

Список литературы:

1. Антонов А.С. Гигантский магнитоимпеданс в аморфных нанокристаллических мультислоях / Гадецкий С.Н., Грановский А. В. , Дьячков А. Л. , Парамонов В. П. , Перов Н. С. , Прокошин А. Ф. , Усов Н. А. , Лагарьков А. Н. // ФММ.– 1997.– Т. 83, № 6.– С. 61–71.
2. Курляндская Г.В., Де Кос Д., Волчков С.О. Магниточувствительные преобразователи для неразрушающего контроля, работающие на основе гигантского магнитоимпедансного эффекта (обзор) // Дефектоскопия.–2009.– Номер 6.–С. 13-42.
3. Шкляр Т.Ф. Особенности ультразвуковой локации суспензий наночастиц оксида алюминия в биологических среда / Шкляр Т.Ф., Дьячкова Е.П., Динисламова О.А., Сафронов А.П., Лейман Д.В., Бляхман Ф.А. // Российские Нанотехнологии. – 2013. – Т. 8, Номер 3-4. – С. 95-100.
4. ГОСТ 8030-80. Иглы для шитья вручную. Технические условия. – Введ. 1981-07-01. – М.: Изд-во стандартов, 1987. – 20 с.
5. Barandiaran J.M. Multilayer magnetoimpedance sensor for nondestructive testing / Barandiaran J.M., Kurlyandskaya G.V., De Cos D., García-Arribas A., Vas'kovskiy V.O. // Sensor Letters.– 2009.– V. 7, I. 3.– P. 374-377.
6. Magnetic Nanoparticles in Biosensing and Medicine / Editors Nicholas J. Darton, Adrian Ionescu, Justin Llandro.– Cambridge University Press, 2019.– P. 295.
7. Kurlyandskaya G.V. Giant magnetoimpedance biosensor for ferrogel detection: Model system to evaluate properties of natural tissue / Kurlyandskaya G.V., Fernández E., Safronov A.P., Svalov A.V., Beketov I., Burgoa Beitia A., García-Arribas A., Blyakhman F.A. // Appl. Phys. Lett.– 2015.– V.106.– P.193702.
8. Nakayama S. Pulse-driven magnetoimpedance sensor detection of biomagnetic fields in musculatures with spontaneous electric activity / Nakayama S., Atsuta S., Shinmi T., Uchiyama T. // Bios. Bioelectr.– 2011.– V. 27, I. 1.– P. 34-39.
9. Semirov A.V. Magnetoimpedance of cobalt-based amorphous ribbons/polymer composites / Semirov A.V., Derevyanko M.S., Bukreev D.A., Moiseev A.A., Kudryavtsev V.O., Safronov A.P. // Journal of Magnetism and Magnetic Materials. –2016. –V.415. – P.97-101.

УДК 541.64:532.77

Шабаров П.А^{1,2}, Сафронов А.П.²

**СИНТЕЗ ГИДРОГЕЛЕЙ И ФЕРРГЕЛЕЙ ПОЛИАКРИЛАМИДА В
КАЧЕСТВЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ИНЖЕНЕРИИ
ТКАНЕЙ**

¹Кафедра медицинской физики, информатики и математики

Уральский государственный медицинский университет

Екатеринбург, Российская Федерация

²Кафедра органической химии и высокомолекулярных соединений

Уральский федеральный университет

Екатеринбург, Российская Федерация

P.A. Shabadrov^{1,2}, A.P. Safronov²

**SYNTHESIS OF POLYACRYLAMIDE HYDROGELS AND FERROGELS AS
PERSPECTIVE MATERIALS FOR TISSUE ENGINEERING**

¹Department of medical physics, informatics and mathematics

Ural state medical university

Yekaterinburg, Russian Federation

²Department of organic chemistry and macromolecular compounds

Ural federal university

Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: P.Shabadrov@mail.ru

Аннотация. В статье рассмотрена методика синтеза гидрогелей полиакриламида (ПАА) и композитных феррогелей на основе полиакриламида и магнитных наночастиц (МНЧ) оксида железа γ -Fe₂O₃(ПАА/Fe₂O₃). Исследована зависимость степени набухания гелей от концентрации сшивающего агента и МНЧ и установлен ее антибатный характер. Рассчитано среднее расстояние полимерной цепи между узлами сшивки и значение средней геометрической длины субцепей. Разработан способ получения исследуемых гидрогелей и феррогелей в виде тонких пластин для их использования в качестве скаффолдов в клеточных технологиях.

Annotation. The article deals with method of synthesis of polyacrylamide (PAAm) hydrogels and composite ferrogels based on polyacrylamide and magnetic nanoparticles (MNPs) of γ -Fe₂O₃ iron oxide (PAAm / Fe₂O₃). The dependence of the degree of swelling of the gels on the concentration of the crosslinking agent and on the concentration of MNPs has been investigated and its antibate character has been found. The average length of the polymer subchain between the crosslinks and the mean geometric length of the subchains were calculated. A method has been developed for obtaining these hydrogels and ferrogels in the form of thin plates for their use as scaffolds in cellular technologies.

Ключевые слова: гидрогели, феррогели, набухание, полиакриламид, магнитные наночастицы, скаффолды.

Key words: hydrogels, ferrogels, swelling, polyacrylamide, magnetic nanoparticles, scaffolds.

Введение

Постоянно растущий интерес к полимерным гидрогелям со стороны биомедицины обусловлен тем, что их структурные особенности и физические свойства, зачастую, весьма близки некоторым видам живых тканей. Хорошая биосовместимость таких объектов позволяет рассматривать их в

качестве потенциальных заменителей поврежденных тканей [1]. Одним из примеров, который широко используются в инженерии тканей и клеточных технологиях, является гель на основе полиакриламида [2-4].

Значительно расширить функциональные возможности подобных систем позволяет введение магнитных наночастиц в полимерную матрицу геля. Такой модифицированный магнитный гель (феррогель) способен демонстрировать уникальные физические и химические свойства, которые можно контролировать с помощью внешнего магнитного поля [5]. Подобная чувствительность к внешнему стимулу дает феррогелям неоспоримое преимущество перед обычными гелями, что позволит, в перспективе, управлять биологическими свойствами клеточных инженерных конструкций внутри организма [6].

Цель исследования – создание материалов для инженерии тканей за счет разработки методики синтеза гидрогелей и феррогелей на основе полиакриламида и оценки их физико-химических свойств.

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования были синтезированы гидрогели полиакриламида (ПАА), которые получали методом радикальной полимеризации акриламида в 1.6 М водном растворе. В качестве сшивающего агента использовали метилendiакриламид $\text{CH}_2(\text{NHCOCH}_2)_2$, который добавляли в количестве, необходимом для обеспечения степени сшивки 1:50, 1:100, 1:200 и 1:300. Пероксодисульфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (концентрация 3 мМ) использовали в качестве инициатора полимеризации, а N, N, N', N'-тетраэтилметилendiамин (TEMED) $\text{CH}_2\text{N}_2(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ с концентрацией 5 мМ – в качестве катализатора.

Аналогичным образом получали феррогели на основе полиакриламида с внедренными наночастицами оксида железа $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (ПАА/ Fe_2O_3). Реакционную смесь в данном случае готовили с использованием водной суспензии магнитных наночастиц сферической формы со средним диаметром около 12 нм. Исходную феррожидкость, содержащую 5 мас.% оксида железа, стабилизировали 5 мМ цитратом натрия и разбавляли для приготовления феррогеля с заданной концентрацией МНЧ, которая в ходе синтеза составляла 0.34, 1 и 2 мас.%.

Полимеризацию проводили в течение 30 минут при температуре 25°C в специально сконструированных прямоугольных формах, которые представляли собой полированные стеклянные листы 60 мм × 90 мм, разделенные металлическими прокладками толщиной 0,8 мм, и скрепленные в единый пространственный каркас силиконовым герметиком. Реакционную смесь помещали в формы с помощью шприца, постепенно заполняя весь объем между стеклянными листами. По завершении полимеризации формы разбирали и полученные листы гидрогелей и феррогелей ПАА интенсивно промывали в дистиллированной воде в течение 7 дней с ежедневным обновлением воды для удаления непрореагировавших остатков мономеров и достижения равновесного

набухания. Затем листы гелей хранили в сбалансированном солевом растворе Хенкса (HBSS) с рН фенольного красного = 6,8-7,2 (PanEco) и гентамицином (100 мкг / мл) с ежедневным обновлением. По прошествии недели образцы помещали в раствор 199 с рН = 7,0-7,4, осмоляцией 300 ± 20 мосмоль / кг, буферной емкостью $\leq 1,5$ мл (PanEco) с гентамицином (100 мкг / мл). Толщина приготовленных таким образом пластин составляла около 1 мм.

В итоге, из полученных пластинчатых гелей вырезали серии образцов в форме дисков диаметром 13 мм и заполняли ими лунки стандартной 24-луночной полистирольной пластины для культивирования клеток.

Равновесная степень набухания гидрогелей в воде и в среде 199 была определена гравиметрическим методом. Для этого гели высушивали при температуре 80°C в течение 2 суток до постоянной массы. Значения равновесной степени набухания рассчитывали по формуле:

$$\alpha = \frac{m - m_0}{m_0}, \quad (1)$$

где α – равновесная степень набухания, m – масса набухшего геля, m_0 – масса высушенного геля.

Результаты исследования и их обсуждение

Влияние степени сшивки на степень набухания гидрогелей полиакриламида показано на рис. 1.

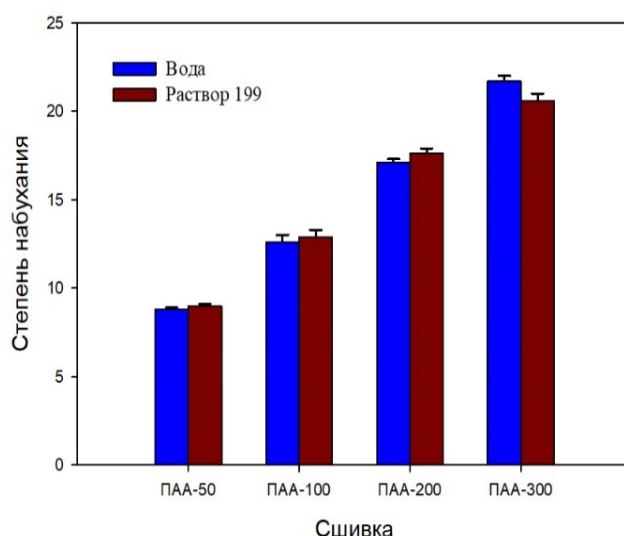


Рис. 1. Зависимости степени набухания гидрогелей от степени сшивки

Увеличение степени сшивки приводит к заметному снижению способности гелей поглощать растворитель. Степень набухания является одной из важнейших характеристик геля и определяется плотностью образования полимерной сетки. Среднее количество мономерных звеньев в линейных субцепях между поперечными связями полимерной сетки оценивали на основе равновесного значения степени набухания геля с использованием уравнения Флори-Ренера:

$$N_c = \frac{V_1(0.5\alpha^{-1} - \alpha^{-\frac{1}{3}})}{V_2(\ln(1-\alpha^{-1}) + \alpha^{-1} + \chi\alpha^{-2})}, \quad (2)$$

где N_c – количество мономерных звеньев между узлами сшивки. V_1, V_2 – молярные объемы растворителя и полимера соответственно, χ – параметр Флори-Хаггинса для смеси полимер-растворитель. При расчете использовали значения $V_1 = 18 \text{ см}^3 / \text{моль}$ (вода), $V_2 = 56.2 \text{ см}^3 / \text{моль}$ (полиакриламид) и $\chi = 0.12$. (Параметры V_2 и χ рассчитывали с помощью программного пакета для квантово-химических расчетов CAShe7.5).

Расчет среднего расстояния полимерной цепи между узлами сшивки $\langle R^2 \rangle^{1/2}$ проводили по формуле:

$$\langle R^2 \rangle^{1/2} = \sqrt{N}l \sqrt{\frac{1 - \cos \vartheta}{1 + \cos \vartheta}}, \quad (3)$$

где N – количество связей в полимерной цепи, l – длина связи, ϑ – угол связи.

При расчете значение a для связи С–С принимали равным 0.154 нм, угол связи $\vartheta = 109.50^\circ$ и число связей $N = 2N_c$ (так как помимо связей в мономерных учитывали также связи между ними). Полученные значения среднего расстояния между соседними поперечными связями в полимерной сети гидрогелей ПАА приведены в таблице 1. Здесь же приведены значения средней геометрической длины субцепей (L_0), которые представляют собой среднюю длину полностью выпрямленных субцепей.

В ряду гидрогелей от ПАА-50 до ПАА-300 при уменьшении степени сшивки непрерывно увеличивается как среднее расстояние между узлами сшивки, так и средняя геометрическая длина субцепи (L_0). Это означает уменьшение плотности полимерной сетки гелей в данном ряду, что обуславливает повышение степени набухания.

Таблица 1

Параметры плотности сети гидрогелей полиакриламида

Гидрогель	N_c	$\langle R^2 \rangle^{1/2}$	L_0
ПАА-50	25	1.5	6.3
ПАА-100	38	1.9	9.4
ПАА-200	64	2.5	16.1
ПАА-300	98	3.1	24.5

Помимо этого, среднее расстояние между узлами сшивки значительно меньше, чем средний размер наночастиц оксида железа. Данный результат позволяет говорить о том, что введение МНЧ в полимерную матрицу геля не будет сопровождаться их дальнейшим перемещением или удалением в процессе эксплуатации. Другими словами, полученные в ходе синтеза образцы композитных феррогелей обладают устойчивой структурой, что является несомненным плюсом при использовании таких систем в качестве скаффолдов.

Выводы:

1. Разработана методика синтеза тонких пластин гидрогелей и феррогелей на основе полиакриламида. Получены серии гидрогелей с различной степенью сшивки и феррогелей с различной концентрацией магнитных наночастиц оксида железа $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$.

2. Определены основные параметры, характеризующие плотность сетки гидрогелей: степень набухания, число мономерных звеньев субцепи, среднее расстояние полимерной цепи между узлами сшивки средняя геометрическая длины субцепи. Все перечисленные параметры уменьшаются с увеличением степени сшивки, что говорит об увеличении плотности гелей.

3. Установлено, что полимерная сетка полиакриламидного геля является хорошим связующим для внедренных МНЧ и позволяет получать композитные гидрогели с устойчивой структурой. Первые результаты успешного использования таких феррогелевых систем в качестве скаффолдов для клеточных технологий приведены в нашей недавней публикации [6].

Список литературы:

1. Высокопрочные биосовместимые гидрогели на основе полиакриламида и целлюлозы: синтез, механические свойства и перспективы применения в качестве искусственных заменителей хрящевых тканей / А.Л. Буянови др. // Высокомолекулярные соединения, Серия А. – 2013. – Т.55. – №5. – С. 512–522.

2. Kandow C. Polyacrylamide hydrogels for cell mechanics: steps toward optimization and alternative uses / C. Kandow, P. Georges, P. Janmey, K. Benigno // Polyacrylamide hydrogels for cell mechanics: steps toward optimization and alternative uses, Methods in Cell Biology. – 2007, – V. 83. – P. 29-46.

3. Dobreikina A. // Biomimetic gels with chemical and physical interpenetrating networks / A. Dobreikina, T. Shklyar, A. Safronov, F. Blyakhman // Polymer International. – 2018. – V.67. – №10. – P.1330-1334.

4. Vignaud T. Polyacrylamide hydrogel micropatterning / T. Vignaud, H. Ennomani, M. Thery // Methods in Cell Bioljgy. – 2014. – V.120. – P. 93-116.

5. Zrinyi M. Intelligent polymer gels controlled by magnetic fields // Colloid Polymer Science. – 2000. – V.278. – №2. – P. 98-103.

6. Blyakhman F.A. The Contribution of magnetic nanoparticles to ferrogel biophysical properties / F.A. Blyakhman, A.P. Safronov, P.A. Shabadrov et al. // Nanomaterials. – 2019. – V.9. – №2. – P. 1-21.