

## **Исследование реологических и структурных свойств растворов модифицированной карбоксиметилцеллюлозы с использованием сшивающих агентов на основе замещенных оксиранов**

**А. Н. Венжик, Д. А. Николаев, И. В. Романова**

---

Исследованы реологические и структурные свойства модифицированных гелей на основе модифицированной карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) с новым сшивающим агентом, свойства которые сравнивали со свойствами как немодифицированной КМЦ, так и модифицированной КМЦ с использованием сшивающих агентов из группы замещенных оксиранов — 1,4-бутандиолдиглицидилового эфира (БДДЭ) и полиэтиленгликольдиглицидилового эфира (ПЭГДЭ). Показано, что модифицированные образцы имеют в 2 – 3 раза большую вязкость по сравнению с немодифицированной КМЦ. Наибольшую вязкость и усилие сдвига показал образец, модифицированный ППГДЭ, однако отличие по сравнению с остальными образцами по вязкости и усилию сдвига невелико. Степень модификации всех гелей схожа, однако степень поперечной сшивки у ППГДЭ практически отсутствует. Однако, вследствие невысокой степени сшивки у остальных образцов, данный параметр не влияет на вязкость раствора. Также была проверена цитотоксичность всех гелей, которая подтвердила их низкую токсичность. Таким образом, гели с использованием нового сшивающего агента — ППГДЭ — проявляют схожие свойства как с БДДЭ, так и ПЭГДЭ, что позволяет прогнозировать схожие свойства и эффект при практическом применении.

**Ключевые слова:** карбоксиметилцеллюлоза, сшитый гель, имплантируемые материалы, химическое сшивание полимеров, биополимерные составы.

**DOI: 10.30791/1028-978X-2021-8-22-32**

---

### **Введение**

Карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) — это водорастворимый, биосовместимый и биоразлагаемый полусинтетический полисахарид. Карбоксиметилцеллюлоза широко используется в пищевой, медицинской, фармацевтической промышленности, в том числе в качестве основы для медикаментов и имплантируемых материалов. Такие материалы имеют большое значение для различных направлений хирургии [1].

Преимущества данного биополимера обусловлены во многом процессом производства КМЦ: ее получают синтетически из растительного сырья,

что обеспечивает практически полное отсутствие бактериальных эндотоксинов и низкую бионагрузку, и это крайне важно для медицинских изделий [2]. При растворении в воде или физиологическом растворе КМЦ образует прозрачный гель, который остаётся стабильным при изменении температуры. В организме гель со временем разлагается до безопасных компонентов: глюкозы, углекислого газа и воды [3].

В настоящее время КМЦ широко применяют в таких областях медицины, как производство противоспаечных барьеров, которые используют при операциях на органах и тканях, имеющих серозную оболочку (брюшная полость, плевральная

полость, полость перикарда, оболочки спинного и головного мозга, полость среднего уха и т.д.), а также в качестве интрадермальных филлеров, наполнителей, веществ-носителей, при лечении травм и оперировании, связанных с возникновением пустот и потери объема ткани разных органов и др. [4, 5]. Однако, несмотря на все достоинства используемых аналогов, существует проблема непредсказуемости времени биodeградации, отсюда, например, для противоспаечных гелей и филлеров вытекает проблема невысокой эффективности. Именно поэтому в настоящее время более перспективным является использование препаратов на основе химически модифицированной КМЦ, так как это позволяет повысить его устойчивость к воздействию среды организма. Также подбирая степень модификации, можно регулировать реологические характеристики препарата [6, 7].

Наиболее широко используемыми сшивающими агентами для биополимеров в медицине в настоящее время являются сшивающие агенты на основе замещенных эпоксидных соединений, включающих 1,4-бутандиолдиглицидиловый эфир (БДДЭ) (рис. 1а) и полиэтиленгликольдиглицидиловый эфир (ПЭГДЭ) (рис. 1б). Данная группа модифицирующих сшивающих агентов широко применяется при производстве интрадермальных филлеров и имплантатов на основе гиалуроновой кислоты; в частности, на протяжении 15 лет клинического использования 1,4-бутандиолдиглицидилового эфира была подтверждена клиническая безопасность при соблюдении остаточного содержания менее 1 ppm [8].

Помимо этого, вследствие наличия разной молекулярной массы ПЭГДЭ (от 500 до 8000 Да), их использование позволяет создавать продукты с различной степенью биodeградации и реологическими свойствами, что важно для разных сфер применения. Использование ПЭГДЭ в качестве сшивающего агента для КМЦ с целью использования в медицинских изделиях описано в патенте [5, 9]. Также на данный момент на коммерческом рынке присутствует интрадермальный имплантат на основе модифицированной КМЦ путем реакции с БДДЭ [10, 11].

Однако технологической проблемой использования данных сшивающих агентов является их высокая стоимость. Таким образом, актуально снижение стоимости готового изделия с сохранением его свойств. Именно поэтому оптимальным является поиск новых сшивающих агентов из группы замещенных оксиранов, так как это позволит обеспечить сохранение условий проведения текущего

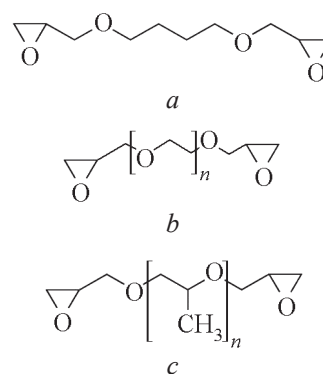


Рис. 1. Структурные формулы: *a* — 1,4-бутандиолдиглицидилового эфира (БДДЭ), *b* — полиэтиленгликольдиглицидилового эфира (ПЭГДЭ), *c* — полипропиленгликольдиглицидилового эфира (ППГДЭ).

Fig. 1. Structures of: *a* — 1,4-butanediol diglycidyl ether (BDDE), *b* — polyethylene glycol diglycidyl ether (PEGDE), *c* — polypropylene glycol diglycidyl ether (PPGDE).

технологического процесса изготовления изделий без изменений, а также получать продукты со схожими свойствами, как при использовании ПЭГДЭ и БДДЭ. В качестве нового сшивающего агента был предложен полипропиленгликольдиглицидиловый эфир (ППГДЭ) (рис. 1с).

Выбор данного сшивающего агента обусловлен более низкой по сравнению с БДДЭ и ПЭГДЭ ценой, а также коммерческой доступностью ППГДЭ высокой степени чистоты, что крайне важно для производства медицинских изделий. Информации об использовании ППГДЭ в медицинских изделиях в литературе не было обнаружено.

Цель данной работы — сравнение свойств гелей модифицированной КМЦ, полученной с использованием сшивающих агентов БДДЭ, ПЭГДЭ и ППГДЭ.

На основании данной цели были поставлены следующие задачи: исследование структурных и реологических свойств гелей на основе нового сшивающего агента — ППГДЭ — с модифицированными БДДЭ и ПЭГДЭ аналогами, а также их сравнение со свойствами немодифицированной КМЦ; исследование цитотоксичности представленных гелей. Исследование реологических свойств (а именно, вязкость и скорость сдвига) необходимы для понимания поведения геля при введении в организм; исследование структурных свойств (а именно, степень модификации и степень поперечной сшивки) необходимы для подтверждения реакции взаимодействия между КМЦ и сши-

вающим агентом в данных условиях; исследование цитотоксичности необходимо для подтверждения безопасности применяемого средства в медицинских целях. Важным условием проведения работы является использование того же технологического процесса изготовления гелей модифицированной КМЦ для нового сшивающего агента ППГДЭ, что и для уже используемых сшивающих агентов на предприятии АО «Медтехнопроект» — ПЭГДЭ и БДДЭ. Это необходимо для того, чтобы существенно упростить последующий трансфер, внедрение и валидацию технологического процесса, а также снизить экономические издержки при проведении данных этапов.

## **Экспериментальная часть**

### **Приготовление гелей**

Для создания гелей использовали следующие материалы: карбоксиметилцеллюлоза марки Sekol 2000 (CP Kelco), полиэтиленгликоль диглицидиловый эфир (Sigma-Aldrich), 1,4-бутандиол диглицидиловый эфир (Sigma-Aldrich), полипропиленгликоль диглицидиловый эфир (Sigma-Aldrich), соляная кислота (PanReac), фосфатно-солевой буфер таблетки (ПанЭко), вода для инъекций (Гротекс). Образцы гелей были подготовлены в соответствии с методикой, изложенной в технологических документах компании АО «Медтехнопроект», касающихся производства противоспаечных растворов для медицинского применения на основе КМЦ и БДДЭ. Для изготовления сшитого геля 2 г КМЦ растворяли в 25 мл 1 % растворе гидроксида натрия, добавляли 0,11 г БДДЭ, 0,28 г ПЭГДЭ или 0,21 г ППГДЭ (0,56 ммоль каждого сшивающего агента) и перемешивали в течение 12 ч при 25 °С. После этого к полученному гелю добавляли глицин (Диаэм) для реакции со свободными эпоксидными группами и дополнительно перемешивали в течение 2 ч. После этого полученный гель нейтрализовали раствором соляной кислоты до нейтрального значения водородного показателя pH и подвергли диализу в фосфатно-солевом физиологическом буферном растворе в течение 24 ч с 5-ти кратной заменой раствора. После диализа массу геля довели до расчетного значения концентрации КМЦ в 2 %, расфасовали в стеклянные преднаполняемые шприцы объемом 3,0 мл по 2,0 г геля в каждый шприц, после чего автоклавировали при режиме стерилизации 121 °С 6 минут. Несшитый гель КМЦ был приготовлен растворением соответствующего количества КМЦ в фосфатно-солевом физиологическом

буферном растворе концентрацией 2 %, после чего аналогично был расфасован в стеклянные преднаполняемые шприцы объемом 3,0 мл по 2,0 г геля в каждый шприц и простерилизован при режиме стерилизации 121 °С 6 минут.

Таким образом, было подготовлено 4 образца: образец 1 — модифицированная КМЦ с использованием БДДЭ; образец 2 — модифицированная КМЦ с использованием ППГДЭ; образец 3 — модифицированная КМЦ с использованием ПЭГДЭ; образец 4 — немодифицированная КМЦ.

### **Определение степени сшивки**

Для определения степени модификации и степени поперечной сшивки полученных образцов модифицированной КМЦ различными сшивающими агентами проводили исследования методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопия). Для проведения исследования образцов методом <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопии был использован ЯМР-спектрометр Avance III, производства «Bruker» (импульсная последовательность zggg, задержка 3 с, число сканов 20000).

Исследование представленных образцов проводили на основании общего подхода определения степени модификации и степени поперечной сшивки, описанного в работе [12].

### **Исследование цитотоксичности**

Определение цитотоксичности проводили с использованием МТТ-теста на линиях клеток MiaPaCa-2, которые выращивали в среде DMEM с добавлением 10 % фетальной сыворотки теленка (FCS), пенициллина, стрептомицина, глутамина (все — PanEco). Клетки снимали с планшетов раствором 0,05 % трипсина–ЭДТА (PanEco), определяли концентрацию. Цитотоксическое действие препаратов оценивали с помощью реактива 3-(4,5-диметил-2-thiazolyl)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиум бромид (МТТ) (Sigma Aldrich) согласно методике, описанной в [13]. Различные разведения гелей (от 10 до 5120) готовили в культуральной среде. Клетки вносили по 5 тыс./лунку. В качестве контроля служили необработанные клетки. Планшеты инкубировали в течение 72 ч. За последние 6 ч в каждую лунку добавляли МТТ (5 мг/мл) в объеме 10 мкл. После инкубации культурную среду удаляли и в каждую лунку добавляли 100 мкл диметилсульфоксида. Планшеты инкубировали при встряхивании в течение 15 мин для растворения образовавшегося формазана. Оптическую

плотность считывали на спектрофотометре Titertek (Великобритания) при 540 Нм. Результаты анализировали в пакете Excel (Microsoft). Уровень значимости  $p$  был определен с использованием двухвыборочного  $t$ -критерия и величина менее чем 0,01 рассматривалась как статистически значимое различие. Статистическую обработку проводили с использованием пакета Excel (Microsoft).

### Измерения вязкости

Исследования вязкости проводили с использованием ротационного реометра Kinexus PRO производства Malvern Instruments (Великобритания), а также измерительной геометрии плоскость – конус с диаметром верхней плоскости 40 мм углом конуса 40 и диаметром нижней плоскости 55 мм. Для управления реометром и обработки полученных результатов применяли программное обеспечение rSpace.

### Результаты

#### Степень сшивки образцов

Для лучшего понимания процесса на рис. 2 приведены структурные фрагменты (на примере образца 1), которые были получены ранее при

исследовании данных образцов на предприятии АО “Медтехнопроект”. Остальные образцы отличались только большим числом мономерных звеньев в структуре сшивающего агента.

На рис. 3а – 3с представлены  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектры образцов 1 – 3. Соотнесение химических сдвигов, необходимое для последующего анализа образцов и выполненное на основании анализа спектров ЯМР  $^{13}\text{C}$  приведено в табл. 1.

Эпоксидные сшивающие агенты реагируют с КМЦ с образованием связи с двух сторон (рис. 2b) или с одной стороны (рис. 2c – 2e), при этом в таком случае будут наблюдаться продукты реакции с глицином в том числе (рис. 2d – 2e). На основании анализа относительных интегральных интенсивностей КМЦ (атом углерода в положении 1, рис. 2a) и метиленового фрагмента сшивающего агента (атом углерода в положении 14, рис. 2b – 2e) в спектрах ЯМР  $^{13}\text{C}$  вычисляли степень модификации  $DM$  КМЦ (стехиометрическое отношение суммы молей моно- и дизамененных фрагментов сшивающих агентов к мольному количеству КМЦ) по формуле:

$$DM = \frac{I(C14)/2}{I(C1)}. \quad (1)$$

На основании анализа относительных интегральных интенсивностей группы  $\text{CH}_2\text{OH}$  (атом углерода в положении 20) и метиленового фрагмен-

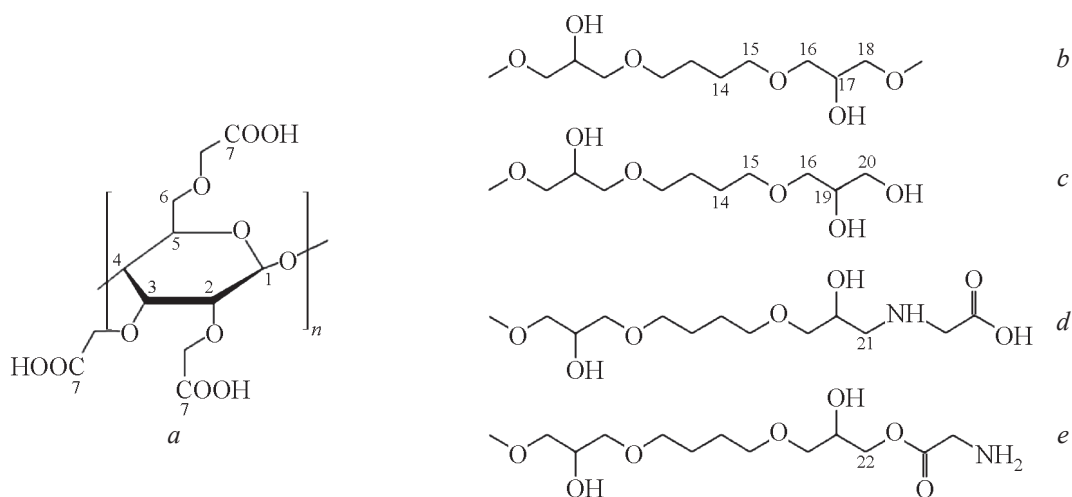


Рис. 2. Структурные фрагменты, обнаруженные в образце 1 (КМЦ, модифицированная с использованием БДДЭ):  $a$  — карбоксиметилцеллюлозы;  $b$  — БДДЭ, поперечно-сшитого с КМЦ;  $c$  — БДДЭ, с одной стороны сшитый с КМЦ, с другой гидролизованый;  $d$  — БДДЭ, с одной стороны сшитый с КМЦ, с другой прореагировавшего с аминогруппой глицина;  $e$  — БДДЭ, с одной стороны сшитый с КМЦ, с другой прореагировавший с карбоксильной группой глицина.

Fig. 2. Structural fragments which has been found in Sample 1 (carboxymethyl cellulose modified with 1,4-butanediol dyglycidyl ether):  $a$  — CMC fragment;  $b$  — BDDE fragment cross-linked with CMC;  $c$  — BDDE fragment, a one side linking with CMC, another side being hydrolyzed;  $d$  — BDDE fragment, a one side linking with CMC, another side linking with glycine aminogroup;  $e$  — BDDE fragment, a one side linking with CMC, another side linking with glycine carboxyl group.

Таблица 1

Соотнесение химических сдвигов, необходимое для определения степени модификации и степени поперечной сшивки

Table 1

Correlation between chemical shifts demanded for degree of modification and degree of cross-linking definition

Положение атома углерода <sup>13</sup> C, (рис. 2)	1	6*	14	20	21	22
Химический сдвиг, ppm	101,6	62,6	24,9	62,6	43,3	41,5

\* — без карбоксиметильной группы.

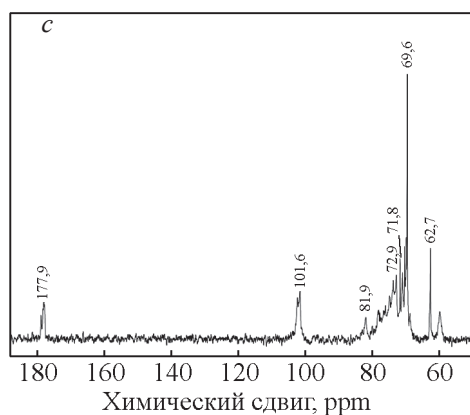
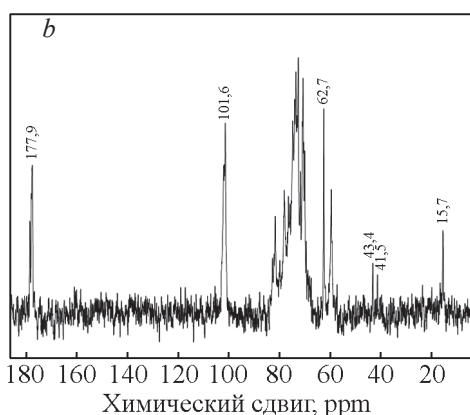
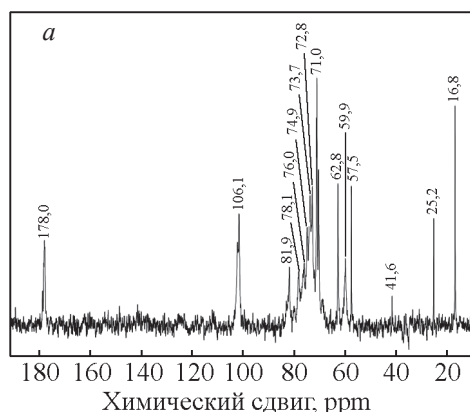


Рис. 3. <sup>13</sup>C ЯМР-спектр образцов: а — 1, b — 2, c — 3.

Fig. 3. <sup>13</sup>C NMR-spectrum of: a — sample 1, b — sample 2, c — sample 3.

та сшивающего агента (атом углерода в положении 14) в спектрах ЯМР <sup>13</sup>C вычисляли долю молей поперечно-сшитых сшивающих (cross-linking degree — CLD) агентов от общего количества молей сшивающего агента по формуле:

$$CLD = DM \times \left( 1 - \frac{I(C20)+I(C21)+I(C22)-I(C6)}{I(C14)/2} \right). \quad (2)$$

В случае образца 2 количество поперечно-сшитых сшивающих агентов определяли следующим образом:

$$CLD = DM \times \left( 1 - \frac{I(C20)+I(C21)+I(C22)-I(C6)}{I(C14)/10} \right).$$

В случае образца 3 количество поперечно-сшитых сшивающих агентов определяли следующим образом:

$$CLD = DM \times \left( 1 - \frac{I(C20)+I(C21)+I(C22)-I(C6)}{I(C14)/9} \right). \quad (4)$$

Полученные данные приведены в табл. 2. Относительная погрешность интегрирования сигналов в спектрах ЯМР <sup>13</sup>C составила 10 %.

### Исследование цитотоксичности гелей

Цитотоксичность гелей определяли для образцов 1 – 4. Полученные графики представлены на рис. 4. Данные приведены в виде индекса цитотоксичности (II), определенного по формуле:

$$II = 1 - \frac{OD_{exp}}{OD_{cont}}. \quad (5)$$

На основе данных МТТ-теста самым низкотоксичным является образец 1 ( $p < 0,01$ ), токсичности образцов 2 и 3 были сравнимы ( $p > 0,01$ ). Однако цитотоксическая концентрация, дающая 50 % максимального токсического эффекта не достигала

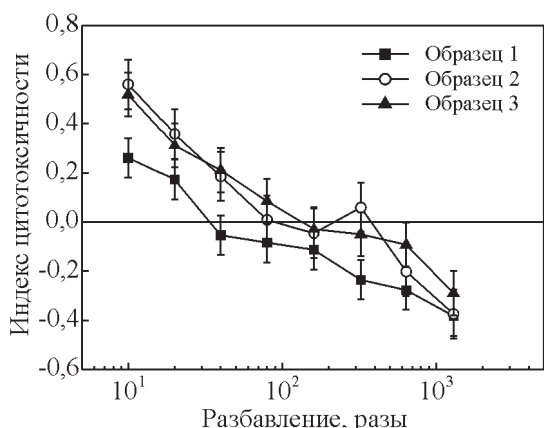


Рис. 4. Зависимость индекса цитотоксичности от разбавления образцов 1 – 3.

Fig. 4. Dependence of cytotoxicity index from dilution for samples 1 – 3.

ется ни для одного из образцов, что соответствует низкотоксичным препаратам.

### Измерение вязкостных свойств

Образец 1 представляет собой жидкость, которая обладает незначительной псевдопластичностью. При скоростях сдвига выше  $10 \text{ c}^{-1}$  псевдопластичность увеличивается. Влияние температуры на вязкость незначительно в абсолютных величинах, различие от 1,5 до 0,6 Па·с при скорости сдвига  $0,1 \text{ c}^{-1}$  и изменении температуры от  $+25$  до  $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Результаты представлены на рис. 5а.

Также образец 1 имеет небольшой предел текучести при сдвиговом усилии 0,2 Па при  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , который практически полностью исчезает при  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Это означает, что образец при нанесении не очень хорошо растекается, но при нагревании до темпе-

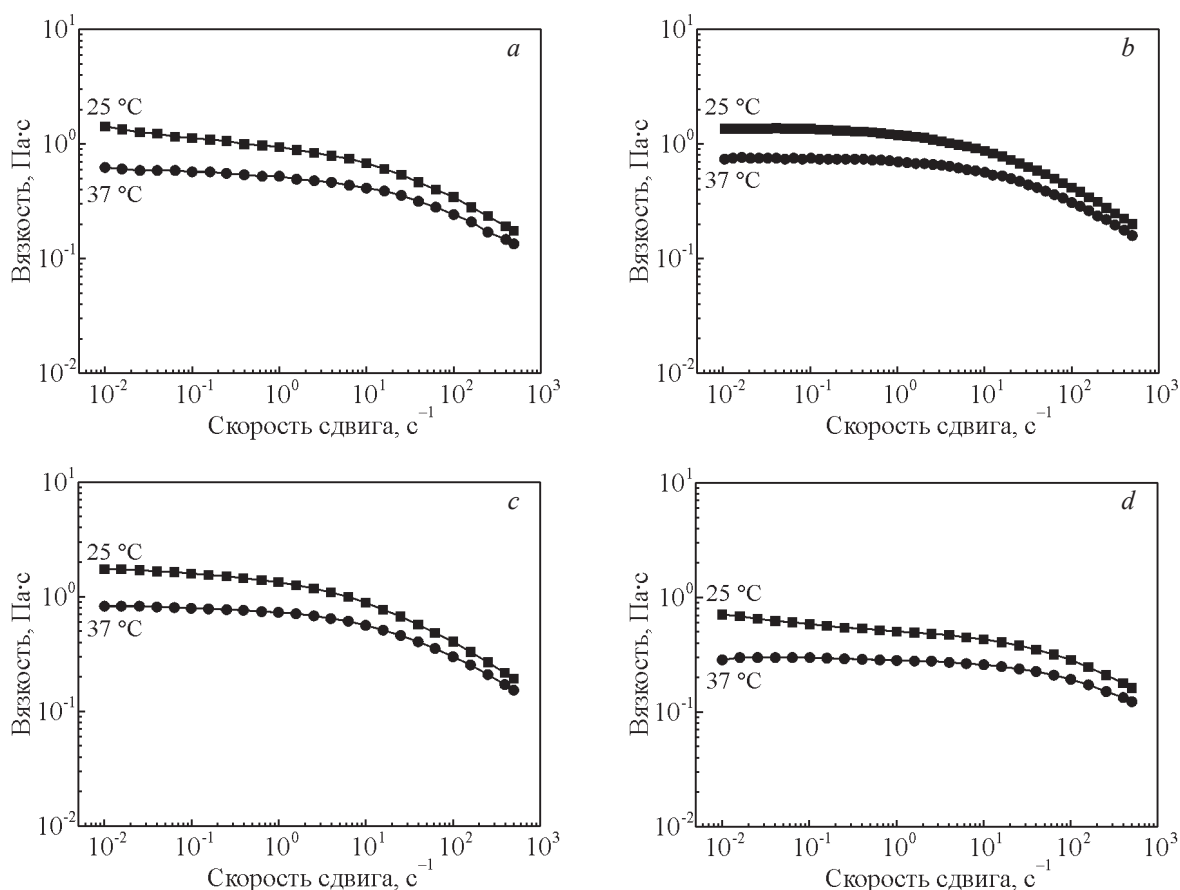


Рис. 5. Зависимость вязкости от скорости сдвига для: а — образца 1, модифицированного КМЦ с сшивающим агентом БДДЭ, б — образца 2, модифицированного КМЦ с сшивающим агентом ППГДЭ, с — образца 3, модифицированного КМЦ с сшивающим агентом ПЭГДЭ, d — образца № 4, немодифицированной КМЦ.

Fig. 5. Dependence of viscosity on shear rate for: a — sample 1 (modified with CMC with a cross-linker BDDE), b — sample 2 (modified with CMC with a cross-linker PPGDE), c — sample 3 (modified with CMC with a cross-linker PEGDE), d — sample 4 (unmodified CMC).



ратуры тела растечется. Результаты представлены на рис. 6а.

Образец 2 модифицированной КМЦ с сшивающим агентом ППГДЭ представляет собой жидкость с ньютоновским характером течения при скорости сдвига до  $1 \text{ с}^{-1}$ . При скоростях сдвига более  $1 \text{ с}^{-1}$  образец начинает разжижаться, приобретает псевдопластический характер. Изменение вязкости при росте температуры в абсолютных значениях незначительны. При низких скоростях сдвига вязкость составляет  $1,5 \text{ Па}\cdot\text{с}$  при  $+25 \text{ }^\circ\text{C}$  и  $0,7 \text{ Па}\cdot\text{с}$  при  $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Графики зависимости вязкости от скорости сдвига для образца 2 представлены на рис. 5б.

Образец 2 модифицированной КМЦ с сшивающим агентом ППГДЭ имеет незначительный предел текучести при усилии сдвига  $0,3 \text{ Па}$  при  $+25 \text{ }^\circ\text{C}$ , при  $+37 \text{ }^\circ\text{C}$  предела текучести нет (рис. 6б). Таким обра-

зом при нанесении образец будет слабо растекаться, но после разогрева до температуры тела растечется.

Образец 3 модифицированной КМЦ с сшивающим агентом ПЭГДЭ является псевдопластической жидкостью, при этом вязкость начинает резко падать при  $0,1 \text{ с}^{-1}$ . Изменение вязкости при малых скоростях сдвига при увеличении температуры небольшое, при  $+25 \text{ }^\circ\text{C}$  вязкость составляет  $1,7 \text{ Па}\cdot\text{с}$ , а при  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  —  $0,9 \text{ Па}\cdot\text{с}$  (рис. 5с).

Образец 3 модифицированной КМЦ с сшивающим агентом ПЭГДЭ имеет предел текучести при усилии сдвига  $0,4 \text{ Па}$  при  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , в то же время при увеличении температуры до  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  предел текучести практически исчезает. Усилие сдвига при  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  составляет  $0,18 \text{ Па}$  (рис. 6с). Таким образом, образец 3 будет плохо растекаться при нанесении, однако растечется при температуре тела.

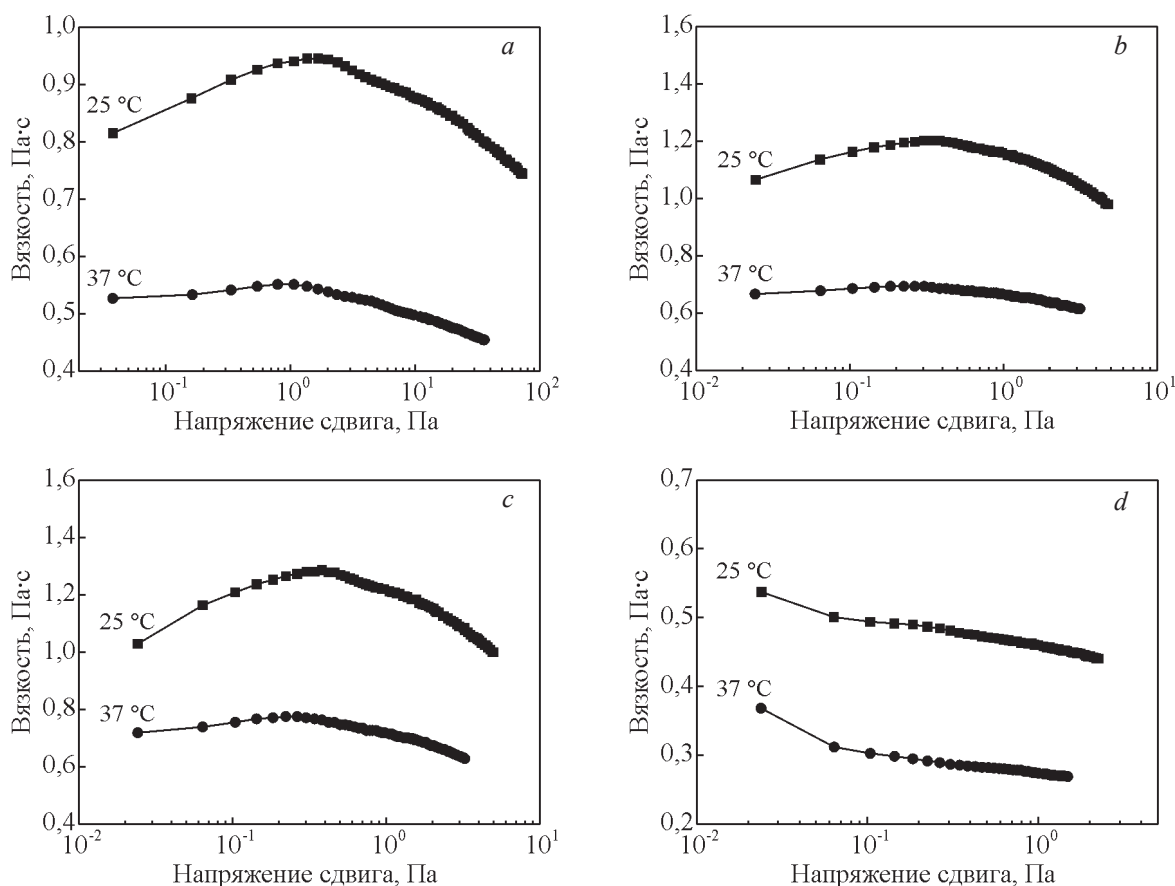


Рис. 6. Изменение вязкости при увеличении напряжения сдвига для: а — образца 1, модифицированного КМЦ с сшивающим агентом БДДЭ, б — образца 2, модифицированного КМЦ с сшивающим агентом ППГДЭ, с — образца 3, модифицированного КМЦ с сшивающим агентом ПЭГДЭ, d — образца 4, немодифицированной КМЦ.

Fig. 6. Dependence of viscosity on shear stress for: for: a — sample 1 (modified with CMC with a cross-linker BDDE), b — sample 2 (modified with CMC with a cross-linker PPGDE), c — sample 3 (modified with CMC with a cross-linker PEGDE), d — sample 4 (unmodified CMC).

Реологические и структурные свойства гелей модифицированной и немодифицированной КМЦ

Table 2

Rheological and structural properties of modified and unmodified CMC solutions

Номер образца	Вязкость, Па·с		Усилие сдвига, Па	Степень модификации, DM, %	Степень поперечной сшивки, CLD, %
	при 25 °С	при 37 °С			
1	1,5	0,6	0,2	9,3 ± 0,9	2,5 ± 0,3
2	1,5	0,7	0,3	13,7 ± 1,4	1,2 ± 0,1
3	1,7	0,9	0,4	10,5 ± 1,1	0,3 ± 0,0
4	0,6	0,3	—	0	0

Образец 4 немодифицированной КМЦ представляет собой слабую неньютоновскую, низковязкую жидкость, разжижающуюся при скорости сдвига  $10 \text{ с}^{-1}$ . Вязкость такой жидкости гораздо ниже по сравнению с модифицированными аналогами: при  $+25 \text{ °С}$  составляет  $0,6 \text{ Па}\cdot\text{с}$ , а при  $+37 \text{ °С}$   $0,3 \text{ Па}\cdot\text{с}$  при малых скоростях сдвига (рис. 5d). Не имеет предела текучести при обеих температурах и будет хорошо растекаться как при  $25 \text{ °С}$ , так и при  $37 \text{ °С}$  (рис. 6d).

### Обсуждение результатов

Обобщенные результаты исследований вязкостных и структурных свойств приведены в табл. 2.

Степень модификации для всех образцов примерно одинакова, то есть реакция взаимодействия со всеми сшивающими агентами идет подобно, что обуславливается схожей химической структурой и одинаковыми реакционными группами. В то же время, степень поперечной сшивки неоднородна — обладая наименьшей степенью модификации, образец 1 (с использованием БДДЭ) показывает наибольшую степень поперечной сшивки, которая вдвое больше чем у образца 2 (с использованием ПЭГДЭ) и в 8 раз больше чем у образца 3 (с использованием ППГДЭ). Образец с ППГДЭ отличается практически нулевой степенью поперечной сшивки, в то время как степень модификации схожа с другими сшивающими агентами. Таким образом, полученный гель является модифицированным, но не поперечно-сшитым.

Модифицированные образцы имеют большую в 2 – 3 раза вязкость по сравнению с немодифицированной КМЦ. Наибольшую вязкость и усилие сдвига показал образец 3 — в то же время, отличие по сравнению с остальными образцами по вязкости невелико, в то время как усилие сдвига несильно больше. Сравнивая данные значения со степенью

модификации и степенью поперечной сшивки подтверждается увеличение реологических свойств при модификации КМЦ, что превалирует над щелочным гидролизом КМЦ в процессе реакции взаимодействия со сшивающими агентами.

Важно также отметить, что любая модификация КМЦ приводит к увеличению вязкости. Так, образец 3, который практически не обладает поперечной сшивкой, по вязкости не уступает остальным образцам с большей степенью сшивки. Это обусловлено низкой степенью поперечной сшивки всех образцов, которая слабо влияет на реологические свойства изделия.

В то же время, практически полное отсутствие поперечной сшивки при такой же степени модификации позволяет предположить, что образец 3 имеет большую адгезионную способность к клеткам тканей за счет большего количества гидроксильных, карбоксильных и аминогрупп (рис. 2с – 2е). Однако, учитывая практически схожую степень модификации и низкую степень поперечной сшивки у остальных образцов, свойства будут примерно одинаковыми.

Данные, полученные в исследовании по цитотоксичности, позволяют считать гель с использованием ППГДЭ низкотоксичным препаратом, что позволяет рассматривать его в качестве средства для медицинского применения.

Таким образом, на основании полученных данных, гель модифицированной КМЦ с использованием нового сшивающего агента — ППГДЭ — можно рассматривать в качестве средства для медицинского применения как аналог средств, полученных с использованием БДДЭ и ПЭГДЭ. Цель дальнейшей работы будет исследование противоположной активности, что является целевым параметром данного вида изделий. Также необходимо более подробно исследовать причины низкой степени поперечной сшивки у ППГДЭ по сравнению с другими образцами.



## Выводы

1. Исследованы реологические (вязкость и скорость сдвига) и структурные (степень модификации и степень поперечной сшивки) свойства гелей на основе нового сшивающего агента, который ранее не применяли при производстве растворов биополимеров медицинского назначения — ППГДЭ. Показано, что реологические свойства гелей на основе нового сшивающего агента ППГДЭ схожи со свойствами составов на основе уже применяемых сшивающих агентов, ПЭГДЭ и БДДЭ. Степень модификации полученного геля сравнима с остальными гелями, в то время как степень поперечной сшивки практически отсутствует, однако это не оказывает влияния на реологические свойства.

2. Цитотоксичность всех гелей позволяет их рассматривать как низкотоксичные препараты, пригодные для медицинского применения.

3. Данные результаты были получены при одинаковой методике изготовления гелей и эквивалентном соотношении всех сшивающих агентов, что существенно облегчает последующее внедрение и валидацию технологических процессов изготовления гелей с использованием ППГДЭ.

4. На основании полученных данных ППГДЭ может рассматриваться как альтернативный сшивающий агент для модификации КМЦ вместо БДДЭ и ПЭГДЭ.

## Литература

1. Sannino A., Demitri C., Madaghiele M. Biodegradable cellulose-based hydrogels: design and applications. *Materials (Basel)*, 2009, vol. 2 (2), pp. 353 – 373. DOI: 10.3390/ma2020353
2. Leonardi M., Palange A. New-generation filler based on cross-linked carboxymethylcellulose: study of 350 patients with 3-year follow-up. *Clin. Interv. Aging*, 2015, vol. 10, pp. 147 – 155. DOI: 10.2147/CIA.S74445.
3. Грубник И.М. Использование натрия карбоксиметилцеллюлозы в технологии гелей. *Материалы IV Международной научно-практической конференции Современные достижения фармацевтической технологии и биотехнологии*, 16 – 17 октября 2014, Харьков, с. 92 – 93.
4. Behra J.S., Mattsson J., Cayre O.J., Robles E.S.J., Tang H., Hunte T.N. Characterization of sodium carboxymethyl cellulose aqueous solutions to support complex product formulation: a rheology and light scattering study. *ACS Applied Polymer Materials*, 2019, vol. 1 (3), pp. 344 – 358. DOI:10.1021/ACSAPM.8B00110.

5. Falcone S.J., Berg R.A. Carboxymethylcellulose polyethylene glycol compositions for medical uses. Patent US no 9682167, 2017.
6. Галимзянова Р.Ю., Гарипов Р.Р., Давлетшина Э.А., Лисаневич М.С., Низамова И.М., Федулова А.А. Анализ технических решений на состав адгезивов медицинского назначения. *Материалы Международной научно-практической конференции Наука, образование, общество: тенденции и перспективы*, 31 января 2018, Москва, с. 36 – 38.
7. Arion H. Carboxymethyl cellulose (CMC) hydrogels for the filling of implants. Our experience since 15 years. *Annales de Chirurgie Plastique Esthétique*, 2001, vol. 46, pp. 55 – 59.
8. Kablik J., Monheit G.D., Yu L., Chang G., Gershkovich J. Comparative physical properties of hyaluronic acid dermal fillers. *Dermatol. Surg.*, 2009, vol. 35 (1), pp. 302 – 312. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2008.01046.x.
9. Hiroyuki K. Characterization and properties of carboxymethyl cellulose hydrogels crosslinked by polyethylene glycol. *Carbohydrate Polymers*, 2014, vol. 106, pp. 84 – 93. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.02.020.
10. Guarise C., Barbera C., Pavan M., Panfilo S., Beninato R., Galesso D. HA-based dermal filler: downstream process comparison, impurity quantitation by validated HPLC-MS analysis, and in vivo residence time study. *J. Appl. Biomater. Funct. Mater.*, 2019, vol. 17(3), pp. 1 – 9. DOI: 10.1177/2280800019867075.
11. De Boule K., Glogau R., Kono T., Nathan M., Tezel A., Roca-Martinez J.X., Paliwal S., Stroumpoulis D. A review of the metabolism of 1,4-butanediol diglycidyl ether-crosslinked hyaluronic acid dermal fillers. *Dermatol. Surg.*, 2013, vol. 39 (12), pp. 1758 – 1766. DOI: 10.1111/dsu.12301.
12. Wende F.J., Gohil S., Nord L.I., Kenne A.N. 1D NMR methods for determination of degree of cross-linking and BDDE substitution positions in HA hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 2017, vol. 157, pp. 1525 – 1530. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.11.029.
13. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 1983, vol. 65, pp. 55 – 63.

## References

1. Sannino A., Demitri C., Madaghiele M. Biodegradable cellulose-based hydrogels: design and applications. *Materials (Basel)*, 2009, vol. 2 (2), pp. 353 – 373. DOI: 10.3390/ma2020353
2. Leonardi M., Palange A. New-generation filler based on cross-linked carboxymethylcellulose: study of 350 patients with 3-year follow-up. *Clin. Interv. Aging*, 2015, vol. 10, pp. 147 – 155. DOI: 10.2147/CIA.S74445.
3. Grubnik I.M. *Ispol'zovanie natrijkarboksimitilcellulozy v tehnologii gelej* [The use of sodium carboxymethyl

- cellulose in gel technology]. Modern achievements of pharmaceutical technology: Proc. of the IV scientific-practical conference, 16 – 17 Oct, 2014, pp. 92 – 93.
- Behra J.S., Mattsson J., Cayre O.J., Robles E.S.J., Tang H., Hunte T.N. Characterization of sodium carboxymethyl cellulose aqueous solutions to support complex product formulation: a rheology and light scattering study. ACS Applied Polymer Materials, 2019, vol. 1 (3), pp. 344 – 358. DOI:10.1021/ACSAPM.8B00110.
  - Falcone S.J., Berg R.A. Carboxymethylcellulose polyethylene glycol compositions for medical uses. Patent US no 9682167, 2017.
  - Galimzjanova R.Ju., Garipov R.R., Davletshina Je.A., Lisanevich M.S., Nizamova I.M., Fedulova A.A. *Analiz tekhnicheskikh reshenij na sostav adgezivov medicinskogo naznacheniya* [Analysis of technical solutions for the composition of medical adhesives]. Nauka, obrazovanie, obshchestvo: tendencii i perspektivy: materialy IV nauchno-prakticheskoy konferencii [Science, education, society: trends and prospects: Proc. Of the International scientific-practical conference, 31 Jan, 2018], pp. 36 – 38.
  - Arion H. Carboxymethyl cellulose (CMC) hydrogels for the filling of implants. Our experience since 15 years. Annales de Chirurgie Plastique Esthétique, 2001, vol. 46, pp. 55 – 59.
  - Kablik J., Monheit G.D., Yu L., Chang G., Gershkovich J. Comparative physical properties of hyaluronic acid dermal fillers. Dermatol. Surg., 2009, vol. 35 (1), pp. 302 – 312. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2008.01046.x.
  - Hiroyuki K. Characterization and properties of carboxymethyl cellulose hydrogels crosslinked by polyethylene glycol. Carbohydrate Polymers, 2014, vol. 106, pp. 84 – 93. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.02.020
  - Guarise C., Barbera C., Pavan M., Panfilo S., Beninatto R., Galesso D. HA-based dermal filler: downstream process comparison, impurity quantitation by validated HPLC-MS analysis, and in vivo residence time study. J. Appl. Biomater. Funct. Mater., 2019, vol. 17(3), pp. 1 – 9. DOI: 10.1177/2280800019867075.
  - De Bouille K., Glogau R., Kono T., Nathan M., Tezel A., Roca-Martinez J.X., Paliwal S., Stroumpoulis D. A review of the metabolism of 1,4-butanediol diglycidyl ether-crosslinked hyaluronic acid dermal fillers. Dermatol. Surg., 2013, vol. 39 (12), pp. 1758 – 1766. DOI: 10.1111/dsu.12301.
  - Wende F.J., Gohil S., Nord L.I., Kenne A.N. 1D NMR methods for determination of degree of cross-linking and BDDE substitution positions in HA hydrogels. Carbohydrate Polymers, 2017, vol. 157, pp. 1525 – 1530. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.11.029.
  - Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods, 1983, vol. 65, pp. 55 – 63.

*Статья поступила в редакцию — 1.02.2021 г.  
после доработки — 1.03.2021 г.  
принята к публикации — 2.03.2021 г.*

**Венжик Антон Николаевич** — АО “Медтехнопроект” (143026, Москва, территория инновационного центра “Сколково”, Большой бульвар, 42/1), главный технолог, специалист в области синтеза и изучения биополимерных композиций для медицинского применения. E-mail: a.venzhik@medtp.ru.

**Николаев Денис Александрович** — АО “Медтехнопроект” (143026, Москва, территория инновационного центра “Сколково”, Большой бульвар, 42/1), директор по производству, специалист в области высокомолекулярных соединений. E-mail: d.nikolaev@medtp.ru.

**Романова Ирина Викторовна** — АО “Медтехнопроект” (143026, Москва, территория инновационного центра “Сколково”, Большой бульвар, 42/1), генеральный директор, специалист в области биомедицинских технологий. E-mail: i.romanova@medtp.ru.

## **Study of rheological and structural properties of modified carboxymethyl cellulose solutions using cross-linking agents based on substituted oxiranes**

**A. N. Venzhik, D. A. Nikolaev, I. V. Romanova**

Modified carboxymethyl cellulose (CMC) biopolymer materials are widely used in various fields of medicine. For different medical purpose and therapeutic goals it is required to regulate the degree of biodegradation of implanted biopolymers by synthesizing modified gels using substituted oxiranes cross-linkers — 1,4-butanediol diglycidyl ether (BDDE) and polyethylene glycol diglycidyl ether (PEGDE). However, a high cost of the ones determine actual the investigation of new crosslinking agents that will be more cheaper and at the same time will not require a change in the technological process. So, the crosslinking agent polypropylene glycol diglycidyl ether (PPGDE) was chosen. In this work the rheological and structural properties of modified CMC gels with a new crosslinking agent - polypropylene glycol diglycidyl ether (PPGDE) — were investigated and compared with the properties of both unmodified CMC and modified CMC using BDDE and PEGDE. It is shown the modified samples have a 2 – 3 times higher viscosity in comparison with unmodified CMC. The sample modified with PPGDE showed high viscosity and shear force, however, the difference in the ones compared to other samples is small. The modification degree of all gels is similar, but the cross-linking degree of PPGDE is practically absent. However, due to the low degree of crosslinking in the rest of the samples, this parameter does not effect on the viscosity of the solution. The cytotoxicity of all gels was also tested, which confirmed their low toxicity. Thus, gels using a new cross-linking agent — PPGDE — exhibit similar properties with both BDDE and PEGDE, which makes it possible to predict other properties and effects in practical use.

**Keywords:** carboxymethylcellulose, crosslinked gel, implantable materials, chemical crosslinking of polymers, biopolymer compositions.

---

**Venzhik Anton** — JSC “Medtekhnoprojekt” (Moscow, 143026, Innovatsionnyy tsentr Skolkovo, Bol’shoj bul’var St., 42/1), the chief technologist, specialist in synthesis and investigation of biopolymer composition for medical uses. E-mail: a.venzhik@medtp.ru.

**Nikolaev Denis** — JSC “Medtekhnoprojekt” (Moscow, 143026, Innovatsionnyy tsentr Skolkovo, Bol’shoj bul’var St., 42/1), chief product officer; specialist in macromolecular compounds. E-mail: d.nikolaev@medtp.ru.

**Romanova Irina** — JSC “Medtekhnoprojekt” (Moscow, 143026, Innovatsionnyy tsentr Skolkovo, Bol’shoj bul’var St., 42/1), CEO, specialist in biomedical technologies. E-mail: i.romanova@medtp.ru.