра (метод дисковой диффузии). Зоны ингибирования вокруг пленки жел/гли, содержащей эритромицин, на агаровых пластинах суммированы в таблице 4.2 Очевидно, что диски жел/гли образовали видимые зоны бактериального ингибирования после инкубации в течение 24 часов.

Таблица 4.2 – Зоны ингибирования роста бактерий вокруг тонких пленок композита жел/гли.

Тонкие пленки	жел 3%+гли 10%	жел 6%+гли 10%	жел 9%+гли 10%	жел 12%+гли 10%
Зона ингибирования роста золотистого стафилококка	26mm	26mm	26mm	25mm

Пленки жел/гли, содержащие препарат (с различным процентным содержанием желатина), не показали антибактериального действия против бактерий E. coli. Это может быть связано с чувствительностью эритромицина к кислой среде, используемой при приготовлении раствора, что приводит к медленной потере кладинозы из эритромицина А и устойчивости бактерий E. coli к препарату [207]. Сравнивая зоны ингибирования эритромицина на дисках и тонких пленках, можно заключить, что тонкие пленки способны инкапсулировать, поглощать жидкость и эффективно высвобождать лекарственное средство. Кроме того, новая рецептура подходит для приготовления тонких пленок против бактерий Staphylococcus aureus.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе синтезированы и исследованы гидрогели на основе поливинилового спирта, ксантановой камеди и глицерина, а также тонкие пленки на основе желатина и глицерина.

1. Разработан метод получения термочувствительных гидрогелей на основе поливинилового спирта, глицерина и ксантановой камеди методом циклов замораживания–оттаивания.

2. Установлена связь между составом гидрогеля и его структурно-морфологическими характеристиками. Увеличение содержания ксантановой камеди приводит к формированию более развитой пористой структуры и увеличению степени набухания, что подтверждает влияние химического состава на параметры полимерной сети.

3. показано, что изготовленные гидрогели из поливинилового спирта, ксантановой камеди и глицерина, обладают температурно-чувствительным поведением, при котором степень набухания и скорость высвобождения метронидазола увеличиваются с повышением температуры от 20 до 60 °C.

4. Установлено, что кинетика высвобождения метронидазола из исследуемых термочувствительных гидрогелей описывается моделью Корсмейера–Пеппаса. Показано, что данная модель позволяет охарактеризовать особенности механизма высвобождения и оценить влияние температуры и содержания ксантановой камеди на кинетику процесса.

5. Выявлена зависимость кинетики от состава гидрогеля: образец с большей концентрацией ксантановой камеди (F2+ МТЗ) показывает большую скорость и величину высвобождения, чем F1+МТЗ из-за повышения проницаемости и гидрофильности матрицы.

6. Установлено, что высвобождение метронидазола из гидрогеля зависит от структуры полимерной сетки и температуры, что согласуется с физико-химической основой зависимости от строения и кинетики системы.

7. Определено, что глицерин в составе полимерных пленок на основе желатина является основным пластификатором. Его добавление снижает влагопоглощение за счет формирования водородных связей с желатином, повышает эластичность и изменяет механические характеристики пленок.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДСК — дифференциальная сканирующая калориметрия

FTIR — инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье

СЭМ — сканирующая электронная микроскопия

XRD — рентгеновская дифракция

ТГА — термогравиметрический анализ

UV–Vis — ультрафиолетовая и видимая спектроскопия

ПВС — поливиниловый спирт

КК — ксантановая камедь

ГЛИ — глицерин

IPN — взаимопроникающая полимерная сеть

LCST — нижняя критическая температура растворения

UCST — верхняя критическая температура растворения

MET — метронидазол

GA — глутаральдегид

pH — показатель кислотности среды

T — температура

t — время

Mt — количество высвобожденного препарата в момент времени t

M∞ — максимальное количество высвобожденного препарата

k_0 — константа скорости модели нулевого порядка

k_1 — константа скорости модели первого порядка

k_H — константа Хигучи

k_{KP} — константа Корсмейера–Пеппаса

n — показатель механизма высвобождения

We — равновесное водопоглощение

Wt — водопоглощение в момент времени t

G′ — модуль накопления

G″ — модуль потерь

tan δ — коэффициент механических потерь

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Xu, X. Poly(N-isopropylacrylamide)-based thermoresponsive composite hydrogels for biomedical applications / X. Xu, Y. Liu, W. Fu, M. Yao, Z. Ding, J. Xuan, D. Li, S. Wang, Y. Xia and M. Cao // Polymers (Basel). – 2020. – Vol. 12. – P. 1–22.

2. Place, E.S. Synthetic polymer scaffolds for tissue engineering / E.S. Place, J.H. George, C.K. Williams and M.M. Stevens // Chem. Soc. Rev. – 2009. – Vol. 38. – P. 1139–1151.

3. McCarthy, P.C. Recent applications of dual-stimuli responsive chitosan hydrogel nanocomposites as drug delivery tools / P.C. McCarthy, Y. Zhang and F. Abebe // Molecules. – 2021. – Vol. 26. – P. 1–15.

4. Van Vlierberghe, S. Biopolymer-based hydrogels as scaffolds for tissue engineering applications: a review / S. Van Vlierberghe, P. Dubruel and E. Schacht // Biomacromolecules. – 2011. – Vol. 12. – P. 1387–1408.

5. Yang, H.Y. CD44-Targeted and Enzyme-Responsive Photo-Cross-Linked Nanogels with Enhanced Stability for In Vivo Protein Delivery / H.Y. Yang, J.M. Du, M.-S. Jang, X.W. Mo, X.S. Sun, D.S. Lee and Y. Fu // Biomacromolecules. – 2021. – Vol. 22. – P. 3590 –3600.

6. Shariatinia, Z. Chitosan-based hydrogels: preparation, properties and applications / Z. Shariatinia and A.M. Jalali // Int. J. Biol. Macromol. – 2018. – Vol. 115. – P. 194 –220.

7. Lee, K.Y. Alginate: properties and biomedical applications / K.Y. Lee and D.J. Mooney // Prog. Polym. Sci. – 2012. – Vol. 37. – P. 106–126.

8. Chang, C. Effects of crosslinking methods on structure and properties of cellulose/PVA hydrogels / C. Chang, A. Lue and L. Zhang // Macromol. Chem. Phys. – 2008. – Vol. 209. – P. 1266–1273.

9. Bejenariu, A. Trisodium trimetaphosphate crosslinked xanthan networks: synthesis, swelling, loading and releasing behaviour / A. Bejenariu, M. Popa, V. Dulong, L. Picton and D. Le Cerf // Polym. Bull. – 2009. – Vol. 62. – P. 525–538.

10. Augst, A.D. Alginate hydrogels as biomaterials / A.D. Augst, H.J. Kong and D.J. Mooney // Macromol. Biosci. – 2006. – Vol. 6. – P. 623–633.

11. De France, K.J. Enhanced mechanical properties in cellulose nanocrystal–poly(oligoethylene glycol methacrylate) injectable nanocomposite hydrogels through control of physical and chemical cross-

linking / K.J. De France, K.J.W. Chan, E.D. Cranston and T. Hoare // Biomacromolecules. – 2016. – Vol. 17. – P. 649–660.

12. De France, K.J. Review of hydrogels and aerogels containing nanocellulose / K.J. De France, T. Hoare and E.D. Cranston // Chem. Mater. – 2017. – Vol. 29 – P. 4609– 4631.

13. Patel, J. Xanthan gum derivatives: review of synthesis, properties and diverse applications / J. Patel, B. Maji, N.S.H.N. Moorthy and S. Maiti // RSC Adv. – 2020. – Vol. 10. – P. 27103–27136.

14. Petri, D.F.S. Xanthan gum: a versatile biopolymer for biomedical and technological applications / D.F.S. Petri // J. Appl. Polym. Sci. – 2015. – Vol. 132.

15. Elkatatny, S. Formation damage avoidance by reducing invasion with sodium silicate-modified water-based drilling fluid / S. Elkatatny, T. Jafarov, A. Al-Majed and M. Mahmoud // Energies. – 2019. – Vol. 12. – P. 1485.

16. Lopes, B.M. Xanthan gum: properties, production conditions, quality and economic perspective / B.M. Lopes, V.L. Lessa, B.M. Silva, M.A.S. Carvalho Filho, E. Schnitzler and L.G. Lacerda // J. Food Nutr. Res. – 2015. – Vol. 54. – P. 185–194.

17. Philip, A. Colon targeted drug delivery systems: a review on primary and novel approaches / A. Philip and B. Philip // Oman Med. J. – 2010. – Vol. 25. – P. 70–78.

18. Benny, I.S. Review on application of xanthan gum in drug delivery / I.S. Benny, V. Gunasekar and V. Ponnusami // Int. J. PharmTech Res. – 2014. – Vol. 6. – P. 1322–1326.

19. Ray, S. Novel interpenetrating network microspheres of xanthan gum–poly(vinyl alcohol) for the delivery of diclofenac sodium to the intestine — in vitro and in vivo evaluation / S. Ray, S. Banerjee, S. Maiti, B. Laha, S. Barik, B. Sa and U.K. Bhattacharyya // Drug Deliv. – 2010. – Vol. 17. – P. 508–519.

20. Abu-Huwaij, R. Formulation and in vitro evaluation of xanthan gum or Carbopol 934-based mucoadhesive patches loaded with nicotine / R. Abu-Huwaij, R.M. Obaidat, K. Sweidan and Y. Al-Hiari // AAPS PharmSciTech. – 2010. – Vol. 12. – P. 21–27.

21. El-Gazayerly, O.N. Release of pentoxifylline from xanthan gum matrix tablets / O.N. El-Gazayerly // Drug Dev. Ind. Pharm. – 2003. – Vol. 29. – P. 241–246.

22. Kavitha, K. Development and evaluation of rosiglitazone maleate floating tablets using natural gums / K. Kavitha, K.P. Puneeth and M.T. Tamizh // Int. J. PharmTech Res. – 2010. – Vol. 2. – P. 1662–1669.

23. Jia, X. Chemical and Structural Engineering of Gelatin-Based Delivery Systems for Therapeutic Applications: A Review. / X. Fan, C. Chen, Q. Lu, H. Zhou, Y. Zhao, X. Wang, S. Han, L. Ouyang, H. Yan, H. Dai, H. Geng // Biomacromolecules. – 2024. – Vol. 25. – P. 564–589.

24. Asim, S. Multi-Functional Gelatin-Dithiolane Hydrogels for Tissue Engineering. / S. Asim, C. Tuftee, A. Qureshi, R. Callaghan, M. Geary, M. Santra, V. Pal, I. Namli, G. Yam, I. Ozbolat, M. Rizwan // Advanced Functional Materials. – 2024. – Vol. 35. – P. 2407522.

25. Jaipan, P. Gelatin-based hydrogels for biomedical applications/ P. Jaipan, A. Nguyen, R. Narayan// MRS Communications. – 2017. – Vol. 7. – P. 416–426.

26. Fu, S. Injectable and thermo-sensitive PEG–PCL–PEG copolymer/collagen/n-HA hydrogel composite for guided bone regeneration / S. Fu, P. Ni, B. Wang, B. Chu, L. Zheng, F. Luo, J. Luo and Z. Qian // Biomaterials. – 2012. – Vol. 33. – P. 4801–4809.

27. Lee, K.Y. Hydrogels for tissue engineering / K.Y. Lee and D.J. Mooney // Chemical Reviews. – 2001. – Vol. 101. – P. 1869 –1880.

28. Millon, L.E. Anisotropic polyvinyl alcohol hydrogel for cardiovascular applications / L.E. Millon, H. Mohammadi, and W.K. Wan // J Biomed Mater Res B Appl Biomater. – 2006. – Vol. 79 – P. 305–311.

29. Chen, Y. Biopolymers PVA hydrogels anionic polymerisation nanocomposites / Y. Chen, J. Li, J. Lu, M. Ding and Y. Chen // Polymer Testing. – 2022. – Vol. 108 – P. 107516

30. Gulrez, S.K. Hydrogels: methods of preparation, characterisation and applications in molecular and environmental bioengineering / S.K. Gulrez, S. Al-Assaf and G.O. Phillips // Prog. Mol. Environ. Bioeng. – 2011. – P. 646.

31. Rahman Khan, M.M. Synthesis of PVA-Based Hydrogels for Biomedical Applications: Recent Trends and Advances/ M.M. Rahman Khan, M.H. Rumon // Gels. – 2025. – Vol. 11 – P. 88.

32. Huang, J. Ultrathin Ionogels and Hydrogels: Materials, Mechanisms, and Emerging Applications / J. Huang, J. Liu, X. Chen, J. Zhou, Y. Zhu, Q. Zhang// Journal of Polymer Science. – 2025. – Vol. 63 – P. 3395–3409

33. Dong, M. Recent progress in fabrications and applications of functional hydrogel films / M. Dong, D. Jiao, Q. Zheng, Z. Wu //Journal of Polymer Science. – 2023. – Vol. 61 – P. 1026–1039.

34. Sutradhar, S. Hydrogel Films in Biomedical Applications: Fabrication, Properties and Therapeutic Potential / S. Sutradhar, H. Shin, W. Kim, H. Jang // Gels. – 2025. – Vol. 11 – P. 918.

35. Le, H. Thin-film hydrogels with superior stiffness, strength, and stretchability / H. Le, V. Tran, M. Mredha, J. Na, J. Seon, I. Jeon // Extreme Mechanics Letters. – 2020. – Vol. 37 – P. 100720.

36. Cao, H. Current hydrogel advances in physicochemical and biological response-driven biomedical application diversity/ H. Cao, L. Duan, Y. Zhang, J. Cao, K. Zhang // Signal Transduction and Targeted Therapy. – 2021. – Vol. 6 – P. 426.

37. Magami, S.M. The physicochemical behavior of amino cross-linkers and the effect of their chemistry on selected epoxy can coatings' hydrolysis to melamine and formaldehyde into aqueous food simulants / S.M. Magami, P.K.T. Oldring, L. Castle and J.T. Guthrie // Prog. Org. Coat. – 2015. – Vol. 78. – P. 325–333.

38. Reddy, N. Effect of glutaraldehyde crosslinking conditions on the strength and water stability of wheat gluten fibers / N. Reddy, Y. Tan, Y. Li and Y. Yang // Macromol. Mater. Eng. – 2008. – Vol. 293. – P. 614–620.

39. Costa-Júnior, E.S. Preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol) chemically crosslinked blends for biomedical applications / E.S. Costa-Júnior, E.F. Barbosa-Stancioli, A.A.P. Mansur, W.L. Vasconcelos and H.S. Mansur // Carbohydr. Polym. – 2009. – Vol. 76. – P. 472–481.

40. Sakthiguru, N. Fabrication of bioinspired chitosan/gelatin/allantoin biocomposite film for wound dressing application / N. Sakthiguru and M. Aboobucker Sithique // Int. J. Biol. Macromol. – 2020. – Vol. 152. – P. 873–883.

41. Brack, H. A spectroscopic and viscometric study of the metal ion-induced gelation of the biopolymer chitosan / H. Brack, S. Tirmizi and W. Risen // Polymer. – 1997. – Vol. 38. – P. 2351–2362.

42. Fan, L. The novel alginate/N-succinyl-chitosan antibacterial blend fibers / L. Fan, L. Yu, Y. Xu, C. Yi, J. Cai, M. Li and J. Huang // J. Appl. Polym. Sci. – 2010. – Vol. 116. – P. 2151–2156.

43. Tan, J. Development of alginate-based hydrogels: crosslinking strategies and biomedical applications / J. Tan, Y. Luo, Y. Guo, Y. Zhou, X. Liao, D. Li, X. Lai and Y. Liu // Int. J. Biol. Macromol. – 2023. – Vol. 239 – P. 124275.

44. Niu, R. Hybrid pectin–Fe^{3+}/polyacrylamide double network hydrogels with excellent strength, high stiffness, superior toughness and notch-insensitivity / R. Niu, Z. Qin, F. Ji, M. Xu, X. Tian, J. Li and F. Yao // Soft Matter. – 2017. – Vol. 13. – P. 9237–9245.

45. Wu, X. Fully physically crosslinked pectin-based hydrogel with high stretchability and toughness for biomedical application / X. Wu, H. Sun, Z. Qin, P. Che, X. Yi, Q. Yu, H. Zhang, X. Sun, F. Yao and J. Li // Int. J. Biol. Macromol. – 2020. – Vol. 149. – P. 707–716.

46. Janes, K.A. Chitosan nanoparticles as delivery systems for doxorubicin / K.A. Janes, M.P. Fresneau, A. Marazuela, A. Fabra and M.A.J. Alonso // J. Control. Release. – 2001. – Vol. 73. – P. 255–267.

47. Lotfipour, F. Freeze–thaw induced cross-linked PVA/chitosan for oxytetracycline-loaded wound dressing: the experimental design and optimization / F. Lotfipour, M. Alami-Milani, S. Salatin, A. Hadavi and M. Jelyehgari // Res. Pharm. Sci. – 2019. – Vol. 14. – P. 175–189.

48. Cascone, M. Effect of chitosan and dextran on the properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels / M. Cascone, S. Maltinti, N. Barbani and M. Laus // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 1999. – Vol. 10. – P. 431–435.

49. Takamura, A. Drug release from poly(vinyl alcohol) gel prepared by freeze–thaw procedure / A. Takamura, F. Ishii and H. Hidaka // J. Control. Release. – 1992. – Vol. 20. – P. 21–27.

50. Hennink, W.E. Novel crosslinking methods to design hydrogels / W.E. Hennink and C.F. van Nostrum // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2002. – Vol. 54. – P. 13–36.

51. Langer, R.S. Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems / R.S. Langer and N.A. Peppas // Biomaterials. – 1981. – Vol. 2. – P. 201–214.

52. Park, Y.D. Photopolymerized hyaluronic acid-based hydrogels and interpenetrating networks / Y.D. Park, N. Tirelli and J.A. Hubbell // Biomaterials. – 2003. – Vol. 24. – P. 893–900.

53. Ifkovits, J.L. Photopolymerizable and degradable biomaterials for tissue engineering applications / J.L. Ifkovits and J.A. Burdick // Tissue Eng. – 2007. – Vol. 13. – P. 2369–2385.

54. M., A. Poly(hydroxyethyl methacrylate) based macroporous hydrogels with disulfide cross-linker / A. M., P.F. M., A. D., G.I. Yu and M. B. // Macromol. Chem. Phys. – 2008. – Vol. 209. – P. 577–584.

55. Skaalure, S.C. The effects of hydroxyapatite nanoparticles embedded in a MMP-sensitive photoclickable PEG hydrogel on encapsulated MC3T3-E1 pre-osteoblasts / S.C. Skaalure, I.L. Milligan, S.J. Bryant, M. Carles-Carner and L.S. Saleh // Biomed. Mater. – 2018. – Vol. 13. – P. 045009.

56. Kristi, S. Polymerizations of multifunctional anhydride monomers to form highly crosslinked degradable networks / S. Kristi and D.J. A. // Macromol. Rapid Commun. – 2001. – Vol. 22. – P. 564–572.

57. Caldwell, A.S. Clickable microgel scaffolds as platforms for 3D cell encapsulation / A.S. Caldwell, G.T. Campbell, K.M.T. Shekiro and K.S. Anseth // Adv. Healthc. Mater. – 2017. – Vol. 6. – P. 10.1002.

58. Kloxin, A.M. Photodegradable hydrogels for dynamic tuning of physical and chemical properties / A.M. Kloxin, A.M. Kasko, C.N. Salinas and K.S. Anseth // Science. – 2009. – Vol. 324. – P. 59–63.

59. Brown, T.E. Spatiotemporal hydrogel biomaterials for regenerative medicine / T.E. Brown and K.S. Anseth // Chem. Soc. Rev. – 2017. – Vol. 46. – P. 6532–6552.

60. Hennink, W.E. Novel crosslinking methods to design hydrogels / W.E. Hennink and C.F. van Nostrum // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2002. – Vol. 54. – P. 13–36.

61. Patenaude, M. Designing injectable, covalently cross-linked hydrogels for biomedical applications / M. Patenaude, N.M.B. Smeets and T. Hoare // Macromol. Rapid Commun. – 2014. – Vol. 35. – P. 598–617.

52. Bakaic, E. Injectable hydrogels based on poly(ethylene glycol) and derivatives as functional biomaterials / E. Bakaic, N.M.B. Smeets and T. Hoare // RSC Adv. – 2015. – Vol. 5. – P. 35469–35486.

63. Liu, Z.Q. Dextran-based hydrogel formed by thiol Michael addition reaction for 3D cell encapsulation / Z.Q. Liu, Z. Wei, X.L. Zhu, G.Y. Huang, F. Xu, J.H. Yang, Y. Osada, M. Zrínyi, J.H. Li and Y.M. Chen // Colloids Surf. B Biointerfaces. – 2015. – Vol. 128. – P. 140–148.

64. G.G., N. Oxime cross-linked injectable hydrogels for catheter delivery / N. G.G., B.R. L. and C.K. L. // Adv. Mater. – 2013. – Vol. 25. – P. 2937–2942.

65. Wei, H.-L. Thermosensitive hydrogels synthesized by fast Diels–Alder reaction in water / H.-L. Wei, Z. Yang, L.-M. Zheng and Y.-M. Shen // Polymer. – 2009. – Vol. 50. – P. 2836–2840.

66. Guo, W. pH-stimulated DNA hydrogels exhibiting shape-memory properties / W. Guo, C.H. Lu, R. Orbach, F. Wang, X.J. Qi, A. Cecconello, D. Seliktar and I. Willner // Adv. Mater. – 2015. – Vol. 27. – P. 73–78.

67. Buenger, D. Hydrogels in sensing applications / D. Buenger, F. Topuz and J. Groll // Prog. Polym. Sci. – 2012. – Vol. 37. – P. 1678–1719.

68. Kim, S.J. Swelling kinetics of interpenetrating polymer hydrogels composed of poly(vinyl alcohol)/chitosan / S.J. Kim, K.J. Lee, I.Y. Kim and S.I. Kim // J. Macromol. Sci. Part A. – 2003. – Vol. 40. – P. 501–510.

69. Sun, J. Thermosensitive chitosan hydrogel for implantable drug delivery: blending PVA to mitigate body response and promote bioavailability / J. Sun, G. Jiang, Y. Wang and F. Ding // J. Appl. Polym. Sci. – 2012. – Vol. 125. – P. 2092–2101.

70. Wu, C.-J. Development of biomedical polymer–silicate nanocomposites: a materials science perspective / C.-J. Wu, A.K. Gaharwar, P.J. Schexnailder and G. Schmidt // Materials. – 2010. – Vol. 3. – P. 2986–3005.

71. Das, N. Preparation methods and properties of hydrogel: a review / N. Das // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. – 2013. – Vol. 5. – P. 112–117.

72. Bashir, S. Rheological behavior of biodegradable N-succinylchitosan-g-poly(acrylic acid) hydrogels and their applications as drug carrier and in vitro theophylline release / S. Bashir, Y.Y. Teo, S. Ramesh, K. Ramesh and M.W. Mushtaq // Int. J. Biol. Macromol. – 2018. – Vol. 117. – P. 454–466.

73. Bashir, S. pH responsive N-succinyl chitosan/Poly (acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels and in vitro release of 5-fluorouracil / S. Bashir, Y.Y. Teo, S. Naeem, S. Ramesh, K. Ramesh and M.W. Mushtaq // PLoS One. – 2017. – Vol. 12. – P. e0179250.

74. Oyen, M. Mechanical characterisation of hydrogel materials / M. Oyen // Int. Mater. Rev. – 2014. – Vol. 59. – P. 44–59.

75. Das, N. Preparation methods and properties of hydrogel: a review / N. Das // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. – 2013. – Vol. 5. – P. 112–117.

76. Barnes, H.A. An introduction to rheology / H.A. Barnes, J.F. Hutton and K. Walters // Publisher. – 1989. – Vol. 3. – P. 1–199.

77. Moura, M.J. Rheological study of genipin cross-linked chitosan hydrogels / M.J. Moura, M.M. Figueiredo and M.H. Gil // Biomacromolecules. – 2007. – Vol. 8. – P. 3823–3829.

78. Kang, E.Y. Thermogelling chitosan-g-(PAF-PEG) aqueous solution as an injectable scaffold / E.Y. Kang, H.J. Moon, M.K. Joo and B. Jeong // Biomacromolecules. – 2012. – Vol. 13. – P. 1750–1757.

79. Bashir, S. Synthesis and characterization of karaya gum-g-poly(acrylic acid) hydrogels and in vitro release of hydrophobic quercetin / S. Bashir, Y.Y. Teo, S. Ramesh and K. Ramesh // Polymer. – 2018. – Vol. 147. – P. 108–120.

80. Bashir, S. Synthesis and characterization of karaya gum-g-poly(acrylic acid) hydrogels and in vitro release of hydrophobic quercetin / S. Bashir, Y.Y. Teo, S. Ramesh and K. Ramesh // Polymer. – 2018. – Vol. 147. – P. 108–120.

81. Qureshi, D. Environment sensitive hydrogels for drug delivery applications / D. Qureshi, S.K. Nayak, S. Maji, A. Anis, D. Kim and K. Pal // Eur. Polym. J. – 2019. – Vol. 120. – P. 109220.

82. Siegel, R.A. pH-controlled release from hydrophobic/polyelectrolyte copolymer hydrogels / R.A. Siegel, M. Falamarzian, B.A. Firestone and B.C. Moxley // J. Control. Release. – 1988. – Vol. 8. – P. 179–182.

83. Patel, V.R. Preparation and characterization of freeze-dried chitosan-poly(ethylene oxide) hydrogels for site-specific antibiotic delivery in the stomach / V.R. Patel and M.M. Amiji // Pharm. Res. – 1996. – Vol. 13. – P. 588–593.

84. Vaghani, S.S. Synthesis and characterization of pH-sensitive hydrogel composed of carboxymethyl chitosan for colon targeted delivery of ornidazole / S.S. Vaghani, M.M. Patel and C. Satish // Carbohydr. Res. – 2012. – Vol. 347. – P. 76–82.

85. Bilia, A. In vitro evaluation of a pH-sensitive hydrogel for control of GI drug delivery from silicone-based matrices / A. Bilia, V. Carelli, G. Di Colo and E. Nannipieri // Int. J. Pharm. – 1996. – Vol. 130. – P. 83–92.

86. Mura, C. In vitro study of N-succinylchitosan for targeted delivery of 5-aminosalicylic acid to colon / C. Mura, M. Manconi, D. Valenti, M.L. Manca, O. Díez-Sales, G. Loy and A.M. Fadda // Carbohydr. Polym. – 2011. – Vol. 85. – P. 578–583.

87. Homan, A. Graft copolymers of PEO-PPO-PEO triblock polyethers on bioadhesive polymer backbones: synthesis and properties / A. Homan, G. Chen, X. Wu and Z. Ding // Proceedings. – 1997.

88. Chen, H. Characterization of pH- and temperature-sensitive hydrogel nanoparticles for controlled drug release / H. Chen, Y. Gu, Y. Hu and Z. Qian // PDA J. Pharm. Sci. Technol. – 2007. – Vol. 61. – P. 303–313.

89. Schmolka, I.R. Artificial skin I. Preparation and properties of pluronic F-127 gels for treatment of burns / I.R. Schmolka // J. Biomed. Mater. Res. – 1972. – Vol. 6. – P. 571–582.

90. Katono, H. Thermo-responsive swelling and drug release switching of interpenetrating polymer networks composed of poly(acrylamide-co-butyl methacrylate) and poly(acrylic acid) / H. Katono, A. Maruyama, K. Sanui, N. Ogata, T. Okano and Y. Sakurai // J. Control. Release. – 1991. – Vol. 16. – P. 215–227.

91. Langer, R. Drug delivery and targeting / R. Langer // Nature. – 1998. – Vol. 392 – P. 5–10.

92. Liechty, W.B. Polymers for drug delivery systems / W.B. Liechty, D.R. Kryscio, B.V. Slaughter and N.A. Peppas // Ann. Rev. Chem. Biomol. Eng. – 2010. – Vol. 1. – P. 149–173.

93. Hoare, T.R. Hydrogels in drug delivery: progress and challenges / T.R. Hoare and D.S. Kohane // Polymer. – 2008. – Vol. 49. – P. 1993–2007.

94. Florence, A.T. Novel oral drug formulations / A.T. Florence and P.U. Jani // Drug Safety. – 1994. – Vol. 10. – P. 233–266.

95. Cohen, J. IL-12 deaths: explanation and a puzzle / J. Cohen // Science. – 1995. – Vol. 270 – P. 908.

96. Tibbitt, M.W. Emerging frontiers in drug delivery / M.W. Tibbitt, J.E. Dahlman and R. Langer // J. Am. Chem. Soc. – 2016. – Vol. 138. – P. 704–717.

97. Tiwari, G. Drug delivery systems: an updated review / G. Tiwari et al. // Int. J. Pharm. Investig. – 2012. – Vol. 2. – P. 2–11.

98. Arakaki, K. Artificial cartilage made from a novel double network hydrogel: in vivo effects on the normal cartilage and ex vivo evaluation of the friction property / K. Arakaki et al. // J. Biomed. Mater. Res. Part A. – 2010. – Vol. 93A. – P. 1160–1168.

99. Bodugoz Senturk, H. Poly(vinyl alcohol)–acrylamide hydrogels as load bearing cartilage substitute / H. Bodugoz Senturk, C.E. Macias, J.H. Kung and O.K. Muratoglu // Biomaterials. – 2009. – Vol. 30. – P. 589–596.

100. Calvert, P. Hydrogels for soft machines / P. Calvert // Adv. Mater. – 2009. – Vol. 21. – P. 743–756.

101. Leader, B. Protein therapeutics: a summary and pharmacological classification / B. Leader, Q.J. Baca and D.E. Golan // Nat. Rev. Drug Discov. – 2008. – Vol. 7. – P. 21–39.

102. Reichert, J.M. Trends in development and approval times for new therapeutics in the United States / J.M. Reichert // Nat. Rev. Drug Discov. – 2003. – Vol. 2. – P. 695–702.

103. Su, J. Anti-inflammatory peptide functionalized hydrogels for insulin secreting cell encapsulation / J. Su, B.H. Hu, W.L. Lowe, D.B. Kaufman and P.B. Messersmith // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – P. 308–314.

104. Mahdavi, A. A biodegradable and biocompatible gecko inspired tissue adhesive / A. Mahdavi et al. // Proc. Natl Acad. Sci. USA. – 2008. – Vol. 105. – P. 2307–2312.

105. Khan, T.A. Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing / T.A. Khan, K.K. Peh and H.S. Ch'ng // J. Pharm. Pharm. Sci. – 2000. – Vol. 3. – P. 303–311.

106. Di, J. Stretch-triggered drug delivery from wearable elastomer films containing therapeutic depots / J. Di et al. // ACS Nano. – 2015. – Vol. 9. – P. 9407–9415.

107. Anwar, M. Formulation and evaluation of interpenetrating network of xanthan gum and polyvinylpyrrolidone as a hydrophilic matrix for controlled drug delivery system / M. Anwar, F. Pervaiz, H. Shoukat, S. Noreen, K. Shabbir, A. Majeed and S. Ijaz // Polym. Bull. – 2020. – Vol. 78. – P. 59–80.

108. Liu, Z. Injectable thermo-responsive hydrogel composed of xanthan gum and methylcellulose double networks with shear-thinning property / Z. Liu and P. Yao // Carbohydr. Polym. – 2015. – Vol. 132. – P. 490–498.

109. Jeswani, G. Exploration of hemocompatibility and intratumoral accumulation of paclitaxel after loco-regional administration of thermoresponsive hydrogel composed of poloxamer and xanthan gum / G. Jeswani, L. Chablani, U. Gupta, R. Sahoo, K. Nakhate and A. Taksande // Int. J. Biol. Macromol. – 2023. – Vol. 226. – P. 746–759.

110. Malik, N. Chitosan/xanthan gum based hydrogels as potential carrier for an antiviral drug: fabrication, characterization, and safety evaluation / N. Malik, M. Ahmad, M. Minhas, R. Tulain, K. Barkat, I. Khalid and Q. Khalid // Front. Chem. – 2020. – Vol. 8.

111. Barberi, G. Thermosensitive and mucoadhesive xanthan gum-based hydrogel for local release of anti-Candida peptide / G. Barberi, G. Biscari, V. Catania, D. Punginelli, C. Scialabba, C. Fiorica, D. Schillaci and G. Cavallaro // J. Drug Deliv. Sci. Technol. – 2024. – Vol. 100 – P. 106054.

112. Sethi, S. Cross-linked xanthan gum–starch hydrogels as promising materials for controlled drug delivery / S. Sethi, B. Kaith, M. Kaur, N. Sharma and V. Kumar // Cellulose. – 2020. – Vol. 27. – P. 4565–4589.

113. Zhang, B. Use of hydroxypropyl β-cyclodextrin as a dual functional component in xanthan hydrogel for sustained drug release and antibacterial activity / B. Zhang, J. Wang, Z. Li, S. Jia and X. Li // Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Aspects. – 2020. – Vol. 587. – P. 124368.

114. Suhail, M. Xanthan-gum/Pluronic F-127-based drug-loaded polymeric hydrogels synthesized by free radical polymerization technique for management of attention-deficit/hyperactivity disorder / M. Suhail, I. Chiu, Y. Lai, A. Khan, N. Al-Sowayan, H. Ullah and P. Wu // Gels. – 2023. – Vol. 9. – P. 640.

115. Meena, P. Fabrication and evaluation of stimuli-sensitive xanthan gum-based hydrogel as a potential carrier for a hydrophobic drug ibuprofen / P. Meena, P. Singh and S. Warkar // Colloid Polym. Sci. – 2023. – Vol. 302– P. 377–391.

116. Kang, M. Characterization of xanthan gum-based hydrogel with Fe^{3+} ions coordination and its reversible sol–gel conversion / M. Kang, O. Oderinde, S. Liu, Q. Huang, F. Yao and G. Fu // Carbohydr. Polym. – 2019. – Vol. 203. – P. 139–147.

117. Lacroce, E. Polymer-based thermoresponsive hydrogels for controlled drug delivery / E. Lacroce and F. Rossi // Expert Opin. Drug Deliv. – 2022. – Vol. 19. – P. 1203–1215.

118. Adelnia, H. Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: present, past and future / H. Adelnia, R. Ensandoost, S. Moonshi, J. Gavgani, E. Vasafi and H. Ta // Eur. Polym. J. – 2022. – Vol. 164 – P. 110974.

119. Jeong, J. New polyvinyl alcohol/succinoglycan-based hydrogels for pH-responsive drug delivery / J. Jeong, K. Kim, J. Kim, Y. Kim and S. Jung // Polymers. – 2023. – Vol. 15. – P. 3009.

120. Afshar, M. Preparation and characterization of sodium alginate/polyvinyl alcohol hydrogel containing drug-loaded chitosan nanoparticles as a drug delivery system / M. Afshar, G. Dini, S. Vaezifar, M. Mehdikhani and B. Movahedi // J. Drug Deliv. Sci. Technol. – 2020. – Vol. 56 – P. 101530.

121. Jafari, H. pH-sensitive biosystem based on laponite RD/chitosan/polyvinyl alcohol hydrogels for controlled delivery of curcumin to breast cancer cells / H. Jafari and H. Namazi // Colloids Surf. B Biointerfaces. – 2023. – Vol. 231. – P. 113585.

122. Suhail, M. Synthesis of glutamic acid/polyvinyl alcohol based hydrogels for controlled drug release: in vitro characterization and in vivo evaluation / M. Suhail, C. Shih, J. Liu, W. Hsieh, Y. Lin, I. Lin and P. Wu // J. Drug Deliv. Sci. Technol. – 2022. – Vol. 75 – P. 103715.

123. Ali, S. Sustained release of drug facilitated through chemically crosslinked polyvinyl alcohol–gelatin hydrogels: a sustainable biomedical approach / S. Ali, N. Ranjha, B. Ahmad, A. Khan, F. Hassan, T. Aziz, M. Alharbi, A. Alshammari, A. Alasmari and M. Alharbi // Pol. J. Chem. Technol. – 2023. – Vol. 25. – P. 56–65.

124. Yang, W. Polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels with enhanced antioxidant and antibacterial properties induced by lignin nanoparticles / W. Yang, E. Fortunati, F. Bertoglio, J. Owczarek, G. Bruni, M. Kozanecki, J. Kenny, L. Torre, L. Visai and D. Puglia // Carbohydr. Polym. – 2018. – Vol. 181. – P. 275–284.

125. Adepu, S. Controlled Drug Delivery Systems: Current Status and Future Directions / S. Adepu and S. Ramakrishna // Molecules. – 2021. – Vol. 26 – P. 5905.

126. Rybicki, M. Innovative Applications of Hydrogels in Contemporary Medicine / M. Rybicki, K. Czajkowska, A. Grochowska, B. Białas, M. Dziatosz, I. Karolczak, J. KotJ, R.A. Wach and K.K. Kłosiński // Gels. – 2025. – Vol. 11 – P. 798.

127. Weiser, J.R. Controlled Release for Local Delivery of Drugs: Barriers and Models/ J.R. Weiser and W.M. Saltzman // J Control Release. – 2014. – Vol. 190. – P. 664-673

128. Dong, Y. Data-Driven Modeling Methods and Techniques for Pharmaceutical Processes / Y. Dong, T. Yang, Y. Xing, J. Du, and Q. Meng // Processes. – 2023. – Vol. 11 – P. 2096.

129. Ozturk, S.S. Kinetics of Release from Enteric-Coated Tablets / S.S. Ozturk, B.O. Palsson, B. Donohoe and J.B. Dressman // Pharm. Res. – 1988. – Vol. 5. – P. 550–565.

130. Hintz, R.J. The effect of particle size distribution on dissolution rate and oral absorption/ R.J. Hintz and K.C. Johnson // Int. J. Pharm. – 1989. – Vol. 51. – P. 9–17.

131. Serra, L. Drug transport mechanisms and release kinetics from molecularly designed poly(acrylic acid-g-ethylene glycol) hydrogels / L. Serra, J. Domenech and N. Peppas // Biomaterials. – 2006. – Vol. 27. – P. 5440–5451.

132. Baek, J. Precisely programmable degradation and drug release profiles in triblock copolyether hydrogels with cleavable acetal pendants / J. Baek, N. Song, B. Yoo, D. Lee and B. Kim // J. Am. Chem. Soc. – 2024. – Vol. 146 – P. 13836-13845.

133. Pathan, S. Functionalized SBA-15 for controlled release of poorly soluble drug, Erythromycin / S. Pathan, P. Solanki, A. Patel // Microporous and Mesoporous Materials. – 2018. – Vol. 258 – P. 114–121.

134. Freitas, M.N. Nimesulide PLA microspheres as a potential sustained release system for the treatment of inflammatory diseases / M.N. Freitas and J.M. Marchetti // Int. J. Pharm. – 2005. – Vol. 295. – P. 201–211.

135. Silvina, A. In-Vitro Studies of Diclofenac Sodium Controlled-release from Biopolymeric Hydrophilic Matrices / A. Silvina, M. Bravo, C. Lamas and J. Claudio // J. Pharm. Pharm. Sci. – 2002. – Vol. 5. – P. 213–219.

136. Fu, Y. Drug Release Kinetics and Transport Mechanisms of Non-degradable and Degradable Polymeric Delivery Systems / Y. Fu, W.J. Kao // Expert Opin Drug Deliv. – 2010. – Vol. 7 – P. 429–444.

137. Grassi, M. Mathematical Modelling and Controlled Drug Delivery: Matrix Systems / M. Grassi and G. Grassi // Curr. Drug Deliv. – 2005. – Vol. 2. – P. 97–116.

138. Higuchi, T. Mechanism of Sustained-Action Medication. Theoretical Analysis of Rate of Release of Solid Drugs Dispersed in Solid Matrices / T. Higuchi // J. Pharm. Sci. – 1963. – Vol. 52. – P. 1145-1149.

139. Shoaib, H.M. Evaluation of drug release kinetics from ibuprofen matrix tablets using HPMC / H.M. Shoaib, J. Tazeen, A.H. Merchant and I.R. Yousuf // Pak. J. Pharm. Sci. – 2006. – Vol. 19. – P. 119–124.

140. Korsmeyer, R.W. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers / R.W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri and N.A. Peppas // Int. J. Pharm. – 1983. – Vol. 15. – P. 25–35.

141. Siepmann, J. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) / J. Siepmann and N.A. Peppas // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2001. – Vol. 48. – P. 139–157.

142. Ritger, P.L. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices / P.L. Ritger and N.A. Peppas // J. Control. Release. – 1987. – Vol. 5. – P. 37–42.

143. Stachowiak, M. Hybrid chitosan/molecularly imprinted polymer hydrogel beads doped with iron for selective ibuprofen adsorption / M. Stachowiak, M. Cegłowski and J. Kurczewska // Int. J. Biol. Macromol. – 2023. – Vol. 251 – P. 126356.

144. Li, H. Construction and characterization of sodium alginate/polyvinyl alcohol double-network hydrogel beads with surfactant-tailored adsorption capabilities for efficient tetracycline hydrochloride removal / H. Li, X. Chen, Y. Sun, H. Li, Z. Wang, S. Zhu, Z. Mao, G. Nan, Z. Wang, Y. Huang, S. Duan and C. Ren // Int. J. Biol. Macromol. – 2024. – Vol. 280 – P. 135879.

145. Stachowiak, M. Hybrid chitosan/molecularly imprinted polymer hydrogel beads doped with iron for selective ibuprofen adsorption / M. Stachowiak, M. Cegłowski and J. Kurczewska // Int. J. Biol. Macromol. – 2023. – Vol. 251 – P. 126356.

146. Godiya, C. Amine functionalized egg albumin hydrogel with enhanced adsorption potential for diclofenac sodium in water / C. Godiya, S. Kumar and Y. Xiao // J. Hazard. Mater. – 2020. – Vol. 393. – P. 122417.

147. Narayanaswamy, R. Hydrogels and their applications in targeted drug delivery / R. Narayanaswamy and V. Torchilin // Molecules. – 2019. – Vol. 24. – P. 603.

148. Escañuela-Copado, A. Diffusion and interaction effects on molecular release kinetics from collapsed microgels / A. Escañuela-Copado, J. López-Molina, M. Kanduč, A. Jódar-Reyes, M. Tirado-

Miranda, D. Bastos-González, J. Peula-García, I. Adroher-Benítez and A. Moncho-Jordá // ACS Appl. Polym. Mater. – 2024. – Vol. 6. – P. 8905–8917.

149. McKenzie, M. Hydrogel-based drug delivery systems for poorly water-soluble drugs / M. McKenzie, D. Betts, A. Suh, K. Bui, L. Kim and H. Cho // Molecules. – 2015. – Vol. 20. – P. 20397–20408.

150. Bordbar-Khiabani, A. Smart hydrogels for advanced drug delivery systems / A. Bordbar-Khiabani and M. Gasik // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23. – P. 3665.

151. Caccavo, D. Modeling the drug release from hydrogel-based matrices / D. Caccavo, S. Cascone, G. Lamberti and A. Barba // Mol. Pharmaceutics. – 2015. – Vol. 12. – P. 474–483.

152. Rao, H.R. Enhancing the mechanical properties of composite films adding granite powder for sustainable packaging solutions / H.R. Rao, D. Bandhu, M. Adin Ş, K.K. Saxena, K.M. Reddy, G.S. Kumar and P. Harishankar // Adv. Mater. Process Technol. – 2024. – P. 1–12.

153. Araújo, D. Exploring the drug-loading and release ability of FucoPol hydrogel membranes / D. Araújo, M. Martins and F. Freitas // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24. – P. 14591.

154. Bachmeier, B.E. The role of curcumin in prevention and management of metastatic disease / B.E. Bachmeier, P.H. Killian and D. Melchart // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 19. – P. 1716.

155. Jain, R. Novel UV spectrophotometer methods for quantitative estimation of metronidazole and furazolidone using mixed hydrotropy solubilization / R. Jain, N. Jain, D.K. Jain, R.H. Patel and S.K. Jain // Arab. J. Chem. – 2017. – Vol. 10. – P. 151–156.

156. Akhi, M.T. Comparison of E test and disk diffusion test for antibiotic resistance testing of enterotoxigenic and non-enterotoxigenic Bacteroides fragilis isolated from stools / M.T. Akhi, R. Ghotaslou, M. Shirinzadeh, T. Pirzadeh and M. Naghavi Behzad // Jundishapur J. Microbiol. – 2013. – Vol. 6 – P. e9800.

157. Stubhaug, T.T. Antimicrobial susceptibility testing of Bacteroides species by disk diffusion: The Nordic AST Bacteroides study / T.T. Stubhaug, C.G. Giske, U.S. Justesen, G. Kahlmeter, E. Matuschek, A. Sundsfjord and D. Skaare // Anaerobe. – 2023. – Vol. 81. – P. 102743.

158. Hua, S. pH-sensitive sodium alginate/poly(vinyl alcohol) hydrogel beads prepared by combined Ca^{2+} crosslinking and freeze–thawing cycles for controlled release of diclofenac sodium / S. Hua, H. Ma, X. Li, H. Yang and A. Wang // Int. J. Biol. Macromol. – 2010. – Vol. 46. – P. 517–523.

159. Bernal-Chávez, S. Cross-linked polyvinyl alcohol–xanthan gum hydrogel fabricated by freeze/thaw technique for potential application in soft tissue engineering / S. Bernal-Chávez, S. Alcalá-Alcalá, Y. Tapia-Guerrero, J. Magaña, M. Del Prado-Audelo and G. Leyva-Gómez // RSC Adv. – 2022. – Vol. 12. – P. 21713–21724.

160. Zhang, Q. Preparation of aloe polysaccharide/honey/PVA composite hydrogel: antibacterial activity and promoting wound healing / Q. Zhang, M. Zhang, T. Wang, X. Chen, Q. Li and X. Zhao // Int. J. Biol. Macromol. – 2022. – Vol. 211. – P. 249–258.

161. Chen, K. Preparation, optimization, and property of PVA–HA/PAA composite hydrogel / K. Chen, J. Liu, X. Yang and D. Zhang // Mater. Sci. Eng. C. – 2017. – Vol. 78. – P. 520–529.

162. Adin, H. Effect of particles on tensile and bending properties of jute epoxy composites / H. Adin and M.Ş. Adin // Mater. Test. – 2022. – Vol. 64. – P. 401–411.

163. Serbezeanu, D. Evaluation of poly(vinyl alcohol)–xanthan gum hydrogels loaded with neomycin sulfate as systems for drug delivery / D. Serbezeanu, M.M. Iftime, G.L. Ailiesei, A.M. Ipate, A. Bargan, T. Vlad-Bubulac and C.M. Rîmbu // Gels. – 2023. – Vol. 9. – P. 655.

164. Figueroa-Pizano, M.D. Effect of freeze–thawing conditions for preparation of chitosan poly(vinyl alcohol) hydrogels and drug release studies / M.D. Figueroa-Pizano, I. Vélaz, F.J. Peñas, P. Zavala-Rivera, A.J. Rosas-Durazo, A.D. Maldonado-Arce and M.E. Martínez-Barbosa // Carbohydr. Polym. – 2018. – Vol. 195. – P. 476–485.

165. Yang, X. Effects of PVA, agar contents, and irradiation doses on properties of PVA/ws-chitosan/glycerol hydrogels made by γ-irradiation followed by freeze–thawing / X. Yang, Z. Zhu, Q. Liu and X.M. Chen // Radiat. Phys. Chem. – 2008. – Vol. 77. – P. 954–960.

166. Ou, K. Properties and toughening mechanisms of PVA/PAM double-network hydrogels prepared by freeze–thawing and anneal-swelling / K. Ou, X. Dong, C. Qin, X. Ji and J. He // Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl. – 2017. – Vol. 77. – P. 1017–1026.

167. Mahamoud, M.M. Enhancement of Mechanical Properties of Benign Polyvinyl Alcohol/Agar Hydrogel by Crosslinking Tannic Acid and Applying Multiple Freeze/Thaw Cycles / M.M. Mahamoud, T.M. Ketema, Y. Kuwahara and M. Takafuji // Gels. – 2024. – Vol. 10 – P. 527.

168. Murphy, C.M. The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen-glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering / C.M. Murphy, M.G. Haugh and F.J. O'Brien // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31. – P. 461-466.

169. Choi, J.S. Novel neomycin sulfate-loaded hydrogel dressing with enhanced physical dressing properties and wound-curing effect / J.S. Choi, D.W. Kim, D.S. Kim, J.O. Kim, C.S. Yong, K.H. Cho, Y.S. Youn, S.G. Jin and H.G. Choi // Drug Deliv. – 2016. – Vol. 23. – P. 2806–2812.

170. Bercea, M. Hybrid hydrogels for neomycin delivery: synergistic effects of natural/synthetic polymers and proteins / M. Bercea, I.A. Plugariu, L.M. Gradinaru, M. Avadanei, F. Doroftei and V.R. Gradinaru // Polymers. – 2023. – Vol. 15. – P. 630.

171. Ibrahim, A.G. Methylene blue uptake by gum arabic/acrylic amide/3-allyloxy-2-hydroxy-1-propanesulfonic acid sodium salt semi-IPN hydrogel / A.G. Ibrahim, A.M. Elkony and S.M. El-Bahy // Int. J. Biol. Macromol. – 2021. – Vol. 186. – P. 268–277.

172. Gamboa, J. Biodegradable conducting PVA-hydrogel based on carbon quantum dots: study of the synergistic effect of additives / J. Gamboa, S. Paulo-Mirasol, A. Espona-Noguera, H. Enshaei, S. Ortiz, F. Estrany, M.P. Ginebra and J. Torras // J. Polym. Environ. – 2024. – Vol. 32. – P. 3609–3626.

173. Malik, N.S. Chitosan/xanthan gum based hydrogels as potential carrier for an antiviral drug: fabrication, characterization, and safety evaluation / N.S. Malik, M. Ahmad, M.U. Minhas, R. Tulain, K. Barkat, I. Khalid and Q. Khalid // Front. Chem. – 2020. – Vol. 8. – P. 50.

174. Baghali, M. Effect of glycerol content in gelatin/glycerol composite films loaded with erythromycin / M. Baghali, H. Ziyadi, S. Ramakrishna, A. Chernova and A. Di Martino // Polym. Sci. Ser. A. – 2023. – Vol. 65. – P. 714–724.

175. Rastogi, V. Mathematical prediction of pharmacokinetic parameters: an in vitro approach for investigating pharmaceutical products for IVIVC / V. Rastogi, P. Yadav, N. Lal, P. Rastogi and B.K. Singh // J. Pharm. Sci. – 2018. – Vol. 4. – P. 175–184.

176. Pal, K. Preparation and characterization of poly(vinyl alcohol)–gelatin hydrogel membranes for biomedical applications / K. Pal, K.A. Banthia and K.D. Majumdar // AAPS PharmSciTech. – 2007. – Vol. 8. – P. 142–145.

177. Saleem, M. Simple preparation and characterization of nano-crystalline zinc oxide thin films by sol–gel method on glass substrate / M. Saleem, L. Fang, A. Wakeel, M. Rashad and C.Y. Kong // World J. Condens. Matter Phys. – 2012. – Vol. 2. – P. 10–15.

178. Kandulna, R. Concentration-dependent behaviors of ZnO-reinforced PVA–ZnO nanocomposites as electron transport materials for OLED application / R. Kandulna and R.B. Choudhary // Polym. Bull. – 2018. – Vol. 75. – P. 3089–3107.

179. Kiel, S. Forming nanoparticles of water-soluble ionic molecules and embedding them into polymer and glass substrates / S. Kiel, O. Grinberg, N. Perkas, J. Charmet, H. Kepner and A. Gedanken // Beilstein J. Nanotechnol. – 2012. – Vol. 3. – P. 267–276.

180. Ilić-Stojanović, S. Biomedical applications of thermosensitive hydrogels for controlled/modulated piroxicam delivery / S. Ilić-Stojanović, L. Nikolić, V. Nikolić, I. Ristić, S. Cakić and S.D. Petrović // Gels. – 2023. – Vol. 9. – P. 70.

181. Pa'e, N. Thermal behavior of bacterial cellulose based hydrogels with other composites and related instrumental analysis / N. Pa'e, M.H. Salehudin, N.D. Hassan, A.M. Marsin and I.I. Muhamad // Book. – 2018. – P. 1–25.

182. Ilić-Stojanović, S. The structure characterization of thermosensitive poly(N-isopropyl acrylamide-co-2-hydroxypropyl methacrylate) hydrogel / S. Ilić-Stojanović, L. Nikolić, V. Nikolić, I. Ristić, J. Budinski Simendić, A. Kapor and G.M. Nikolić // Polym. Int. – 2014. – Vol. 63. – P. 973–981.

183. Pan, Y. Study on compressive mechanical properties of nanohydroxyapatite reinforced poly(vinyl alcohol) gel composites as biomaterial / Y. Pan and D. Xiong // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2009. – Vol. 20. – P. 1291–1297.

184. Zhang, Q. Synthesis and performance characterization of poly(vinyl alcohol)–xanthan gum composite hydrogel / Q. Zhang, X.M. Hu, M.Y. Wu, M.M. Wang, Y.Y. Zhao and T.T. Li // React. Funct. Polym. – 2019. – Vol. 136. – P. 34–43.

185. Thang, N.H. Polymer-based hydrogels applied in drug delivery: an overview / N.H. Thang, T.B. Chien and D.X. Cuong // Gels. – 2023. – Vol. 9. – P. 523.

186. Unagolla, J.M. Drug transport mechanisms and in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan–alginate polyelectrolyte microparticles as a controlled drug delivery system / J.M. Unagolla and A.C. Jayasuriya // Eur. J. Pharm. Sci. – 2018. – Vol. 114. – P. 199–209.

187. Kumar, G. Concentration-dependent diffusion of monoclonal antibodies: underlying mechanisms of anomalous diffusion / G. Kumar and A. Ardekani // Mol. Pharmaceutics. – 2024. – Vol. 21 – P. 2212-2222.

188. Guo, Z. Contaminant transport in heterogeneous aquifers: a critical review of mechanisms and numerical methods of non-Fickian dispersion / Z. Guo, R. …, Y. Zhang and C. Zheng // Sci. China Earth Sci. – 2021. – Vol. 64. – P. 1224–1241.

189. Chrystal, E.J. Relationship between metronidazole metabolism and bactericidal activity / E.J. Chrystal, R.L. Koch, M.A. McLafferty and P. Goldman // Antimicrob. Agents Chemother. – 1980. – Vol. 18. – P. 566–573.

190. Dingsdag, S.A. Metronidazole: an update on metabolism, structure–cytotoxicity and resistance mechanisms / S.A. Dingsdag and N. Hunter // J. Antimicrob. Chemother. – 2018. – Vol. 73. – P. 265–279.

191. Paolicelli, P. Effect of glycerol on the physical and mechanical properties of thin gellan gum films for oral drug delivery / P. Paolicelli, S. Petralito, G. Varani, M. Nardoni, S. Pacelli, L. Di Muzio, J. Tirillò, C. Bartuli, S. Cesa, M.A. Casadei, A. Adrover // International Journal of Pharmaceutics. – 2018. – Vol. 547. – P. 226–234.

192. Pereira, R. Development of novel alginate based hydrogel films for wound healing applications / R. Pereira, A. Carvalho, D.C. Vaz, M.H. Gil, A. Mendes, P. Bártolo // International Journal of Biological Macromolecules. – 2013. – Vol. 52. – P. 221–230.

193. Sakthiguru, N. Fabrication of bioinspired chitosan/gelatin/allantoin biocomposite film for wound dressing application / N. Sakthiguru, M.A. Sithique // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Vol. 152. – P. 873–883.

194. Islam, H.B.M.Z. Effects of Plasticizers and Clays on the Physical, Chemical, Mechanical, Thermal, and Morphological Properties of Potato Starch-Based Nanocomposite Films / H.B.M.Z. Islam, Md.A.B.H. Susan, A.B. Imran // ACS Omega. – 2020. – Vol. 5. – P. 17543 –17552.

195. Safety Data Sheet (SDS) of Glycerin Provided by the Manufacturer. Available online: http://www.poch.com.pl/1/wysw/msds_ clp.php?A=549800db5e6d5db70001 (accessed on 5 July 2021).

196. Izzo, D. Chitosan scaffolds for cartilage regeneration: influence of different ionic crosslinkers on biomaterial properties / D. Izzo, B. Palazzo, F. Scalera, F. Gullotta, V. lapesa, S. Scialla, A. Sannino, F. Gervaso // International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials. – 2018. – Vol. 936. – P. 936–945.

197. Vogler, E.A. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces / E.A. Vogler // Advances in Colloid and Interface Science. – 1998. – Vol. 74. – P. 69–117.

198. Pulla-Huillca, P.V. Wettability of gelatin-based films: The effects of hydrophilic or hydrophobic plasticizers and nanoparticle loads / P.V. Pulla-Huillca, A. Gomes, A.M. Quinta Barbosa Bittante, R.V. Lourenço, P.J. do A. Sobral // Journal of Food Engineering. – 2021. – Vol. 297. – P. 110480.

199. Farris, S. Wetting of Biopolymer Coatings: Contact Angle Kinetics and Image Analysis Investigation / S. Farris, L. Introzzi, P. Biagioni, T. Holz, A. Schiraldi, L. Piergiovanni // Langmuir. – 2011. – Vol. 27. – P. 7563–7574.

200. Coronado Jorge, M.F. Biodegradable Films Based on Gelatin and Montmorillonite Produced by Spreading / M.F. Coronado Jorge, E.M.C. Alexandre, C.H. Caicedo Flaker, A.M.Q.B. Bittante, P.J. do A. Sobral // International Journal of Polymer Science. – 2015. – Vol. 1.

201. Zhang, D. Investigation of the thermal decomposition mechanism of glycerol: the combination of a theoretical study based on the Minnesota functional and experimental support / D. Zhang, Y. Cao, P. Zhang, J. Liang, K. Xue, Y. Xia, Z. Qi // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2021. – Vol. 23. – P. 20466 –20477.

202. Alpaslan, D. Synthesis and characterization of novel organo-hydrogel based agar, glycerol and peppermint oil as a natural drug carrier/release material / D. Alpaslan, T.E. Dudu, N. Aktaş // Materials Science and Engineering. – 2021. – Vol. 118. – P. 111534.

203. Ran, J. Preparation and characterization of gelatin/hydroxyapatite nanocomposite for bone tissue engineering / J. Ran, J. Hu, L. Chen, X. Shen, H. Tong // Polymer Composites. – 2017. – Vol. 38. – P. 1579 –1590.

204. Fathollahipour, S. Electrospinning of PVA/chitosan nanocomposite nanofibers containing gelatin nanoparticles as a dual drug delivery system / S. Fathollahipour, A. Abouei Mehrizi, A. Ghaee, M. Koosha // Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2015. – Vol. 103. – P. 3852 –3862.

205. Darbasizadeh, B. Crosslinked-polyvinyl alcohol-carboxymethyl cellulose/ZnO nanocomposite fibrous mats containing erythromycin (PVA-CMC/ZnO-EM): Fabrication, characterization and in-vitro release and anti-bacterial properties / B. Darbasizadeh, Y. Fatahi, B. Feyzi-barnaji, M. Arabi, H. Motasadizadeh, H. Farhadnejad, F. Moraffah, N. Rabiee // International Journal of Biological Macromolecules. – 2019. – Vol. 141. – P. 1137 –1146.

206. Nagaraja, A. A review on various maleic anhydride antimicrobial polymers/ A. Nagaraja, M.D. Jalageri, Y.M. Puttaiahgowda, K. Raghava Reddy, A.V. Raghu // Journal of Microbiological Methods. – 2019. – Vol. 163. – P. 105650.

207. Hassanzadeh, A. Mechanism for the Degradation of Erythromycin A and Erythromycin A 2‘-Ethyl Succinate in Acidic Aqueous Solution / A. Hassanzadeh, J. Barber, G.A. Morris, P.A. Gorry // The Journal of Physical Chemistry A. – 2007. – Vol. 111. – P. 10098 –10104.