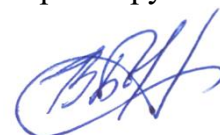


На правах рукописи



Боровкова Валентина Сергеевна

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НОВЫХ ПРОЦЕССОВ
ВЫДЕЛЕНИЯ И МОДИФИКАЦИИ НЕРЕГУЛЯРНЫХ
ПОЛИСАХАРИДОВ ДРЕВЕСИНЫ ХВОЙНЫХ**

1.4.4. Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Красноярск – 2024

Работа выполнена в Институте химии и химической технологии Сибирского отделения Российской академии наук – обособленном подразделении федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»

Научный руководитель: **Маляр Юрий Николаевич**
кандидат химических наук, доцент

Официальные оппоненты: **Тимофеева Мария Николаевна**
доктор химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела тонкого органического синтеза ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук»

Торлопов Михаил Анатольевич
кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии растительных полимеров Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук Федерального исследовательского центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

Защита состоится «04» февраля 2025 года в 14-30 на заседании диссертационного совета 24.1.228.04, созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» по адресу: 660036, г. Красноярск, Академгородок, 50, стр. 24, конференц-зал ИХХТ СО РАН (e-mail: dissovet@icct.ru).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке, на сайтах ФИЦ КНЦ СО РАН и ИХХТ СО РАН <http://icct.ru/about/dissovet/dissertatsii-i-obyavleniya-o-zashchite/>.

Автореферат разослан «___» декабря 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.228.04,
доктор химических наук



Бурмакина Галина Вениаминовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В последние годы возрастает тенденция к использованию возобновляемых источников сырья для производства ценных химических продуктов. Наиболее важным направлением в этой области является переработка лигноцеллюлозной биомассы (ЛЦБ) – перспективного альтернативного ресурса синтетическим полимерным материалам, благодаря ее большому количеству, короткому циклу регенерации, биоразлагаемости и экологичности.

Основными компонентами ЛЦБ являются целлюлоза, гемицеллюлозы и лигнин. В настоящее время именно нецеллюлозные полисахариды, гемицеллюлозы, находят все более широкое применение в качестве биоактивных функциональных материалов благодаря совокупности ценных свойств, важнейшими из которых являются низкая токсичность, высокая растворимость в воде и биоразлагаемость. В отличие от целлюлозы, в которой мономерные звенья химически однородны, гемицеллюлозы представляют собой семейство гетерополисахаридов с вариативной структурой и различным моносахаридным составом. Благодаря этому рассматриваемые полисахариды отличаются друг от друга физическими, физико-химическими и биологическими свойствами.

Однако традиционные процессы переработки ЛЦБ направлены на извлечение и дальнейшее использование целлюлозного компонента, в то время как гемицеллюлозы остаются в качестве крупнотоннажного отхода. Кроме того, существующие на сегодняшний день методы переработки лигноцеллюлозного сырья помимо разрыва сложных химических связей сопровождаются протеканием побочных реакций гидролиза, разрушающих нативную структуру полисахаридов, что вносит соответствующие ограничения в их практическое применение. Таким образом, изучение физико-химических закономерностей селективного выделения гемицеллюлоз с их последующей функционализацией является актуальной задачей, решение которой позволит установить влияние количественных характеристик и условий синтеза на структуру и свойства целевых продуктов.

Цель работы: изучение физико-химических закономерностей новых окислительных методов выделения и последующей модификации полисахаридов из древесины хвойных, установление состава, строения и свойств полученных полисахаридов и их производных.

Для достижения данной цели решались следующие **задачи:**

1. Исследовать влияние активаторов процесса окислительной делигнификации на выход, состав и конформационные характеристики гемицеллюлоз из древесины хвойных.
2. Установить механизмы действия активаторов и растворителей в процессе сульфатирования гемицеллюлоз комплексами на основе сульфаминовой кислоты.
3. Изучить влияние способа получения и строения сшивающих агентов при

функционализации гемицеллюлоз многоосновными карбоновыми кислотами.

4. Определить состав и строение полученных новых производных гемицеллюлоз с использованием комплекса физико-химических методов исследования: ГПХ, ИК, РФА, СЭМ, ТГА, ЯМР, ЭА.

5. Выявить взаимосвязи между химическим составом, строением и биологической активностью новых синтезированных материалов.

Научная новизна. Впервые установлено влияние природы активаторов на селективность выделения из природного органического сырья водорастворимых полисахаридов с высокой чистотой, низкой полидисперсностью и определенными конформационными характеристиками.

Впервые предложена схема реакции на основе сульфатирующего комплекса «сульфаминовая кислота – мочевины – 1,4-диоксан» в процессе функционализации гемицеллюлоз хвойных. Установлены параметры процесса, позволяющие получать производные полисахаридов с высокой степенью замещения без деструкции основной полимерной цепи.

Впервые описана зависимость образования внутри- и межмолекулярных сложноэфирных связей от строения сшивающих агентов и способа модификации гемицеллюлоз многоосновными карбоновыми кислотами.

Практическая значимость. Результаты селективного выделения полисахаридов методом окислительной делигнификации в среде «уксусная кислота – пероксид водорода – вода» могут быть использованы для утилизации отходов растительного сырья. Предложенные в работе методы получения полисахаридов и их функционализации с сохранением полимерной структуры могут быть применены при производстве ценных химических продуктов с широким спектром востребованных свойств. Кроме того, результаты биохимического анализа полученных продуктов свидетельствуют о перспективах использования гемицеллюлоз и их сульфатированных производных в медицине и фармакологии.

Методология и методы исследования. Состав и строение полученных гемицеллюлоз установлены физико-химическими (гель-проникающая хроматография, газовая хроматография, ИК-спектроскопия, 2D ЯМР-спектроскопия, элементный анализ, рентгенофазовый анализ, сканирующая электронная микроскопия) и химическими методами исследования. Проведена оценка биологической (антиоксидантной, антикоагулянтной) активности синтезированных образцов и их производных с помощью модельных соединений.

Положения, выносимые на защиту:

1. Структурные особенности древесных гемицеллюлоз хвойных, выделенных в процессе окислительной делигнификации в среде «уксусная кислота – пероксид водорода –

вода».

2. Схема реакции модификации гемицеллюлоз сульфатными группами с использованием экологически безопасных реагентов.

3. Закономерности функционализации гемицеллюлоз многоосновными карбоновыми кислотами с получением новых функциональных материалов.

4. Закономерности влияния состава и строения новых синтезированных материалов на биологические свойства.

Степень достоверности результатов. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы экспериментальными данными с применением современных физико-химических методов исследования (гель-проникающая хроматография, газовая хроматография, ИК-спектроскопия, 2D ЯМР-спектроскопия, элементный анализ, рентгенофазовый анализ, сканирующая электронная микроскопия), не противоречат известным положениям физической химии и базируются на воспроизводимых результатах.

Апробация работы. Результаты, изложенные в работе, докладывались и обсуждались на следующих международных и российских научных конференциях:

Междисциплинарная конференция молодых учёных ФИЦ КНЦ СО РАН (КМУ-XXV) (Красноярск, 2022); XII Всероссийская научная конференция «Химия и технология растительных веществ» (Киров, 2022); VII Школа молодых ученых «Новые каталитические процессы глубокой переработки углеводородного сырья и биомассы» (Красноярск, 2023); Всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы науки о полимерах» (Санкт-Петербург, 2023).

Работа выполнена в соответствии с планами НИР ИХХТ СО РАН:

- проект гос. задания ИХХТ СО РАН № FWES-2021-0012 «Исследования механизмов каталитических реакций в водной и водно-органической средах, реакционной способности и физико-химических свойств веществ из природного органического сырья с применением комплекса экспериментальных и теоретических методов».

А также проектами дополнительного финансирования:

- грант РФФИ № 20-43-242906 (AAAA-A20-120122390013-2) «Разработка фундаментальных научных основ экологически чистой термокаталитической переработки кородревесных отходов пихты, зараженных корневыми и стволовыми патогенами, в продукты с высокой добавленной стоимостью»;

- грант РФФИ № 20-33-70256 (AAAA-A19-119121190004-9) «Создание фундаментальных основ выделения и модификации древесных гемицеллюлоз как перспективных биоактивных полимеров и матриц»;

- грант РФФИ № 22-73-10212 «Создание фундаментальных основ экологически безопасных методов получения полифункциональных материалов на основе природных

полисахаридов»;

- грант КФН №2022110909070 «Разработка технологий выделения и модификации природных полисахаридов из древесины хвойных пород Арктической зоны и территорий Крайнего Севера для создания новых материалов биомедицинского назначения».

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие в выборе и обосновании актуальности научного направления исследований; проведении экспериментальной работы по выделению, функционализации и оценке биологической активности полисахаридов; обработке полученных результатов и подготовке публикаций. Результаты исследований являются оригинальными и получены лично Боровковой В.С. или при её непосредственном участии.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ. Кроме того, опубликованы материалы и тезисы 4 докладов на международных и российских конференциях.

Объем и структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, выводов, списка цитируемой литературы из 229 наименований. Работа изложена на 126 страницах, содержит 48 рисунков, 17 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** обоснована актуальность темы диссертационной работы, сформулирована цель исследований, обоснована научная новизна и практическая значимость результатов, перечислены основные положения, выносимые на защиту, приведены сведения об апробации материалов диссертации.

В **первой главе** приведен анализ литературных данных о составе и строении гемицеллюлоз (ГЦ) различного растительного сырья, методах их выделения из лигноцеллюлозной биомассы, способах модификации и оценки биологической активности.

Во **второй главе** приведено описание материалов, реактивов и экспериментальных установок, используемых для выделения гемицеллюлоз из древесины хвойных (лиственница, ель) методом окислительной делигнификации в среде «уксусная кислота – пероксид водорода – вода». Описаны методики модификации полисахаридов сульфатирующим комплексом «сульфаминовая кислота – органическое основание – органический растворитель», а также функционализации многоосновными карбоновыми кислотами с разной длиной углеродной цепи и кислотностью.

Представлен комплекс физико-химических методов исследования для характеристики состава и строения нативных и модифицированных гемицеллюлоз: ИК-спектроскопия (ИК-Фурье-спектрометр «Tensor-27»), рентгеновская дифракция (дифрактометр «ДРОН-3»), сканирующая электронная микроскопия (сканирующий электронный микроскоп «Hitachi TM-1000»), термогравиметрический анализ (прибор синхронного термического анализа «NETZSCH STA 449 F1 Jupiter»), гель-проникающая

хроматография (хроматограф «Agilent 1260 Infinity II Multi-Detector GPC/SEC System»), газовая хроматография (хроматограф «VARIAN-450 GC»), ЯМР-спектроскопия (спектрометр «Bruker Avance III 600»), элементный анализ (анализатор «Vario El Cube ELEMENTAR CHNSO») и химические методы.

Приведены параметры оценки антиоксидантной и антикоагулянтной активностей гемицеллюлоз и их функционализированных производных с помощью стандартной методики ингибирования свободных радикалов модельного соединения 1,1-дифенил-2-пикригидразида (ДФПГ) и методов биохимического анализа (тесты РеаКлот-гепарин и на агрегацию тромбоцитов), соответственно.

В **третьей главе** представлены результаты исследования влияния активаторов в процессе получения полисахаридов методом окислительной делигнификации древесины хвойных (лиственница, ель) в среде «уксусная кислота – пероксид водорода – вода», и приведены данные о функционализации гемицеллюлоз с получением новых производных. Комплексом физико-химических методов исследования установлены состав и строение полученных полисахаридов, а также приведена оценка их биологической активности.

Окислительная делигнификация древесины лиственницы/ели

Проведена серия экспериментов по выделению гемицеллюлоз древесины хвойных методом окислительной делигнификации в среде «уксусная кислота – пероксид водорода – вода» при вариации продолжительности (3 – 4 ч), температуры (90 – 100 °С) и активаторов надуксусной кислоты ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, MnSO_4 , TiO_2 , ZnSO_4 , H_2SO_4). Обнаружено, что с увеличением температуры до 100 °С и продолжительности до 4 ч максимальный выход гемицеллюлоз ели был достигнут в результате процесса без использования активаторов (51,8 мас.% относительно общего содержания ГЦ), гемицеллюлоз лиственницы – при использовании активатора $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ (76,4 мас.% относительно общего содержания ГЦ) (Рисунок 1).

Методом газовой хроматографии установлено количественное соотношение маннозы, галактозы, глюкозы, арабинозы и ксилозы в гемицеллюлозах хвойных. Полученные данные свидетельствуют о преобладании галактоглюкоманнана (ГГМ) в древесине ели (Рисунок 1а), и смеси полисахаридов арабиногалактана (АГ) и ГГМ в древесине лиственницы (Рисунок 1б). Однако в зависимости от активатора надуксусной кислоты образованные металлокомплексы селективно воздействуют на лигнино-углеводные связи и структуру выделенных полисахаридов, что выражается в изменении соотношения моносахаридов.

Использование $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, MnSO_4 , TiO_2 в качестве активаторов надуксусной кислоты не приводит к значительным изменениям нативной полимерной цепи ГГМ и АГ.

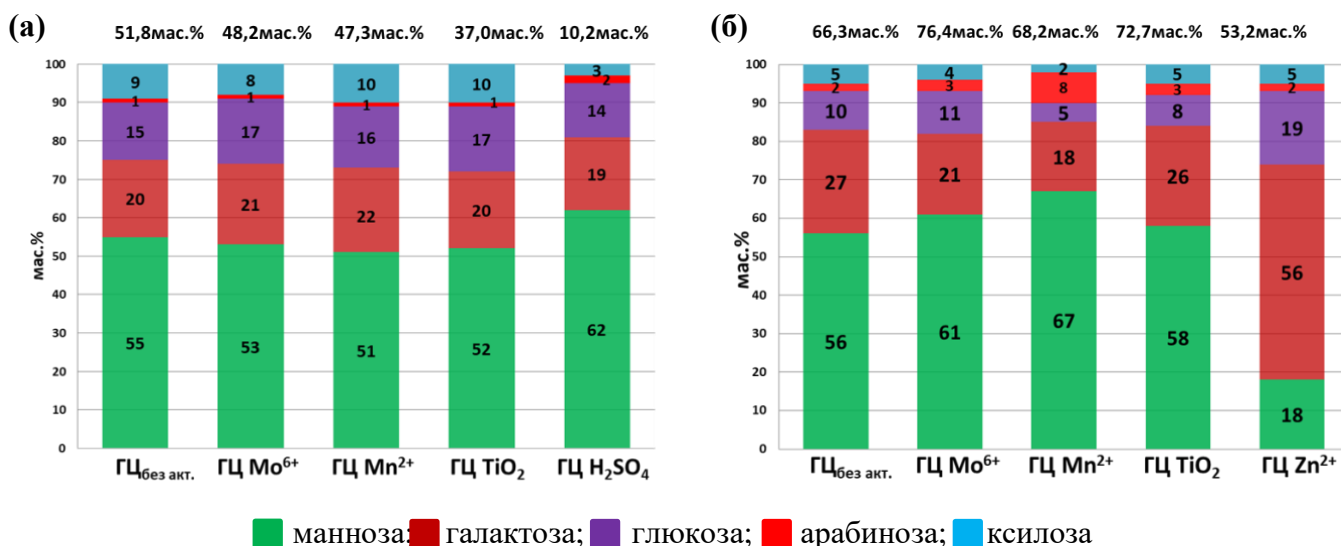


Рисунок 1 – Моносахаридный состав гемицеллюлоз, выделенных из жидких продуктов окислительной делигнификации древесины ели (а) и лиственницы (б) (относительные % от общего содержания моносахаридов)

Однако в присутствии активаторов ZnSO₄ и H₂SO₄ процесс окисления сопровождается интенсификацией гидролиза ГГМ, что выражается не только в изменении

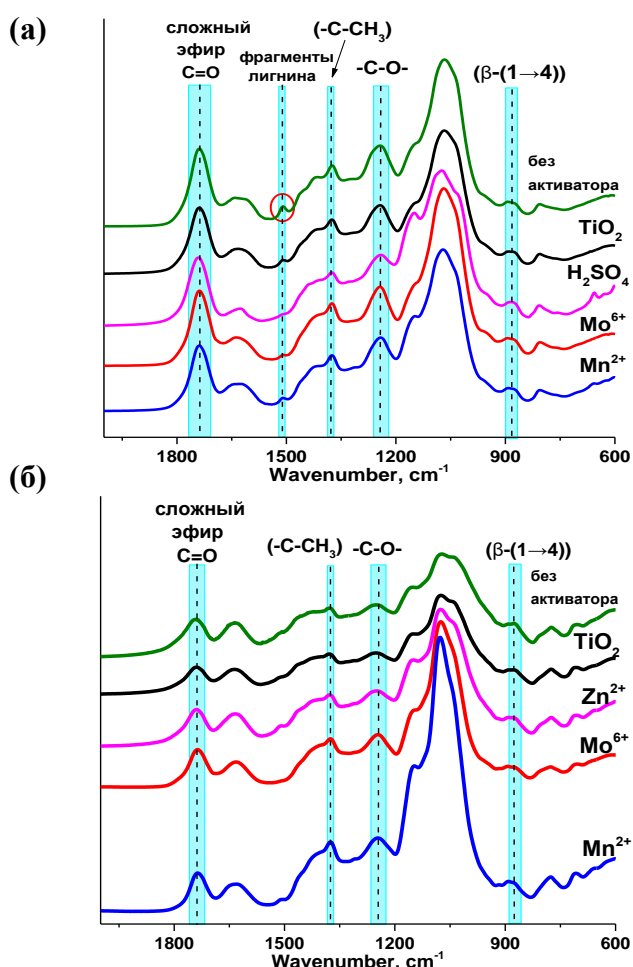


Рисунок 2 – ИК-спектры образцов гемицеллюлоз: (а) ели и (б) лиственницы

и уменьшении выходов целевых продуктов (Рисунок 1).

Методом ИК-спектроскопии идентифицированы все характеристичные полосы поглощения полисахаридов (Рисунок 2). Наличие полосы поглощения ~ 890 см⁻¹ указывает на то, что основная цепь всех полученных полисахаридов представлена β-(1→4) гликозидными связями. Кроме того, все образцы гемицеллюлоз являются частично ацетилированными, что отражается в трех полосах ацетилового эфира (1738, 1375 и 1243 см⁻¹). Следует обратить внимание, что полоса поглощения остаточного лигнина (~1500 см⁻¹) наиболее выражена в спектре гемицеллюлоз ели (Рисунок 2а), полученных без использования активатора, что свидетельствует о меньшей селективности разрыва лигнино-углеводных связей по сравнению с процессами, протекающими в условиях применения активаторов окислителя.

Методом мультidetекторной гель-проникающей хроматографии получены параметры уравнения Марка-Хаувинка-Сакурады (МХС) (1):

$$[\eta] = KM^\alpha, \quad (1)$$

где $[\eta]$ – характеристическая вязкость, M – молекулярная масса (г/моль), K и α – константы, характеризующие разветвленность и конформацию молекул полисахаридов. Построенные по уравнению МХС кривые представлены на рисунке 3.

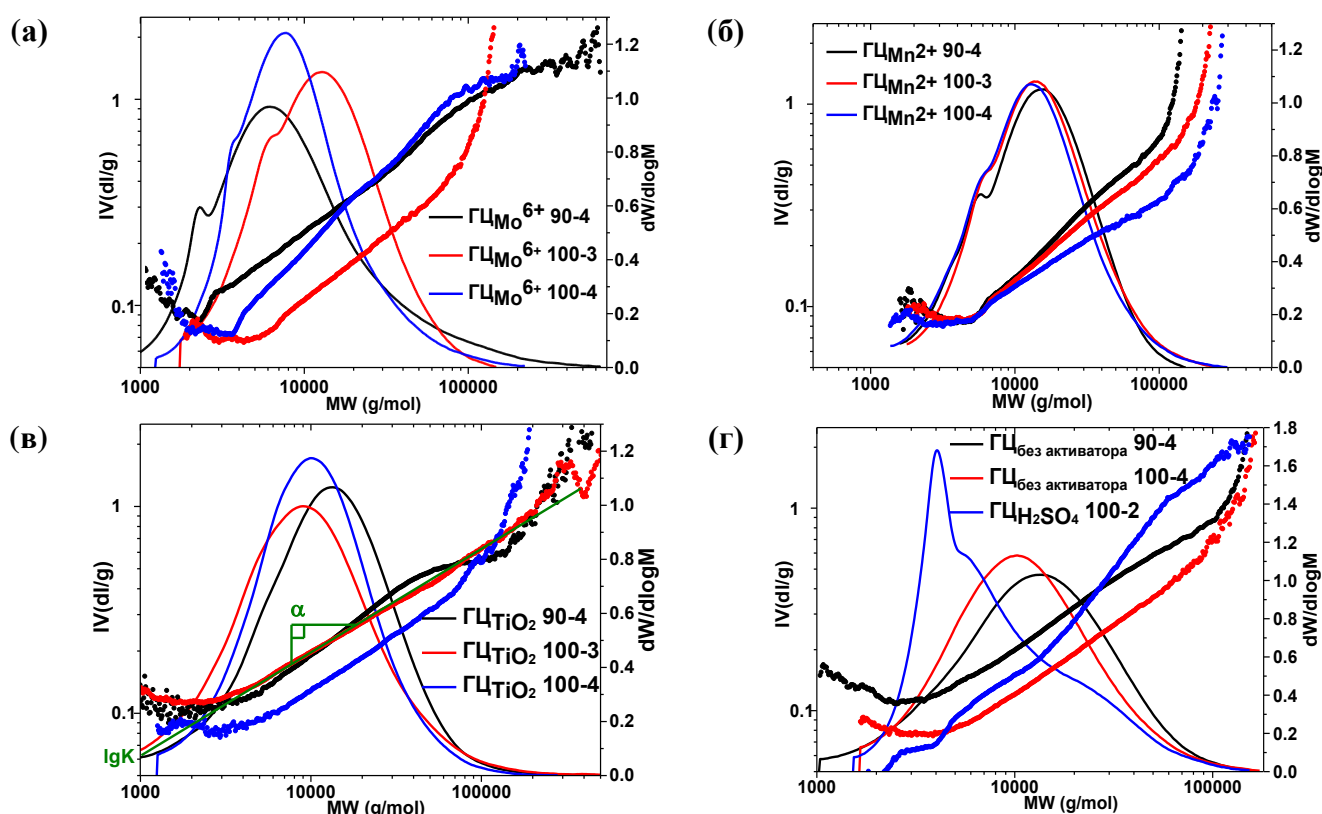


Рисунок 3 – Кривые молекулярно-массового распределения и графики МХС гемецеллюлоз, полученных в результате окислительной делигнификации древесины ели в присутствии: (а) $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, (б) MnSO_4 , (в) TiO_2 , (г) H_2SO_4 и без активатора

Анализ полученных данных показал, что в присутствии Mo^{6+} выделены полисахариды в конформации подвижного клубка (диапазон α от 0,45 до 0,63). При этом увеличение температуры до 100 °С и продолжительности процесса до 4 ч приводит к отщеплению боковых звеньев ГГМ. Данное явление отражается в снижении молекулярной массы до ~ 12000 г/моль, а также в смещении положения кривой МХС (Рисунок 3а), свидетельствуя об уменьшении разветвленности ГЦ. Аналогичное изменение температурного режима при использовании активатора Mn^{2+} приводит к трансформации конформации молекулы полимера от формы более подвижного клубка ($\alpha = 0,61$) до плотной сферы ($\alpha = 0,42$). При использовании активатора TiO_2 рост температуры и продолжительности процесса сопровождается увеличением разветвленности молекулы и молекулярной массы до ~ 35000 г/моль за счет частичного окисления гидроксильных групп

ГГМ. Аналогичная закономерность наблюдается в процессах без использования активаторов. Однако в таких условиях окисление полисахаридов протекает с небольшими изменениями конформации молекул, что отражено в уменьшении значений тангенса угла наклона кривой МХС (Рисунок 3г) от 0,59 до 0,41. Необходимо отметить, что использование H_2SO_4 в качестве активатора значительно увеличивает степень деструкции полисахаридов, о чем свидетельствует смещение основного пика в сторону меньших молекулярных масс, а также изменение конформации: молекула полисахарида приобретает вид линейного вытянутого стержня ($\alpha = 1,01$).

Таким образом, на основании полученных результатов сделан вывод о влиянии параметров выделения полисахаридов на их состав и строение, что открывает новые перспективы для синтеза гемицеллюлоз с контролируемыми физико-химическими характеристиками и их дальнейшего применения в фармакологии, пищевой промышленности и других областях.

Химическая модификация гемицеллюлоз хвойных

Сульфатирование галактоглокоманнана ели. На основе установленной структуры ГГМ предложена схема реакции сульфатирования полисахаридов комплексом «сульфаминовая кислота – мочевиная – 1,4-диоксан», которая включает в себя три стадии процесса (Рисунок 4).

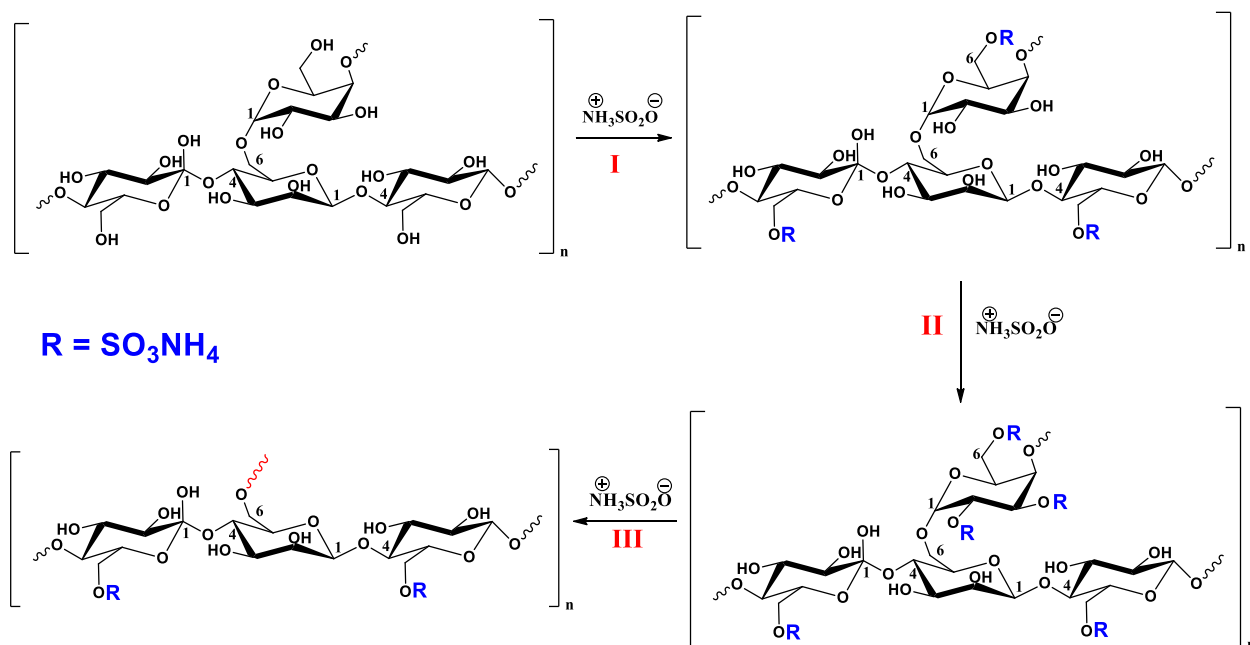


Рисунок 4 – Схема реакции сульфатирования ГГМ комплексом «сульфаминовая кислота – мочевиная – 1,4-диоксан»

На первой стадии происходит присоединение сульфатной группы в С-6 положение благодаря выгодному пространственному положению гидроксильной группы в этом

положении. С увеличением продолжительности процесса происходит дальнейшая этерификация свободных положений С-2, С-4 (вторая стадия).

Однако за счет электростатического отталкивания однозаряженных сульфатных групп происходит раскручивание молекулы, что приводит к интенсификации побочных реакций гидролиза по боковым гликозидным связям (1→6) с отщеплением сульфатированных моносахаридных остатков (третья стадия). В ходе процесса сульфатирования получена серия продуктов, которая охарактеризована двумя методами, результаты которых согласуются между собой: элементным анализом и гель-проникающей хроматографией.

Зависимость процентного содержания серы и средневесовой молекулярной массы продуктов от продолжительности сульфатирования в данном процессе представлена на рисунке 5.

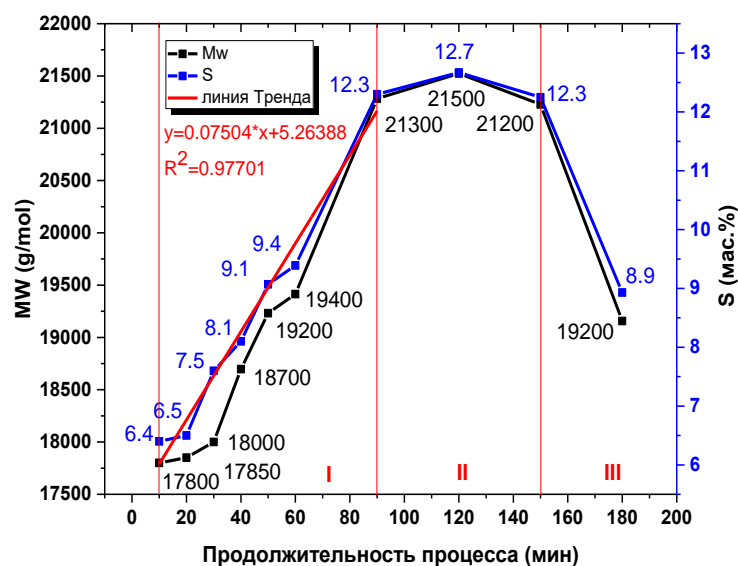


Рисунок 5 – Зависимость процентного содержания серы и средневесовой молекулярной массы от продолжительности процесса сульфатирования

Основная стадия реакции сульфатирования (I) протекает до 90 мин, о чем свидетельствует пропорциональное увеличение степени сульфатирования до 12,3 мас.% и молекулярных масс до ~21300 г/моль. Данная стадия описывается уравнением псевдо-нулевого порядка по отношению к сульфаминовой кислоте, что характерно для гетерогенных систем такого рода, при которых одно реагирующее вещество содержится в значительном избытке по отношению к другим реагентам.

При увеличении продолжительности процесса сульфатирования от 90 до 150 мин (стадия II) происходит замедление роста степени сульфатирования и молекулярных масс с последующим резким уменьшением исследуемых параметров (стадия III). Данные наблюдения подтверждают предложенную схему реакции (рисунок 4), что позволяет получать функционализированные полисахариды с необходимой степенью замещения и сохранением полимерной структуры.

Кроме того, исследовано влияние физико-химических параметров растворителей (диэлектрическая проницаемость (ϵ_0) и основность ($-lgK_b$)) в системе «сульфаминовая кислота – мочеви́на» на процентное содержание серы в сульфатированном ГГМ (СГГМ) (Таблица 1).

Выявлено, что использование как сильно полярных (ДМСО, ДМФ), так и менее полярных растворителей (1,4-диоксан, диглим) с низкой основностью позволило получить

продукты с высоким содержанием серы. Следовательно, фактор основности растворителя оказывает большее влияние на протекающие в данной системе процессы.

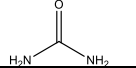
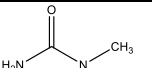
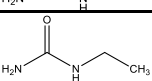
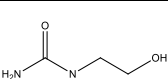
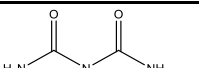
Таблица 1 – Влияние физико-химических параметров растворителей на содержание серы в СГГМ

№	Растворитель	ϵ_0	$-lgK_b$	S (мас.%)
1	1,4-диоксан	2,3	16,9	12,6
2	Пиперидин	5,9	2,9	8,4
3	Морфолин	7,3	5,7	8,0
4	Диглим	7,4	17,7	11,2
5	Пиридин	12,5	8,8	8,6
6	ДМФ	38,0	14,3	12,2
7	ДМСО	46,7	12,9	13,3

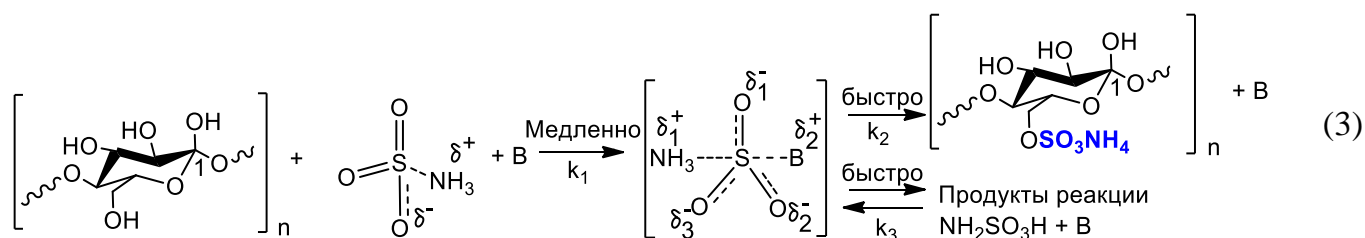
Тем не менее, выявлено, что очистка диализом производных полисахаридов, полученных в среде ДМСО и ДМФ, является очень трудоемким и длительным процессом (более 24 ч) вследствие прочного связывания растворителя с продуктами реакции. Однако, очистка диализом СГГМ от 1,4-диоксана уже после 12 часов позволила получить продукт высокой чистоты.

Влияние строения активаторов на молекулярно-массовые характеристики и содержание серы сульфатированных производных ГЦ, полученных в процессе функционализации комплексом «сульфаминовая кислота – органическое основание» в среде 1,4-диоксана, отражено в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние строения органического основания на молекулярно-массовые характеристики и содержание серы в сульфатированных производных арабиногалактана (САГ) в процессе модификации сульфаминовой кислотой в 1,4-диоксане

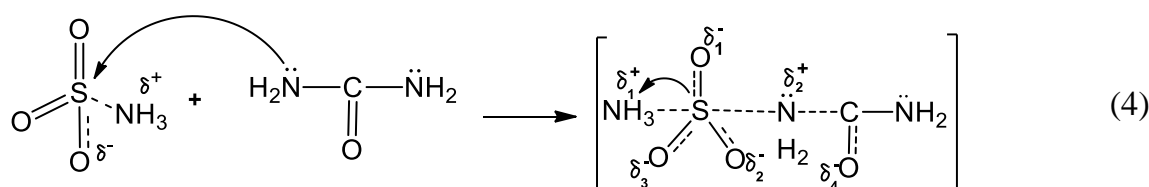
Образец	Активатор	Органическое основание	M_w (г/моль)	PDI	S (мас.%)
АГ	-	-	10300	1,29	-
САГ	мочевина		12700	1,11	12,6
САГ	метил мочевины		12300	1,29	9,4
САГ	этил мочевины		11000	1,22	8,0
САГ	гидроксиэтил мочевины		11100	1,22	8,0
САГ	биурет		10900	1,27	7,6

Установлено, что в процессе функционализации ГЦ скорость прямого взаимодействия спиртовой группы полисахаридов с сульфаминовой кислотой ниже скорости сульфатирования комплексом «сульфаминовая кислота – органическое основание», поскольку связь S–N в кислоте прочнее (Уравнение 2), чем в донорно-акцепторном комплексе, образованном в присутствии органического основания – мочевины и ее алкил-производных (Уравнение 3).



Исходя из этого высказано предположение, что при сульфатировании полисахарида согласно уравнению 3 реакция имеет первый порядок по сульфаминовой кислоте и нулевой по спиртовой группе ГЦ. Следовательно, лимитирующей стадией в данной реакции является разложение сульфаминовой кислоты на аммиак и триоксид серы, что отражено уравнением 2.

Кроме того, увеличение длины углеродной цепи мочевины приводит к небольшому увеличению основности ее алкил-производных, что сопровождается образованием еще более устойчивых комплексов и, как следствие, возникновению стерических ограничений (Уравнение 4), замедляющих процессы сульфатирования, что также прослеживается в полученных результатах (Таблица 2).



Сульфатирование галактоглокоманнана ливневницы. Исследование сульфатирования

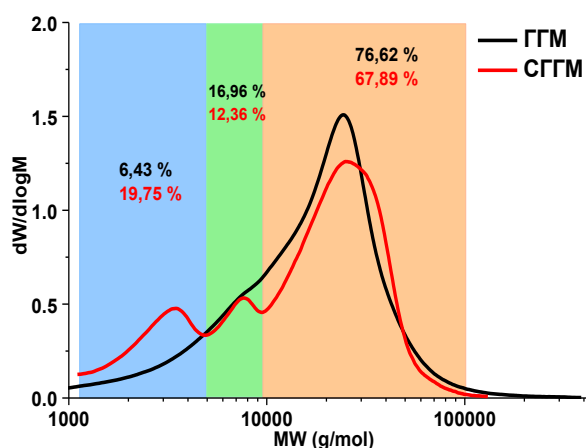


Рисунок 6 – Кривые молекулярно-массового распределения образцов ГГМ и СГГМ

ГГМ ливневницы показало, что в системе «сульфаминовая кислота – мочевины – 1,4-диоксан» процесс происходит без гидролиза основной цепи полимера, что выражается в смещении основного пика в более высокомолекулярную область (~26000 г/моль) на кривых молекулярно-массового распределения (Рисунок 6).

Кроме того, становятся более

выраженными минорными пиками с молекулярной массой ~ 8000 и 3000 г/моль за счет высокой реакционной способности олигомеров ГГМ, вследствие их конформационных особенностей и большого количества функциональных групп, вступающих в реакцию сульфатирования.

Включение в состав полимера сульфатных групп подтверждено методом ИК-спектроскопии (Рисунок 7). В ИК-спектрах появляются полосы поглощения,

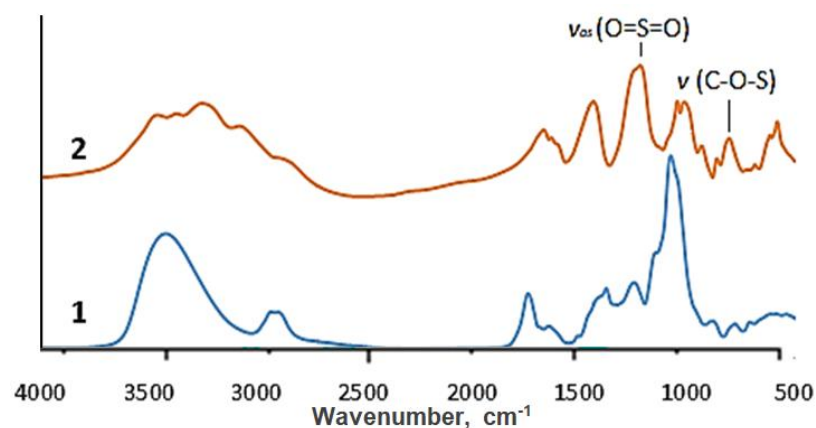


Рисунок 7 – ИК-спектры образцов: (1) ГГМ; (2) СГГМ

соответствующие ассиметричным валентным колебаниям групп SO_2 ($\text{O}=\text{S}=\text{O}$), а также полосы поглощения, свидетельствующие о присутствии сульфатной группы ($\text{C}-\text{O}-\text{S}$) в структуре модифицированного ГГМ. При этом область, соответствующая валентным колебаниям связей $\text{O}-\text{H}$ и $\text{C}-\text{H}$ видоизменяется за

счет наложения полос поглощения валентных колебаний связи $\text{N}-\text{H}$ в катионе аммония.

Кросс-сшивание. Исследование функционализации АГ многоосновными карбоновыми кислотами показало, что не зависимо от методики получения (термическое и лиофильное высушивание), модификация протекает с образованием сложноэфирных связей между гидроксильными группами полисахарида и карбоксильными группами кислот. Кроме того, процессы этерификации в большинстве из представленных случаев сопровождаются побочными реакциями гидролиза, о чём свидетельствует смещение кривых молекулярно-массового распределения (Рисунок 8).

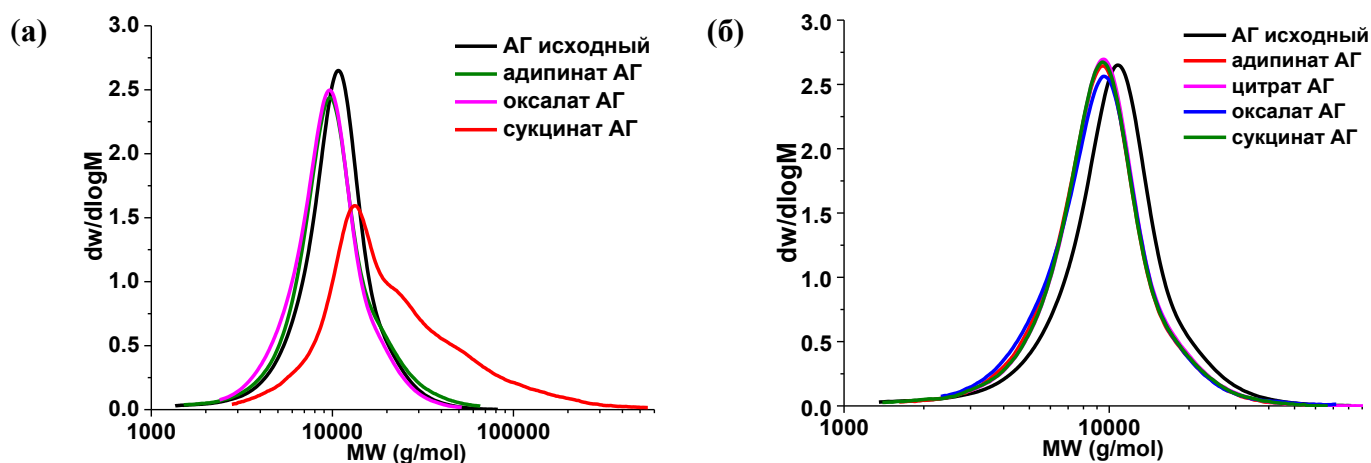


Рисунок 8 – Кривые молекулярно-массового распределения производных АГ, полученных при термическом (а) и лиофильном высушивании (б)

Необходимо отметить, что сукцинат АГ, полученный способом термического высушивания реакционной смеси, проявляет заметную гидрофобность с одновременным ростом молекулярной массы (Рисунок 8а). Кроме того, цитрат АГ не растворим в водной среде вовсе, что свидетельствует об эффективном протекании процесса межмолекулярной сшивки за счет образования меж- и внутримолекулярных сложноэфирных связей.

Исследование образцов методом СЭМ показало, что при термическом высушивании получаются материалы с более плотной и однородной поверхностью, что обусловлено постепенным удалением растворителя из системы, способствующим протеканию процесса этерификации (Рисунок 9).

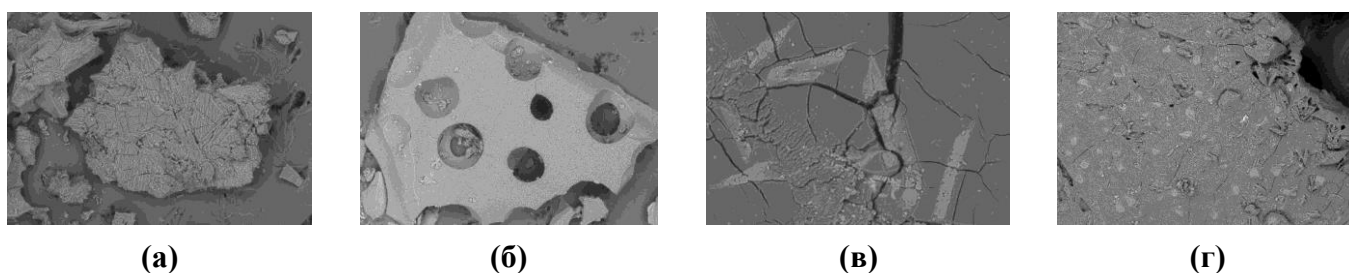


Рисунок 9 – СЭМ изображения АГ и его производных (термическая сушка): (а) адипинат АГ, (б) цитрат АГ, (в) оксалат АГ и (г) сукцинат АГ (увеличение в 200 раз)

Лиофилизированные образцы, приобретают фибриллярную структуру, напоминающую «каркас» с множеством вытянутых каналов (Рисунок 10).

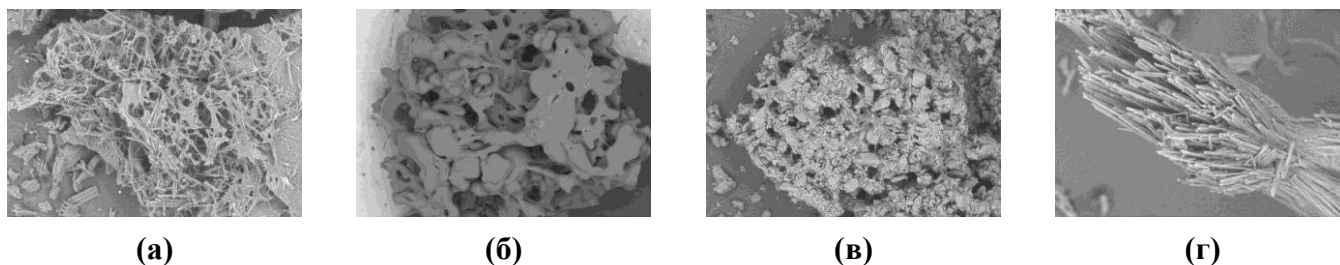


Рисунок 10 – СЭМ изображения АГ и его производных (лиофильная сушка): (а) адипинат АГ, (б) цитрат АГ, (в) оксалат АГ и (г) сукцинат АГ (увеличение в 200 раз)

Заметно отличается только сукцинат АГ (Рисунок 10г), который имеет волокнистую структуру, обеспечивающую данному материалу наиболее выраженные сорбционные свойства (до 82,52% сорбционной емкости по метиленовому синему).

На ИК-спектрах материалов (Рисунок 11) имеются полосы поглощения высокой интенсивности, свидетельствующие об образовании сложных эфиров: в области 1700 и 1600 см^{-1} – сложноэфирная карбонильная связь ($\text{C}=\text{O}$), ~ 1080 и 1162 см^{-1} – $\text{C}-\text{O}$ карбоксилата. Однако в спектрах оксалата АГ (Рисунок 11в) полосы поглощения сложных эфиров проявляются с меньшей интенсивностью, что обусловлено преобладанием процесса гидролиза над реакцией этерификации. Кроме того, появление полос поглощения в спектрах адипината и оксалата АГ в области $\sim 1710\text{ см}^{-1}$ указывает на непрореагировавшие

карбоксильные группы карбоновых кислот (Рисунок 11а, в), что связано со стерическими ограничениями.

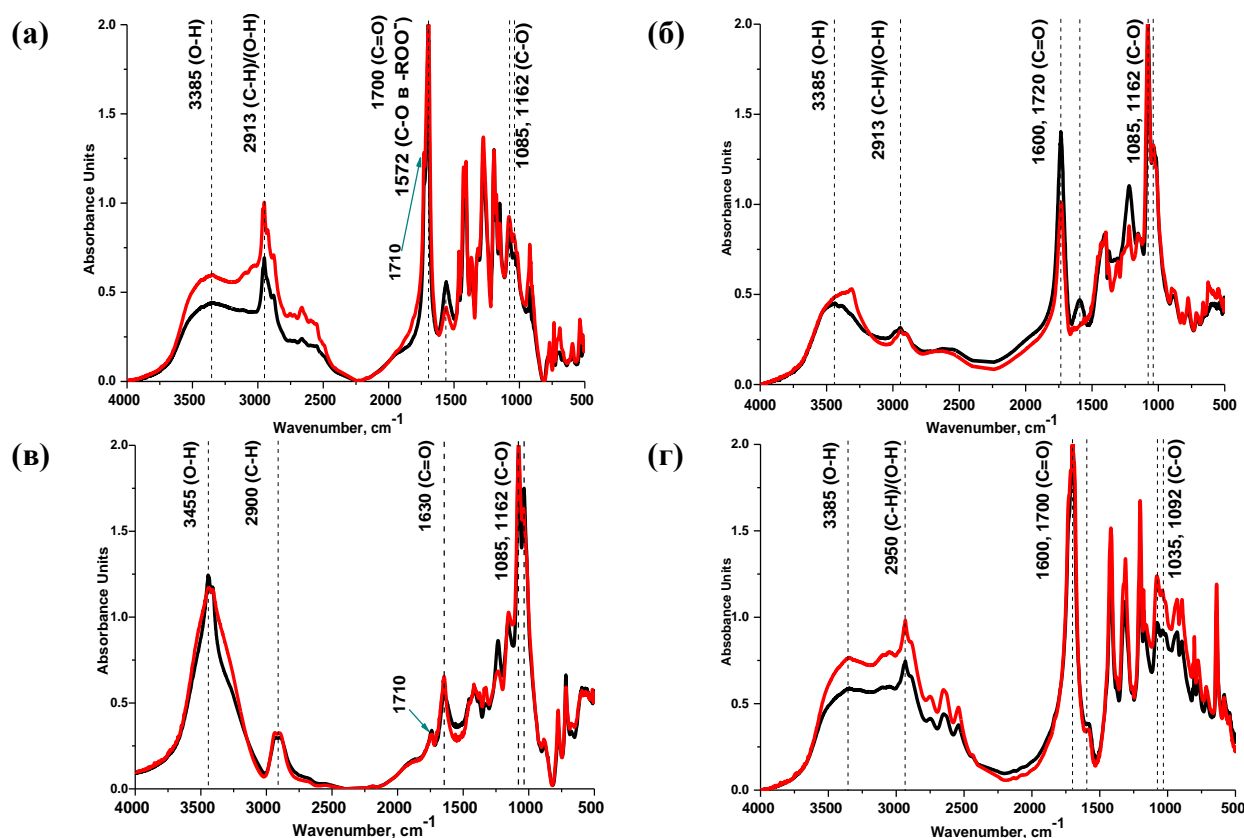


Рисунок 11 – ИК-спектры образцов: (а) адипината, (б) цитрата, (в) оксалата и (г) сукцината АГ, полученных в результате: — термического и — лиофильного высушивания

Исследование термических свойств модифицированных образцов показало (Рисунок 12), что модификация арабиногалактана карбоновыми кислотами вне зависимости от способа высушивания существенно меняет характер его термического разложения. Диапазон стадии основного разложения исследованных образцов заметно расширился. Так, температура начала основного разложения в модифицированных образцах снизилась на 70–80 °С. Исключением оказался оксалат АГ, который сохранял термостойкость до 190 °С. Однако по окончании пиролиза данный образец характеризуется меньшим остатком по сравнению с другими модифицированными образцами, что, по всей видимости, вызвано

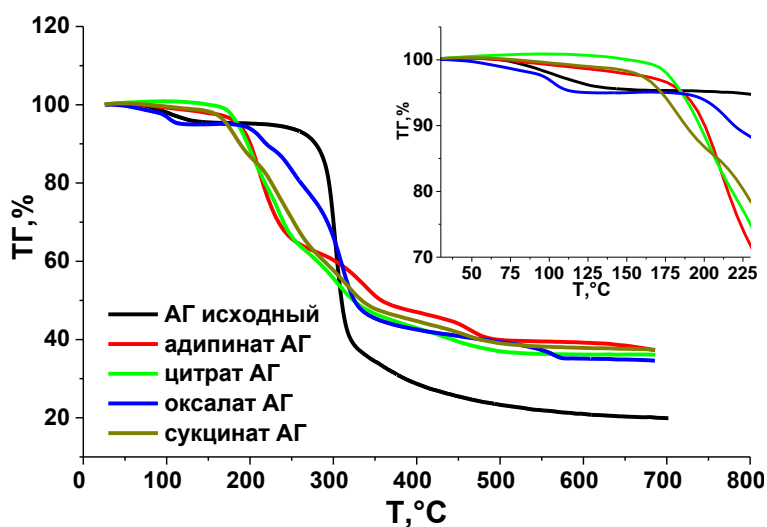


Рисунок 12 – Кривые ТГ арабиногалактана и его производных (термическая сушка)

сохранением первоначальной структуры АГ и образованием наименее термически устойчивых фрагментов.

Оценка биологической активности гемицеллюлоз хвойных

Антиоксидантная активность гемицеллюлоз ели. Тестом, показывающим способность на антиоксидантную активность, является ингибирование свободных

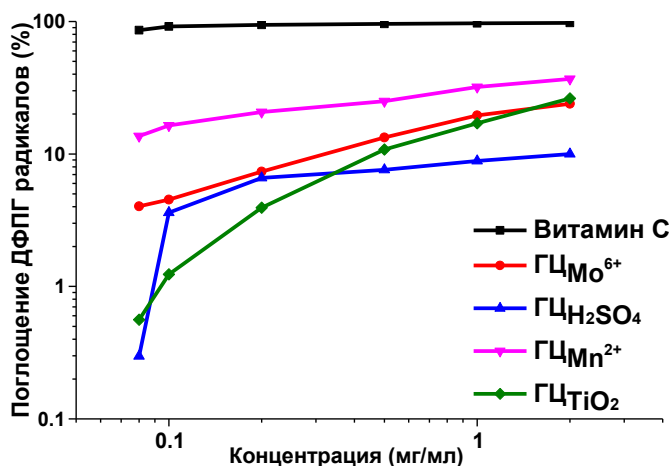


Рисунок 13 – Поглощение ДФПГ радикалов витамином С, ГЦМо⁶⁺, ГЦMn²⁺, ГЦTiO₂ и ГЦН₂SO₄ при различных концентрациях

активности являются.

радикалов в растворе. Проведенные исследования (Рисунок 13) показали увеличение поглощающей способности гемицеллюлоз в ряду: ГЦН₂SO₄ < ГЦTiO₂ < ГЦМо⁶⁺ < ГЦMn²⁺, достигая максимума ~38,7% при концентрации ГЦMn²⁺ в растворе 2,0 мг/мл. Эффективность поглощения свободных радикалов полисахаридами коррелирует с чистотой продукта и устойчивостью основной цепи полимера к деструкции. Полученные значения антиоксидантной

Антикоагулянтная активность сульфатированных производных гемицеллюлоз лиственницы. Методами биохимического анализа было установлено, что в тесте РеаКлот-гепарин с увеличением концентрации сульфатированного образца (0,001463 – 0,1463 мг/мл) время появления фибринового сгустка плазмы возрастает (Рисунок 14а).

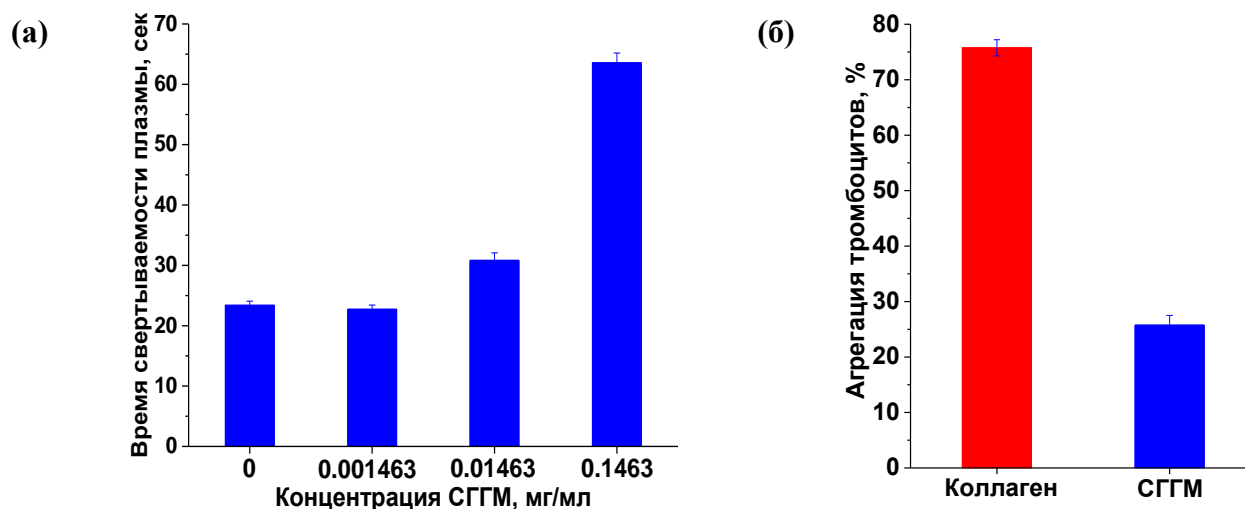


Рисунок 14 – Влияние СГГМ на время свертывания плазмы в тесте РеаКлот-гепарин (n=6) (а); на коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов человека (%) (б)

При проведении анализа на коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов человека относительно контрольного образца (Рисунок 14б), было установлено, что инкубация плазмы, обогащенной тромбоцитами с сульфатом ГГМ (1,67 мг/мл) приводит к снижению агрегации почти в 3 раза по сравнению с контролем. Полученные результаты свидетельствуют о перспективах использования полисахаридов и их сульфатированных производных в фармакологии.

ВЫВОДЫ

1. Установлено влияние активаторов надуксусной кислоты (TiO_2 , Mo^{6+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , H_2SO_4) на выход, состав и конформационные характеристики гемицеллюлоз хвойных пород деревьев, полученных в процессе окислительной делигнификации в системе «уксусная кислота – пероксид водорода – вода». Максимальный выход гемицеллюлоз ели достигнут в результате процесса без использования активаторов (51,8 мас.% отн. общего содержания ГЦ), гемицеллюлоз лиственницы – при использовании активатора $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ (76,4 мас.% отн. общего содержания ГЦ).

2. Предложена трехстадийная схема реакции и установлен псевдо-нулевой порядок основной стадии сульфатирования гемицеллюлоз из древесины хвойных пород комплексом «сульфаминовая кислота – мочевины – 1,4-диоксан». В процессе сульфатирования получены производные гемицеллюлоз с высокой степенью замещения без деструкции основной полимерной цепи.

3. Впервые установлено влияние строения сшивающего агента и методики получения на структуру, морфологию, сорбционные и термические свойства новых производных гемицеллюлоз хвойных, модифицированных многоосновными карбоновыми кислотами. Показано, что полученные в результате термического высушивания сукцинат и цитрат арабиногалактана проявляют наиболее выраженные гидрофобные свойства за счет образования меж- и внутримолекулярных сложноэфирных связей.

4. Впервые выявлены зависимости между химическим составом, строением и биологической активностью гемицеллюлоз и их сульфатированных производных. Показано, что поглощение свободных радикалов гемицеллюлозами связано с чистотой продукта и отсутствием деструкции основной цепи полимера. Методами биохимического анализа установлено, что сульфаты галактоглокоманнана проявляют выраженные антикоагулянтные свойства.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. **Borovkova V.S.**, Malyar Y.N., Sudakova I.G., Chudina A.I., Skripnikov A.M., Fetisova O.Yu., Kazachenko A.S., Miroshnikova A.V., Zimonin D.V., Ionin V.A., Seliverstova

A.A., Samoylova E.D., Issaoui N. Molecular characteristics and antioxidant activity of spruce (*Picea abies*) hemicelluloses isolated by catalytic oxidative delignification // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27, Iss. 1. – P. 266.

2. Malyar Y.N., **Borovkova V.S.**, Kazachenko A.S., Fetisova O.Y., Skripnikov A.M., Sychev V.V., Taran O.P. Preparation and characterization of di- and tricarboxylic acids-modified arabinogalactan plasticized composite films // *Polymers*. – 2023. – Vol. 15, Iss. 9. – P. 1999.

3. Chudina A.I., Malyar Y.N., Sudakova I.G., Kazachenko A.S., Skripnikov A.M., **Borovkova V.S.**, Kondrasenko A.A., Mazurova E.V., Fetisova O.Yu., Ivanov I.P. Physicochemical characteristics of polysaccharides from catalytic and noncatalytic acetic acid-peroxide delignification of larch wood // *Biomass Conversion and Biorefinery*. – 2021. – Vol. 13, Iss. 11. – P. 9765-9774.

4. Malyar Y.N., Vasilyeva N.Y., Kazachenko A.S., **Borovkova V.S.**, Skripnikov A.M., Miroshnikova A.V., Zimonin D.V., Ionin V.A., Kazachenko A.S., Issaoui N. Modification of arabinogalactan isolated from *Larix sibirica* Ledeb. into sulfated derivatives with the controlled molecular weights // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, Iss.17. – P. 5364.

5. Kazachenko, A.S., Malyar, Y.N., Vasilyeva, N.Yu., Fetisova O.Yu., Chudina A.I., Sudakova I.G., Antonov A.V., **Borovkova V.S.**, Kuznetsova S.A. Isolation and sulfation of galactoglucomannan from larch wood (*Larix sibirica*) // *Wood Science and Technology*. – 2021. – Vol. 55. – P. 1091–1107.

6. Drozd N.N., Kuznetsova S.A., Malyar Y.N., Kazachenko A.S., **Borovkova V.S.**, Berezhnaya Y.D. Thrombin and factor Xa hydrolysis of chromogenic substrates in the presence of sulfated derivatives of galactomannan and galactoglucomannan natural gels // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14, Iss. 12. – P. 2678.

Тезисы докладов

7. Боровкова В.С., Маляр Ю.Н., Чудина А.И., Судакова И.Г. Древесные гемицеллюлозы ели *Picea abies*: выделение, свойства, антиоксидантная активность // Конференция молодых Ученых КНЦ СО РАН – 2022 Секция «Химия», 7 апреля 2022, г. Красноярск, – с. 10-13.

8. Боровкова В.С., Маляр Ю.Н. Исследование влияния катализаторов различной природы на структуру и антиоксидантную активность древесных гемицеллюлоз ели *Picea Abies* // XII Всероссийская научная конференция «Химия и технология растительных веществ», 29 ноября – 02 декабря 2022 г., г. Киров, – с. 24.

9. Боровкова В.С., Маляр Ю.Н., Казаченко А.С., Дрозд Н.Н. Экстракционная каталитическая переработка древесины лиственницы *Larix sibirica* с получением функциональных водорастворимых полисахаридов // Седьмая школа молодых ученых «Новые каталитические процессы глубокой переработки углеводородного сырья и биомассы», 2 - 6 октября 2023 г. Красноярск, с. 66-67.

10. Боровкова В.С., Маляр Ю.Н., Казаченко А.С. Получение и характеристика пластифицированных композитных пленок арабиногалактана, модифицированных полифункциональными карбоновыми кислотами // Всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы науки о полимерах», 13 - 17 ноября 2023 г., г. Санкт-Петербург, с. 76.

Благодарности

Автор выражает благодарность сотрудникам ИХХТ СО РАН: к.х.н., доценту Васильевой Н.Ю., к.х.н., доценту Казаченко А.С., к.т.н. Судаковой И.Г., к.х.н. Чудиной А.И за помощь в проведении экспериментальной работы; сотрудникам Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН за помощь в проведении физико-химических исследований; сотруднику ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра гематологии» г. Москва д.б.н. Дрозд Н.Н.