

УДК 531/534:57+612.7

## ЗАВИСИМОСТЬ ВЯЗКОСТИ ВОДНОГО РАСТВОРА ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ ОТ ВНЕШНИХ ПОЛЕЙ. ЧАСТЬ II

Э. Швайчак

Department of Physics, Rzeszow University of Technology, 6, Powstancow Warszawy, 35-959, Rzeszow, Poland, e-mail: etsz@prz.rzeszow.pl

Кафедра физики технического университета, г. Жешов, Польша

**Аннотация.** В данной работе обсуждается зависимость вязкости водных растворов биополимера – гиалуроновой кислоты от внешних полей, таких как температура, скорость сдвига и напряжения. Наиболее полезным способом характеристики таких сложных жидкостей является проведение реологических измерений. Измерение вязкостей  $\eta$ ,  $\eta'$ ,  $\eta''$  было произведено в растворах гиалуроновой кислоты с высоким молекулярным весом, которые были получены в биологических системах.

**Ключевые слова:** гиалуроновая кислота, биополимер, синовиальная жидкость, жидкие кристаллы, вязкость, скорость сдвига, напряжения, температура, эксперимент.

### Введение

Биологические жидкости относятся к группе самоорганизующихся материалов (спонтанно образующих состояние жидкокристаллического порядка) или к группе структурированных материалов (состояние жидких кристаллитов может быть индивидуализировано). Синовиальная жидкость и другие жидкости, полученные из естественных источников, являются многокомпонентными водными растворами. Молекулы этих живых систем обнаруживают свойства лиотропных и/или термотропных жидких кристаллитов и соответствующую им структуру.

Двумя главными свойствами нематических жидких кристаллов являются кристалличность (ориентационный порядок высокой степени) и текучесть. Большинство взаимодействий растворитель-растворенное вещество являются взаимодействиями, производящими порядок высокого порядка. Имеется несколько критериев для образования полимерной нематической лиотропной структуры [1, 2]:

- концентрация полимера выше критической величины,
- молекулярный вес полимера выше критической величины,
- температура ниже критической величины.

Эти критические значения зависят от вида растворителя. Известно, что нематическая жидкокристаллическая фаза содержит более высокую концентрацию полимера и больший средний молекулярный вес, чем изотропная фаза [3, 4, 5, 6]. Жидкокристаллическое состояние может быть непосредственно связано с химическим строением молекул. Образование мезофазы жидкокристаллических полимеров может

быть отнесено к природе химических единиц цепи (например, мономеров) и природе цепей [4].

Имеются различные типы структуры, способной производить «соответствующую жесткость», которая характерна для жидких кристаллитов [6, 7].

Некоторые макромолекулы обладают определенной конформационной гибкостью. Конформационное движение гибких элементов позволяет создать ориентационное расположение мезогенов, которое индуцирует поведение жидкого кристаллита.

Некоторые гибкие цепи – такие, как цепи поли (гамма-бензил глутамата) – могут стать жесткими путем преобразования спираль – винтовая линия. В этом случае происходит соответствующее фазовое превращение.

Другой тип спирали образуется при внутримолекулярных и межмолекулярных связях, например, при водородных связях.

Некоторые более гибкие макромолекулы могут быть жесткими путем образования вторичной структуры, например, полипептидов.

Однако известно, что жидкокристаллические материалы очень чувствительны к ориентированным внешним полям, таким как электрическое поле, магнитное поле, температура, давление или поле течения. При отсутствии других ориентированных полей динамика структурированных систем (жидкие кристаллы и системы с ориентацией, схожей с ориентацией жидких кристаллитов) сильно зависит от наложенных внешних течений [5, 8-11].

Измеренные физические свойства являются характерными материальными свойствами, только если материал является единым доменом. Такое состояние «монокристаллической жидкости» возникает только в очень специфических условиях, в присутствии сильно ориентированных полей и/или при совместных поверхностных эффектах [12]. Однако каждое из реальных мезоморфных состояний есть полидоменное состояние. Поэтому измеренные свойства можно рассматривать как характерные материальные свойства при фиксированных условиях измеренной системы.

Главная компонента синовиальной жидкости – гиалуроновая кислота имеет основные функции: смазочный эффект и поглощение ударных импульсов. Кроме того, многочисленные функции гиалуроновой кислоты заключаются в биофизических и гомеостатических свойствах тканей. Она также играет решающую роль в поведении динамических клеточных систем – развитии эмбриона и развитии опухоли.

Такой биополимер имеет вязкоупругие свойства [5, 13]. Вязкоупругость гиалуроновой кислоты зависит от ее микроструктуры и внешних параметров, таких как скорость сдвига, напряжения и температура.

Особое внимание было обращено в работе [5] проверке зависимости вязкости водного раствора гиалуроновой кислоты от микроструктурных параметров. Физические свойства гиалуронана были обсуждены в молекулярных аспектах, т.е. с учетом его полимерной структуры и структуры раствора.

В данной работе, являющейся второй частью работы [5], также обсуждено влияние на водные растворы биополимерной гиалуроновой кислоты внешних полей, таких как скорость сдвига, напряжение и температура. Знание зависимости вязкости модельной синовиальной жидкости от вышеуказанных параметров является очень полезным для биомедицинских приложений, например, при заболевании синовиальных суставов. Измерения вязкостей  $\eta$ ,  $\eta'$ ,  $\eta''$  были произведены в гиалуроновой кислоте высокого молекулярного веса, полученной из биологических источников.

## Комментарии по реологии жидкокристаллических материалов

Реология жидкокристаллических полимеров весьма сильно отличается от реологии обычных жидких кристаллов (жидкие кристаллы малого молекулярного веса). Однако реологическое поведение жидкокристаллических полимеров также отличается от поведения обычных полимерных жидкостей. В то же время поведение этих материалов обнаруживает некоторое сходство.

А именно, жидкокристаллические полимеры и жидкие кристаллы ведут себя как неньютоновские жидкости. Их вязкости зависят от скорости сдвига. Динамика нематических жидкокристаллических материалов в сдвиговых течениях сильно зависит от расположения молекул и направления течения [15].

В обоих случаях (жидкие кристаллы и жидкокристаллические полимеры) известны ориентационные эффекты течения: так называемый эффект кувыркания (непрерывное вращение директора со временем в плоскости сдвига) и эффект выравнивания течения (директор приспособливает свою ориентацию к направлению течения) [5 и ссылки там]. Жидкокристаллические полимеры могут переходить от одного состояния к другому. Однако молекулы жидких кристаллов релаксируют очень быстро; макромолекулы жидкокристаллических полимеров, особенно в концентрированных системах, релаксируют очень медленно. Межповерхностные эффекты (граничные взаимодействия, поверхностные эффекты, эффекты закрепления) очень важны для описания приповерхностной динамики полимерных макромолекул и межповерхностной вязкости/ вязкоупругости.

Реологическое поведение жидкокристаллических полимеров в нематической жидкокристаллической фазе напоминает, с одной стороны, жидкие кристаллы, а с другой стороны, жидкокристаллические полимеры в изотропной фазе ведут себя так же, как обычные полимерные жидкости. В анизотропной фазе все кристаллические материалы ведут себя «нелинейно» [14].

## Результаты и обсуждение

В данной статье изучаются водные растворы соли натрия гиалуриновой кислоты (гиалуронана). Материалы, исследованные в работе, получены из естественных источников. Аналогичные материалы изучены в работе [5].

Образец	Концентрация $c$ в мг/мл	Средний молекулярный вес $M_w$
Гиалуронан I (HAI)	10	$5 \cdot 10^5 - 7,3 \cdot 10^5$
Гиалуронан II (HAIИ)	8	$6 \cdot 10^6$

Эти материалы могут применяться как искусственные суставные жидкости. Номенклатура символов, используемых здесь, та же самая, что и в части I. Реологические измерения проведены теми же методами, что и в части I (реометр 1HAAKE и ротационный вискозиметр *Ferranti Schirley*). Измерения проводились в сдвиговом течении при широком диапазоне скоростей сдвига ( $10^{-2} \text{ c}^{-1}$ - $5 \text{ c}^{-1}$  и  $2 \text{ c}^{-1}$ - $10^3 \text{ c}^{-1}$ ). Они охватывают физиологический диапазон скоростей сдвига [5].

Реологические измерения являются наиболее полезным способом характеристики сложных жидкостей. Реологические свойства таких жидкостей, как

классические жидкие кристаллы у структурированных систем, гораздо более «сложные», чем свойства изотропных систем. Знание вязкости материала (вязкоупругости) в зависимости от внешних полей представляет практический интерес.

Вязкость гиалуронана есть функция скорости сдвига, см., например, [2, 5, 16]. «Семейства» кривых течения для определенных концентраций в зависимости от температуры представлены в части I данной работы [5]. Найдено, что на этих кривых имеется область, где вязкость почти постоянна при изменении скорости сдвига. При дальнейшем увеличении скорости сдвига материалы обнаруживают свойство уменьшения вязкости. В общем, высокие скорости сдвига способствуют ориентационным течениям. Иногда уменьшение вязкости при увеличении скорости сдвига может наблюдаться при очень малых значениях скорости сдвига. Это также может наблюдаться при увеличении концентрации гиалуронана [14, 17].

Соотношения вязкость – скорость сдвига были суммированы на рисунках в работе [5] и здесь не дублируются.

Известно, что  $\eta'$  есть вещественная часть комплексной величины  $\eta^*$ ,  $\eta''$  – мнимая часть  $\eta^*$ . При этом величина  $\eta'$  соответствует диссипации энергии и связана с модулем потерь (вязкость), величина  $\eta''$  соответствует накоплению энергии и связана с модулем накопления (упругость) [18 и цитированная там литература].

Изотермические кривые для образцов *HA1* и *HA2* приведены на рисунках при фиксированных температурах 20° С и 37° С, т.е. при комнатной температуре и температуре тела человека, соответственно. Рис. 1 показывает зависимость  $\eta'$  и  $\eta''$  от скорости сдвига для полидисперсного образца *HA1* при двух определенных температурах. Рис. 2 показывает зависимость  $\eta'$  и  $\eta''$  от скорости сдвига для гелеподобного образца *HA2* также для двух заданных температур.

Можно заметить, что для обоих материалов вязкость уменьшается с увеличением температуры. Отмеченное увеличение вязкости растворов указывает, что степень полимеризации материала *HA2* увеличивается. Вдобавок для *HA1*  $\eta'$  больше, чем  $\eta''$ , для *HA2* имеет место обратное соотношение:  $\eta'' > \eta'$ .

В нематической жидкокристаллической фазе длинные оси молекул могут ориентироваться приближенно вдоль течения жидкости. Можно предположить, что молекулы структурированных жидкостей ведут себя таким же образом. Было найдено, что вязкость жидкости в состоянии микроскопической ориентации длинных молекул (особенно длинных полимерных цепей) меньше, чем вязкость в состоянии молекулярного беспорядка. Это означает, что вязкость материала в жидкокристаллической фазе меньше, чем вязкость в изотропной фазе [19 и цитированная там литература]. Хорошо известное реологическое свойство жидких кристаллов состоит в том, что их вязкость резко уменьшается при переходе от изотропной к нематической фазе.

Температурная зависимость коэффициента вязкости  $\eta$  для *HA1* представлена на рис. 3. Можно увидеть, что вязкость образца сначала постоянно уменьшается при увеличении температуры. Затем вязкость резко возрастает при некоторой температуре. Вязкость уменьшается вновь, когда температура увеличивается, как это было ранее. Такой вид температурного эффекта становится заметным при более низких и физиологических скоростях сдвига. Эффект связан с переходом анизотропная фаза – изотропная фаза. При более высоких скоростях сдвига он затухает.

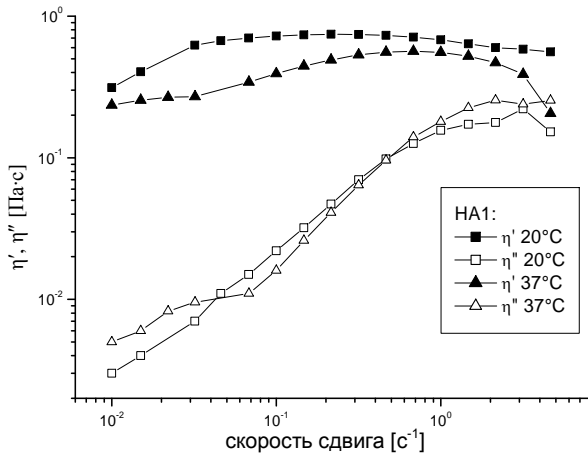


Рис. 1. Зависимость вязкостей  $\eta'$  и  $\eta''$  от скорости сдвига для образца *HA1* для двух температур 20°C и 37°C,  $M_w = (5 \cdot 10^5 - 7,3 \cdot 10^5)$ ,  $c_1 = 10$  мг/мл

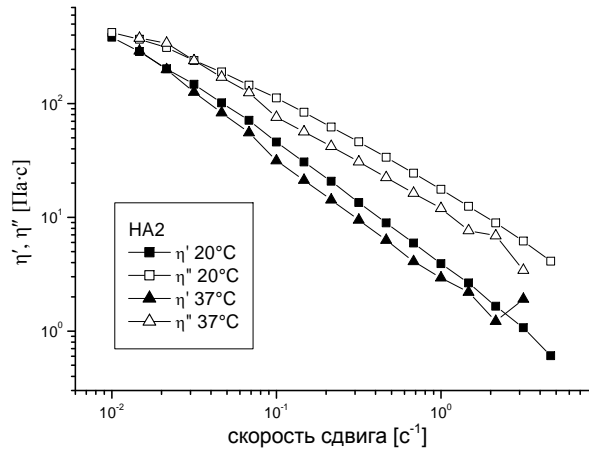


Рис. 2. Зависимость вязкостей  $\eta'$  и  $\eta''$  от скорости сдвига для образца *HA2* для двух температур 20°C и 37°C,  $M_w = 6 \cdot 10^6$ ,  $c_1 = 8$  мг/мл

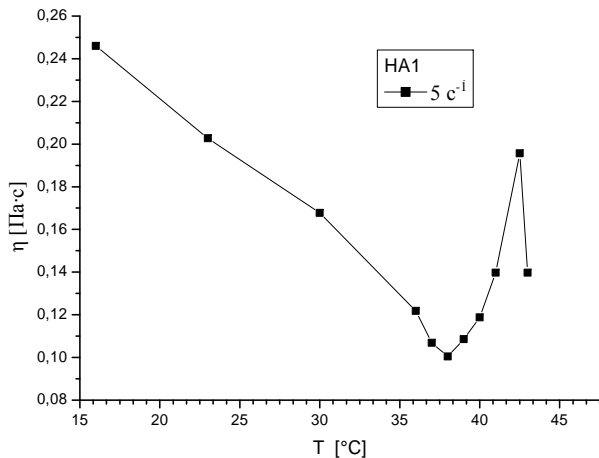


Рис. 3. Динамическая вязкость  $\eta$  для *HA1* как функция температуры при скорости сдвига  $5 \text{ c}^{-1}$ ,  $M_w = (5 \cdot 10^5 - 7,3 \cdot 10^5)$ ,  $c_1 = 10$  мг/мл

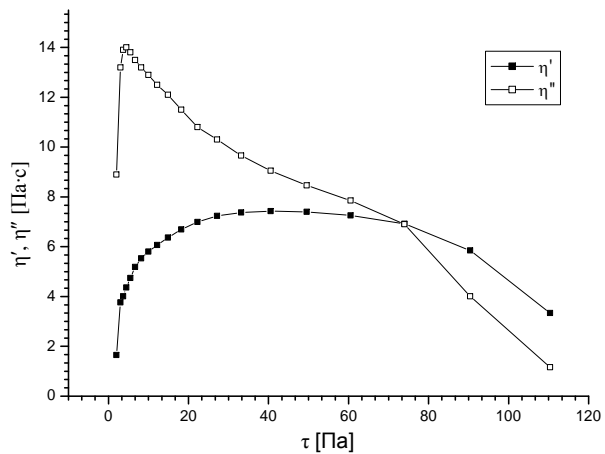


Рис. 4. Зависимость  $\eta'$  и  $\eta''$  от касательного напряжения для *HA2*,  $M_w = 6 \cdot 10^6$ ,  $c_1 = 8$  мг/мл,  $T = 20^\circ\text{C}$

Другой характерной чертой жидкокристаллических полимерных систем является зависимость вязкости от касательного напряжения  $\tau$ . Вязкость сложных систем уменьшается при увеличении касательного напряжения в диапазоне малых скоростей сдвига. С дальнейшим увеличением касательного напряжения вязкость остается постоянной в некотором интервале касательного напряжения  $\tau$ , а затем наблюдается новое уменьшение вязкости.

Коэффициенты  $\eta'$  и  $\eta''$  у *HA2* как функции касательного напряжения представлены на рис. 4. Этот биополимер обнаруживает типичное поведение вязкоупругих материалов, имеющих кристаллический порядок или порядок жидкокристаллического материала. Упругость *HA2* исчезает при более высоких напряжениях. Затем энергия диссипации становится больше, и вязкий характер становится преобладающим. К сожалению, вязкости  $\eta'$  и  $\eta''$  сильно уменьшаются при больших напряжениях.

## Выводы

Свойства и функции гиалуронана зависят от его микроструктуры и способности создавать вязкоупругие водные растворы. Материальные свойства гиалуронана обусловлены его композицией (концентрацией, молекулярным весом, величиной молекул) [5].

Материальные свойства гиалуронана изменяются в различных внешних полях. Реологические измерения являются наиболее полезным и общепризнанным методом характеристики вязких (вязкоупругих) водных растворов. Влияние внешних полей на вязкость гиалуронана анализируется в данной работе. Реологические свойства биополимерного гиалуронана зависят, в основном, от таких параметров, как скорость сдвига, касательное напряжение и температура.

В общем, явление уменьшения вязкости с увеличением скорости сдвига наблюдается в обоих материалах *HA1* и *HA2*. Вязкость убывает при увеличении скорости сдвига в области больших скоростей сдвига. Для растворов данной концентрации и данного молекулярного веса эффект уменьшения вязкости при увеличении скорости сдвига имеет место при более низких скоростях сдвига и при более низких температурах.

Вязкость образца уменьшается и при более высоких температурах. Для образца *HA1* это наблюдается вплоть до некоторой температуры, расположенной выше физиологических температур, в области малых скоростей сдвига.

Эффект падения вязкости наблюдается в условиях очень высоких напряжений. Вязкости  $\eta'$  и  $\eta''$  уменьшаются при более высоких напряжениях. Независимо от этого вязкий характер в образце *HA2* становится преобладающим при высоких касательных напряжениях.

Образец *HA1* обнаруживает вязкое поведение в области физиологических скоростей сдвига и физиологических температурах. Образец *HA2* обнаруживает упругое поведение в области физиологических скоростей сдвига.

Информация, приведенная в данной статье, может помочь в решении различных медицинских проблем и в различных фармацевтических приложениях.

## Благодарность

Автор признателен инженеру Х. Мажерчику за помощь в проведении данной работы.

## Список литературы

1. *Papkov S.P., Kolontzova U.* Liquid Crystalline Order of Rigid-Chain Polymers / *Advances in Polymer Science* 59. Liquid Crystals Polymers I, ed. M. Gordon. Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo: Springer Verlag. 1984. P. 75-102.
2. *Szwajczak E., Kucaba-Piętal A., Telega J.J.* Thermal aspects of synovial fluid and its liquid crystallinity // *Russian Journal of Biomechanics*. 2001. V. 3. № 3. P. 82-96.
3. *Flory P.J.* Molecular Theory of Liquid Crystals / *Advances in Polymer Science* 59. Liquid Crystals Polymers I, ed. M. Gordon. Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo: Springer Verlag. 1984. P. 1-36.
4. *Dobb M.G., McIntyre J.E.* Properties and applications of liquid-crystalline main chain polymers / *Advances in Polymer Science* 60/61. Liquid Crystals Polymers II/III, ed. M. Gordon. Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo: Springer Verlag. 1984. P. 61-91.

5. Швайчак Э. Зависимость вязкости водного раствора гиалуроновой кислоты от ее микроструктуры. Часть I // Российский журнал биомеханики. 2003. Том 7. № 3. С. 87-98.
6. Wunderlich B., Grebowicz J. Thermotropic mesophases transitions of linear, flexible macromolecules / Advances in Polymer Science 60/61. Liquid Crystals Polymers II/III, ed. M. Gordon. Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo: Springer Verlag. 1984. P. 1-59.
7. Hongladorn K., Burghardt W.R., Baek S.G., Cementwala S., Magda J.J. Molecular alignment of polymer liquid crystals in shear flows. I. Spectrographic birefringence technique, steady-state orientation, and normal stress behaviour in poly(benzyl glutamate) solutions // Macromolecules. 1993. V. 26. P. 772-784.
8. Butler P. Shear induced structures and transformations in complex fluids // Current Opinion in Colloid & Interface Science. 1999. V. 4. P. 214-221.
9. Saito S., Hashimoto T., Morfin I., Lindner P., Boue F. Structures in semidilute polymer solution induced under steady shear flow as studied by small-angle and neutron scattering // Macromolecules. 2002. V. 35. P. 445-559.
10. Yang Y., Luo K., Schmidt C., Peter C. Solutions and defects in flow-aligning nematic liquid crystals under simple shear flow // Progress in Natural Science. 2002. V. 12. № 3. P. 188-197.
11. Tu H., Goldbeck-Wood G., Windle A.H. Simulation of texture evolution for nematic liquid crystalline polymers under shear flow // Liq. Cryst. 2002. V. 29. № 3. P. 335-345.
12. Rey A.D., Denn M.M. Dynamical phenomena in liquid-crystalline materials // Ann. Rev. Fluid Mech. 2002. V. 34. P. 233-266.
13. Kobayashi Y., Okamoto A., Nishinari K. Viscoelasticity of hyaluronic acid with different molecular weights (synovial fluid application) // Biorheology. 1994. V. 31. № 3. P. 235-244.
14. Marrucci G. Rheology of nematic polymers / Liquid crystallinity in polymers: Principles and Fundamental Properties. Ed. A. Ciferri. VCH Publishers, Inc. 1991. P. 395-422.
15. Archer L.A., Larson R.G. A molecular theory of flow alignment and tumbling in sheared nematic liquid crystals // J. Chem. Phys. 1995. V. 103. № 8. P. 3108-3111.
16. Fischer E., Callaghan P.T., Heatley F., Scon J.E. Shear flow affects secondary and tertiary structures in hyaluronan solution as shown by rheo-NMR // J. Mol. Struct. 2002. P. 603-603, 303-311.
17. Borzacchiello A., Ambrosio L. Network formation of low molecular weight hyaluronic acid derivatives // J. Biomater. Sci. Polymer Ed. 2001. V. 12. № 3. P. 307-316.
18. Szwajczak E. Rheological properties of aqueous solutions of biopolymeric hyaluronan // Proc. SPIE (in press).
19. Telega J.J., Kucaba-Piętal A., Szwajczak E. Liquid crystallinity and temperature dependence of synovial fluid // Acta Bioengineering and Biomechanics. 2002. V. 3. № 2. P. 427-434.

## DEPENDENCE OF HYALURONAN AQUEOUS SOLUTION VISCOSITY ON EXTERNAL FIELDS. PART II

**E. Szwajczak (Rzeszow, Poland)**

In this paper influence of external fields such as temperature, shear rate and stress on aqueous solutions of biopolymeric hyaluronan is discussed. Rheological measurements are the most useful way of characterizing such complex fluids. The measurements of  $\eta$ ,  $\eta'$ ,  $\eta''$  were performed on a high molecular weight hyaluronan from biological sources.

**Key words:** hyaluronan, biopolymer, synovial fluid, liquid crystals, viscosity, shear rate, stress, temperature.

*Получено 20 января 2003*