

**КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ХИТОЗАНА
И ГЛУТАРОВОГО АЛЬДЕГИДА ДЛЯ ЭМБОЛИЗАЦИИ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ**

П.Е. Игнатьева¹, Е.С. Жаворонок¹, О.А. Легонькова², С.А. Кедик¹

¹МИРЭА – Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова), Москва 119571, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского, Москва 117997, Россия

@Автор для переписки, e-mail: ignateva.polly@mail.ru

Статья посвящена исследованию водных растворов пищевого хитозана и глутарового альдегида с целью определения возможности их использования в качестве компонентов эмболизирующего состава. На основании экспериментально полученных кривых течения и вязкостно-скоростных кривых показано, что исследуемые растворы имеют низкую вязкость и проявляют ньютоновское поведение при течении. В рамках уравнения Аррениуса–Френкеля–Эйринга в диапазоне температур 25–37 °С оценена энергия активации вязкого течения растворов, которая изменяется в узких пределах 17–24 кДж/моль. При смешении водных растворов пищевого хитозана и глутарового альдегида происходит химическое взаимодействие растворенных веществ, сопровождающееся повышением вязкости и образованием ковалентно сшитого сетчатого геля. С использованием простого экспоненциального уравнения рассчитаны эффективные константы скорости химического процесса, которые изменяются в широком диапазоне $1.9\text{--}82.7 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$. Эти значения могут быть использованы при выборе оптимальной области соотношений пищевого хитозана и глутарового альдегида, а также концентраций их водных растворов для создания эмболизирующих агентов. Определен состав композиции, при котором формирование геля происходит в течение 40 с. Данные дифференциальной сканирующей калориметрии свидетельствуют о незначительности теплового эффекта реакции между пищевым хитозаном и глутаровым альдегидом в водной среде, что обеспечивает отсутствие термического ожога при формировании эмбола в кровеносном сосуде *in situ*. В результате работы получены твердые эластичные гели, пригодные для использования в качестве эмболизирующих агентов.

Ключевые слова: эмболизация, эмболизирующий агент, вязкость, термореактивная система, хитозан, глутаровый альдегид, водный раствор.

COMPOSITIONS BASED ON AQUEOUS SOLUTIONS OF CHITOSAN AND GLUTAR ALDEHYDE FOR EMBOLIZATION OF BLOOD VESSELS

P.E. Ignatieva¹, E.S. Zhavoronok¹, O.A. Legonkova², S.A. Kedik¹

¹MIREA – Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow 119571 Russia

²A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow 117997, Russia

@Corresponding author e-mail: ignateva.polly@mail.ru

The article investigates the aqueous solutions of food chitosan and glutaraldehyde to determine the feasibility of their use as components of an embolizing composition. It was shown on the basis of experimental flow curves, viscosity and velocity curves that test solutions have low viscosity and exhibit Newtonian flow behavior. The activation energy of viscous flow of the fluids was estimated in the temperature range of 25-37 °C within the Arrhenius – Frenkel – Eyring equation. It varies within a narrow range: 17-24 kJ/mol. When mixing the aqueous solutions of food chitosan and glutaraldehyde, chemical interaction of the solutes occurs. It is accompanied by an increase in viscosity and formation of a covalently crosslinked gel. Using a simple exponential equation the effective rate constant of the chemical process was calculated. It varies in a wide range: $1.9\text{--}82.7 \cdot 10^3$ 1/s. These values can be used when selecting an optimal region of food chitosan-glutaraldehyde ratios and concentrations of their aqueous solutions to generate embolizing agents. The conditions at which gel formation takes place over forty seconds were determined. Differential scanning calorimetry indicated a negligible thermal effect of food chitosan reaction with glutaraldehyde in the aqueous medium, which ensures no thermal burn during the formation of an embolus in the blood vessel *in situ*. As a result of the work elastic solid gels suitable for use as embolizing agents were obtained.

Keywords: embolization, embolizing agent, viscosity, thermosetting system, chitosan, glutaraldehyde, aqueous solution.

Введение

Эмболизация – хирургический метод, заключающийся в преднамеренной закупорке (окклюзии) одного или нескольких кровеносных сосудов [1–3]. Эмболизация актуальна при терапии аневризм, ангиодисплазий, миомы матки, раковых заболеваний различной этиологии, травм с сильным кровотечением, а также в случае предоперационной подготовки пациента [1]. При выполнении эмболизации с помощью катетера в кровеносный сосуд вводят различные по природе, составу и структуре твердые или жидкие вещества, которые образуют плотный тромб, мешая свободному кровотоку.

Самые первые материалы, которые были использованы с целью окклюзии – это фрагменты мышечной ткани, гранулы из нержавеющей стали и гемостатические губки [4]. Однако в связи с повышением требований к лечению различных патологий в настоящее время расширяется ассортимент материалов на основе растворов полимеров и сополимеров [4]. Стоит отметить, что жидкие эмболизирующие агенты, формирующие твердый эмбол в кровеносном сосуде *in situ*, обладают рядом преимуществ по сравнению с твердыми механическими агентами. В то же время большинство используемых в настоящее время жидких агентов содержит токсичные вещества, которые могут вызвать нежелательные побочные эффекты и причинить вред организму человека [5]. Этого недостатка могут быть лишены жидкие эмболизирующие агенты на водной основе, разработка которых является актуальной задачей. Одним из перспективных вариантов такого рода материалов могут быть терморезистивные системы, состоящие из водных растворов хитозана и глутарового альдегида. Хитозан представляет собой доступный полимер биологического происхождения, который обладает

противовоспалительной, антимикробной и противогрибковой активностью [6], а образование из него химически сшитых структур под действием глутарового альдегида должно привести к формированию нерастворимого в воде биологически совместимого густка. Таким образом, целью данной работы было исследование возможности применения водных растворов хитозана и глутарового альдегида для создания эмболизирующих составов.

Экспериментальная часть

В работе использовали водорастворимый пищевой хитозан (ПХ) с молекулярной массой от 1 до 30 кДа и степенью деацетилирования 75–95% («Биопрогресс», Россия), глутаровый альдегид (ГА) квалификации «тех.» (Sigma-Aldrich, США) и дистиллированную воду.

Динамическую вязкость водных растворов хитозана и глутарового альдегида определяли на ротационном реовискзиметре Brookfield DV2TLV (рабочий узел SC4-18) при температурах 25 и 37 °C в диапазоне скоростей сдвига 120–250 с⁻¹, соответствующих технологическому режиму переработки растворов полимеров. При исследовании химического взаимодействия между хитозаном и глутаровым альдегидом, их водные растворы соединяли в рабочем узле вискозиметра и сразу начинали измерения при 25 °C до загустевания образца. Термограммы ДСК (дифференциальная сканирующая калориметрия) смесей хитозана и глутарового альдегида получали на приборе DSC 204F1 Phoenix 240-12-0070 L в изотермическом режиме при 37 °C в токе аргона. Образцы для ДСК готовили путем смешения водных растворов компонентов в течение 5 с с помощью магнитной мешалки, после чего образец быстро переносили в тигель, который помещали в рабочую ячейку прибора.

Результаты и их обсуждение

При эмболизации кровеносных сосудов большое значение имеет вязкость вводимого агента, которая не должна превышать определенных значений, зависящих от диаметра катетера и способа введения.

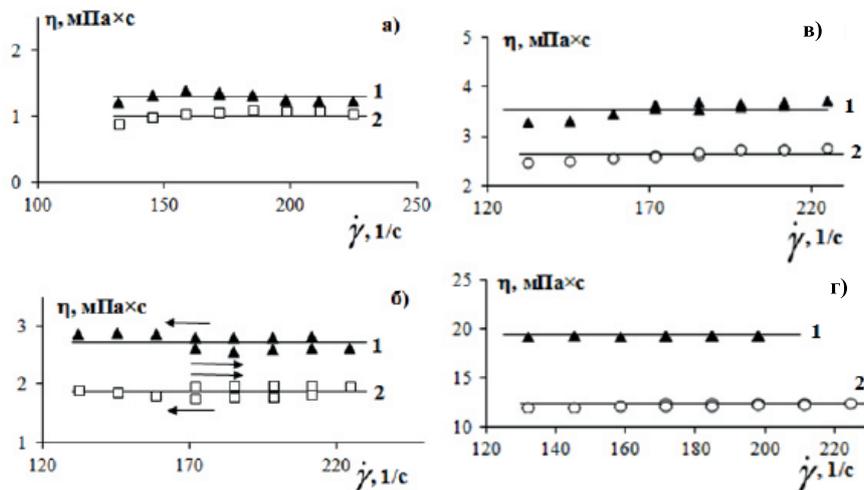


Рис. 1. Типичные вязкостно-скоростные кривые водных растворов глутарового альдегида с концентрацией 5% (а), 25% (б) и пищевого хитозана с концентрацией 2% (в), 5% (г) при температурах 25 °С (1) и 37 °С (2).

Анализ результатов, полученных при разных температурах, позволяет в первом приближении оценить энергию активации вязкого течения исследованных растворов по уравнению Аррениуса–Френкеля–Эйринга (1):

$$\ln \eta = \ln A - \frac{E_{акт}}{RT} \quad (1)$$

где η – коэффициент динамической вязкости, A – предэкспоненциальный множитель, $E_{акт}$ – энергия активации вязкого течения, R – универсальная газовая постоянная, T – температура.

Значения энергии активации вязкого течения водных растворов хитозана и глутарового альдегида приведены в табл. 1. Из нее видно, что с увеличением концентрации растворов энергия активации вязкого течения возрастает, то есть течение растворов осложняется.

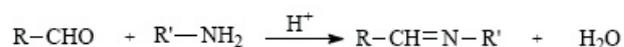
Водные растворы хитозана и глутарового альдегида представляют собой химически стабильные

Таблица 1. Энергия активации вязкого течения водных растворов ПХ и ГА

| Соединение | Концентрация раствора, мас. % | $E_{акт}$, кДж/моль |
|---------------------|-------------------------------|----------------------|
| Пищевой хитозан | 2 | 19 |
| | 5 | 20 |
| | 7 | 21 |
| Глутаровый альдегид | 5 | 17 |
| | 25 | 24 |

Поэтому прежде всего были исследованы реовискозиметрические свойства водных растворов хитозана и глутарового альдегида. Экспериментально полученные кривые течения и вязкостно-скоростные кривые свидетельствуют о достаточно низкой вязкости и практически ньютоновском поведении исследуемых растворов.

Однако при их смешении происходит химическое взаимодействие по типу конденсации, с образованием оснований Шиффа [7–10]:



Так как хитозан является аминополисахаридом и содержит множество аминогрупп в макромолекуле, а глутаровый альдегид имеет две альдегидные группы, то в результате химической реакции происходит образование связей между ними и пространственное сшивание с образованием твердого сетчатого эмбола. Этот процесс можно контролировать методом реовискозиметрии [11, 12].

Экспериментальные реокинетические кривые (рис. 2) отображают нарастание вязкости по мере протекания химического взаимодействия хитозана и глутарового альдегида после смешения их водных растворов. Они имеют традиционный вид: вязкость системы закономерно возрастает со временем протекания процесса. Согласно [11, 12], они подобны реокинетическим зависимостям для образования большинства термореактивных полимерных систем, не осложненного дополнительными процессами – например, фазовым разделением.

Из этих зависимостей видно, что соотношение ПХ:ГА оказывает большое влияние на закономерности процесса, поэтому реокинетический метод может быть использован как базовый инструмент для подбора и оптимизации соотношения компонентов в эмболизирующем составе, а также условий эмболизации.

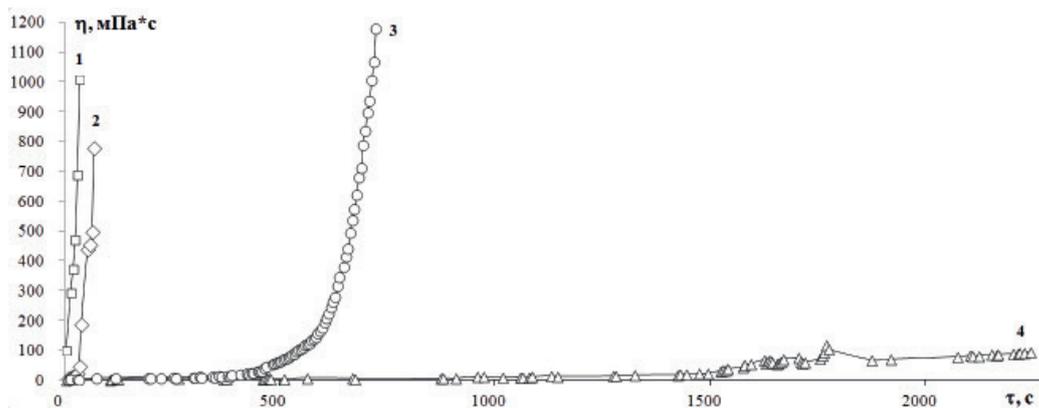


Рис. 2. Зависимости вязкости от времени формирования эмбола для различных соотношений пищевого хитозана и глутарового альдегида (ПХ:ГА, мас.ч.): 3:1 (1), 1:1 (2), 0.24:1, 1:3 (4).

Зависимости (рис. 2) можно аппроксимировать простым экспоненциальным уравнением [11, 12]:

$$\ln \eta = \ln \eta_0 - k\tau \quad (2)$$

где η_0 – начальная вязкость, η – вязкость, k – константа скорости нарастания вязкости, τ – время.

В координатах этого уравнения полученные экспериментальные зависимости являются прямыми (рис. 3), что позволяет рассчитать константу k , характеризующую скорость нарастания вязкости. Анализ значений полученных констант k (табл. 2) показывает, что чем больше хитозана приходится на одну часть глутарового альдегида, тем быстрее протекает реакция и происходит гелеобразование.

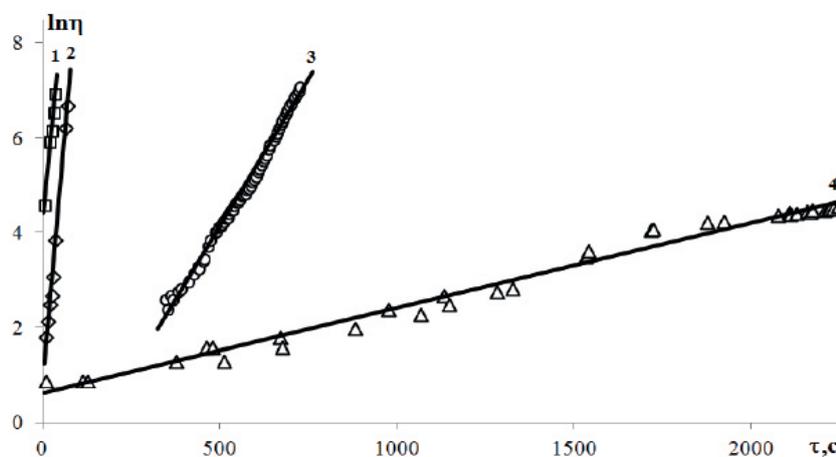


Рис. 3. Полулогарифмические анаморфозы экспериментальных зависимостей вязкости от времени формирования эмбола для различных соотношений ПХ и ГА (ПХ:ГА, мас.ч.): 3:1 (1); 1:1 (2); 0.24:1 (3); 1:3 (4).

Таблица 2. Влияние концентрации водных растворов ПХ и ГА и их соотношения на скорость нарастания вязкости

| № | Концентрация водного раствора ПХ, мас. % | Концентрация водного раствора ГА, мас. % | Соотношение ПХ:ГА, об.ч. | Соотношение ПХ:ГА, мас.ч. | Константа скорости k , с ⁻¹ |
|---|--|--|--------------------------|---------------------------|--|
| 1 | 5 | 5 | 3:1 | 3:1 | 0.0776 |
| 2 | 5 | 5 | 1:1 | 1:1 | 0.0827 |
| 3 | 2 | 25 | 1:3 | 0.24:1 | 0.0089 |
| 4 | 5 | 5 | 1:3 | 1:3 | 0.0019 |

Результатом образования геля является твердый, весьма эластичный сгусток (рис. 4). Полученные данные позволяют подобрать такой состав эмболизирующего агента, при котором формирование геля происходит в течение 40 с (рис. 2, образец № 1). Для предотвращения образования геля в оборудовании

для введения эмболизирующего агента, до его попадания в кровеносный сосуд, следует использовать специальные двухпросветные катетеры, в которых введение растворов хитозана и глутарового альдегида происходит отдельно, а их смешение осуществляется незадолго до выхода в кровеносный сосуд.



Рис. 4. Вид геля, полученного смешением водных растворов ПХ и ГА.

Протекание химических процессов может сопровождаться выраженным выделением или поглощением тепла. Резкое изменение температуры геля может повредить биологические ткани, в частности – стенки кровеносного сосуда. Поэтому мы исследовали тепловой эффект химического взаимодействия глутарового альдегида с хитозаном.

Полученные для этих систем термограммы ДСК, вид которых приведен на рис. 5, свидетельствуют о незначительности тепловых эффектов для данных систем. Таким образом, образование гелеобразного эмбола не приведет к нагреву области введения и не повредит стенки кровеносного сосуда за счет термического ожога.

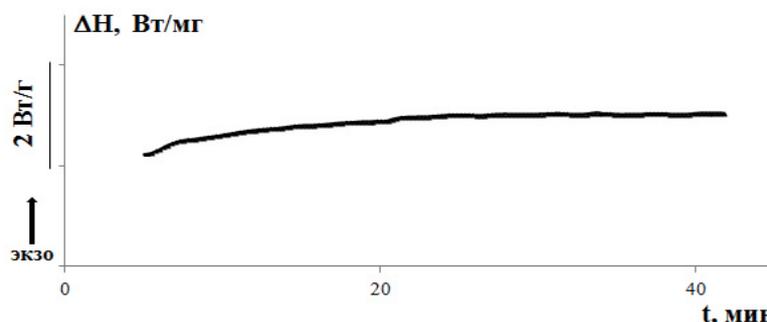


Рис. 5. Типичная ДСК-термограмма термореактивной системы ПХ–ГА.

Выводы

Методами реовискозиметрии и дифференциальной сканирующей калориметрии исследованы водные растворы пищевого хитозана и глутарового альдегида по отдельности, а также после их смешения. Низкая вяз-

кость и отсутствие теплового эффекта при формировании сшитого эмбола позволяет рекомендовать системы на их основе в качестве эмболизирующих агентов кровеносных сосудов. С использованием результатов реокимических исследований подобран состав композиции, при котором образование эмбола происходит за 40 с.

Список литературы:

1. Varghese K., Adhyapak S. Therapeutic Embolization. Bangalore, 2017. 133 p.
2. Chabrot P., Boyer L. Embolization. Springer, 2013. 472 p.
3. Дан В.Н., Сапелкин С.В. Ангиодисплазии (врожденные пороки развития сосудов). М.: Вердана, 2008. 200 с.
4. Кедик С.А., Суслов В.В., Малкова А.П., Шняк Е.А., Домнина Ю.М. Гелеобразующие полимеры для создания жидких эмболизаторов // Разработка и ре-

References:

1. Varghese K., Adhyapak S. Therapeutic Embolization. Bangalore, 2017. 133 p.
2. Chabrot P., Boyer L. Embolization. Springer, 2013. 472 p.
3. Dan V.N., Sapelkin S.V. Angiodysplasia (congenital vascular malformations). Moscow: Verdana Publ., 2008. 200 p. (in Russ.)
4. Kedik S.A., Suslov V.V., Malkov A.P., Shnyak E.A., Domnina Yu.M. Gelling polymers to create a liquid embolic agents. *Razrabotka i registratsiya*

гистрация лекарственных средств. 2017. № 4 (21). С. 38–45.

5. Дан В.Н., Сапелкин С.В., Легонькова О.А., Цыганков В.Н., Варава А.Б., Кедик С.А., Жаворонок Е.С., Панов А.В. Материалы и методы эндоваскулярного лечения артериовенозных мальформаций: возможности и проблемы // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. Медицинская химия. 2016. № 7. С. 49–51.

6. Левитин С.В. Разработка методов получения и исследование структуры и свойств наночастиц хитозана: дис. ... канд. техн. наук. Москва, 2015. 150 с.

7. Апяри В.В. Новые подходы в анализе методами оптической молекулярной абсорбционной спектроскопии с использованием гетерогенных аналитических систем: дис. ... д-ра хим. наук. М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2016. 391 с.

8. Чернышова Е.Б., Тужиков О.И., Невестенко М.А., Березин А.С., Юдин В.Е., Добровольская И.П. Исследование модификации хитозана низкомолекулярными и полимерными альдегидами // Известия ВолгГТУ, серия Химия и технология элементоорганических мономеров и полимерных материалов. 2015. № 7 (164). С. 125–129.

9. Кильдеева Н.Р., Перминов П.А., Владимиров Л.В., Новиков В.В., Михайлов С.Н. О механизме реакции глутарового альдегида с хитозаном // Биоорганическая химия. 2009. Т. 35. № 3. С. 397–407.

10. Bhattarai N., Gunn J., Zhang M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010. V. 62. P. 83–99.

11. Малкин А.Я., Куличихин С.Г. Реология в процессах образования и превращения полимеров. М.: Химия. 1985. 240 с.

12. Малкин А.Я., Исаев А.И. Реология: концепции, методы, приложения. СПб.: Профессия. 2007. 560 с.

lekarstvennykh sredstv (Development and Registration of Medicines). 2017; 4(21): 38-45. (in Russ.)

5. Dan V.N., Sapelkin S.V., Legonkova O.A., Tsygankov V.N., Varava A.B., Kedik S.A., Lark E.S., Panov A.V. Materials and methods of endovascular treatment of arteriovenous malformations: Opportunities and challenges. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii. Meditsinskaya khimiya* (Questions of Biological, Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. Medicinal Chemistry). 2016; 7: 49-51. (in Russ.)

6. Levitin S.V. Development of methods for preparation and study of the structure and properties of the chitosan nanoparticles: Ph.D. (Eng.) thesis. Moscow, 2015. 150 p. (in Russ.)

7. Apyari V.V. New approaches to molecular analysis by optical absorption spectroscopy using analytical heterogeneous systems: D.Sc. (Chem.) thesis. Moscow, 2016. 391 p. (in Russ.)

8. Chernyshova E.B., Tuzhikov O.I., Nevstenko M.A., Berezin A.S., Yudin V.E., Dobrovolskaya I.P. Study of chitosan modification by low molecular weight and polymeric aldehydes. *Izvestiya VolgGTU, seriya Khimiya i tekhnologiya elementoorganicheskikh monomerov i polimernykh materialov* (News of VolgGTU, series Chemistry and Technology of Organometallic Monomers and Polymeric Materials). 2015; 7(164): 125-129. (in Russ.)

9. Kil'deyeva N.R., Perminov P.A., Vladimirov L.V., Novikov V.V., Mikhaylov S.N. About mechanism of chitosan cross-linking with glutaraldehyde. *Russ. J. Bioorganic Chemistry*. 2009; 35(3): 360-369.

10. Bhattarai N., Gunn J., Zhang M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010; 62: 83-99.

11. Malkin A.Ya., Kulichikhin S.G. Rheology in the processes of formation and transformation of polymers. Moscow: Khimiya Publ., 1985. 240 p. (in Russ.)

12. Malkin A.Ya., Isayev A.I. Rheology: concepts, methods, and applications. Saint-Petersburg: Professiya Publ., 2007. 560 p. (in Russ.)

Об авторах:

Игнатьева Полина Евгеньевна, студент кафедры биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86).

Жаворонок Елена Сергеевна, кандидат химических наук, доцент кафедры биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86).

Легонькова Ольга Александровна, доктор технических наук, руководитель отдела перевязочных, шовных и полимерных материалов в хирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации (117997, Россия, Москва, ул. Большая Серпуховская, д. 27).

Кедик Станислав Анатольевич, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86).

About the authors:

Polina E. Ignatieva, Student of the Chair of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia).

Elena S. Zhavoronok, Ph.D. (Chemistry), Associate Professor of the Chair of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia).

Olga A. Legonkova, Head of the Department of Dressings, Suture and Polymer Materials in Surgery, A.V. Vishnevskiy National Medical Research Center of Surgery of the Ministry of Health of the Russian Federation (27, Bolshaya Serpukhovskaya st., Moscow, 117997, Russia).

Stanislav A. Kedik, D.Sc. (Engineering), Professor, Head of the Chair of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia).

Для цитирования: Игнатъева П.Е., Жаворонок Е.С., Легонькова О.А., Кедик С.А. Композиции на основе водных растворов хитозана и глутарового альдегида для эмболизации кровеносных сосудов // Тонкие химические технологии / Fine Chemical Technologies. 2019. Т. 14. № 1. С. 25–31. DOI: 10.32362/2410-6593-2019-14-1-25-31

For citation: Ignatieva P.E., Zhavoronok E.S., Legonkova O.A., Kedik S.A. Compositions based on aqueous solutions of chitosan and glutaraldehyde for embolization of blood vessels. *Tonkie khimicheskie tekhnologii / Fine Chemical Technologies*. 2019; 14(1): 25-31. (in Russ.). DOI: 10.32362/2410-6593-2019-14-1-25-31