

А. П. Василенко, Н. В. Гузенко, Л. В. Носач, Е. Ф. Воронин

ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАНИЯ ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОМ НА АДсорбЦИЮ ЖЕЛАТИНА

Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко Национальной академии наук Украины, Киев, Украина, e.voronin@bigmir.net

Исследовано влияние модифицирования поверхности высокодисперсного кремнезема поливинилпирролидоном на его адсорбционную способность по отношению к желатину. Показано, что такое модифицирование сопровождается монотонным снижением протеонектических свойств кремнезема, вызванное изменением природы поверхностных активных центров. Изменения других фармакологически важных свойств — реологических и гемолитических — при модифицировании кремнезёма поливинилпирролидоном имеют экстремальный характер. Это обстоятельство позволяет достигать высоких положительных эффектов от модифицирования при минимальном снижении адсорбции белка и тем самым свидетельствует о перспективности использования ПВП в качестве модификатора при создании новых лекарственных форм на основе высокодисперсного кремнезема. Установлено, что оптимальная величина модифицирования кремнезёма поливинилпирролидоном составляет 20 – 30 мг/г, соответствующая примерно 15 % от емкости монослоя.

Ключевые слова: высокодисперсный кремнезём, Силикс, адсорбционное модифицирование, поливинилпирролидон, адсорбция желатина.

Аморфный непористый высокодисперсный кремнезем является субстанцией порошкообразного препарата сорбционно-детоксикационного действия “Силикс” (синонимы “Полисорб”, “Силлард”), успешно применяемого в комплексном лечении инфекционных, онкологических и некоторых других заболеваний [1].

Адсорбционное модифицирование полимерами позволяет придавать кремнезему такие физико-химические свойства, которые необходимы для создания на его основе новых препаратов или лекарственных форм, в частности, готовые суспензии и мази. Было показано, что модифицирование кремнеземом поливинилпирролидоном (ПВП) способствует иммобилизации на его поверхности биологически активных соединений (например, йода, кверцетина [2, 3]), позволяет регулировать вязкостные характеристики его водных суспензий [4], снижает повреждающее действие на красные кровяные тела (гемолиз) [5], т.е. повышает биосовместимость.

Вместе с тем остается невыясненным, имеющий очень важное значение, вопрос о влиянии модифицирования высокодисперсного кремнезема поливинилпирролидоном на его адсорбционные свойства по отношению к белкам, поскольку именно протеонектические свойства кремнезема (т.е. способность связывать белки) и определяют его фармацевтическую активность [1, 6]. Поэтому цель настоящей работы состояла в исследовании влияния модифицирования высокодисперсного кремнезема поливинилпирролидоном на адсорбцию на его поверхности белка — желатина. Такой выбор адсорбтива обусловлен тем, что именно желатин, согласно требованиям [7], применяется для определения активности препарата.

Экспериментальная часть

В качестве сорбента был использован высокодисперсный кремнезем с величиной удельной поверхности 230 м²/г (производства Калушского опытно-экспериментального завода ИХП НАНУ, Калуш, Украина). Такой кремнезем является непористым веществом, состоящим из наночастиц сферической формы диаметром ≈ 12 нм. На поверхности наночастиц находятся одиночные изолированные гидроксильные группы ≡Si-OH (силанольные группы), гидроксильные группы, связанные взаимными водородными связями в различных комбинациях, а также сорбированные молекулы воды [8]. Концентрация силанольных групп, являющихся главными сорбционными центрами, на поверхности используемого кремнезема составила 0,60 ммоль/г.

В качестве модификатора использовали фармацевтический ПВП с молекулярной массой 11940 ± 2400. Модифицирование кремнезема поливинилпирролидоном проводили в реакторе интенсивного перемешивания (РИП), представляющем собой стеклянную круглодонную колбу емкостью 1 л с лопастной мешалкой, следующим образом. В реактор последовательно загружали кремнезем, необходимую навеску модификатора и включали мешалку. При достижении 300 – 500 об/мин смесь переходила в псевдооживленное состояние. Затем постепенно со скоростью 1 – 2 капли в 1 с в реактор добавляли этиловый спирт в количестве, равном 40 масс. % от содержания кремнезема, который при этом оставался сыпучим вследствие своей высокой маслоемкости. Время модифицирования составляло 6 ч. Модифицированный кремнезем выгружали и прогревали в сушильном шкафу при

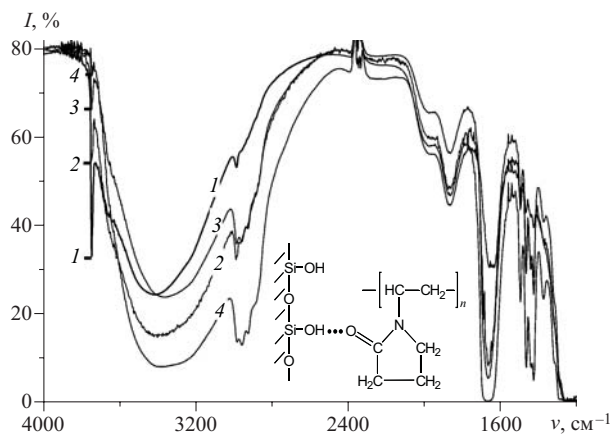


Рис. 1. ИК-спектры кремнезема: исходного (1) и модифицированного поливинилпирролидоном в количестве 50 (2), 100 (3) и 175 мг/г (4).

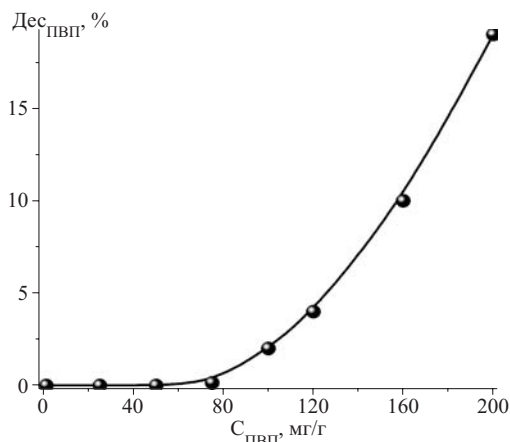


Рис. 2. Зависимость величины десорбции ПВП в водную среду от его содержания на поверхности модифицированного кремнезема.

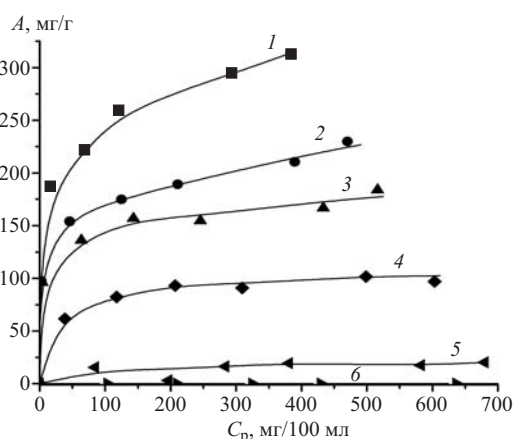


Рис. 3. Изотермы адсорбции желатина на поверхности исходного (1) и модифицированного поливинилпирролидоном в количестве 25 (2), 50 (3), 100 (4), 125 (5) и 150 мг/г кремнезема (6).

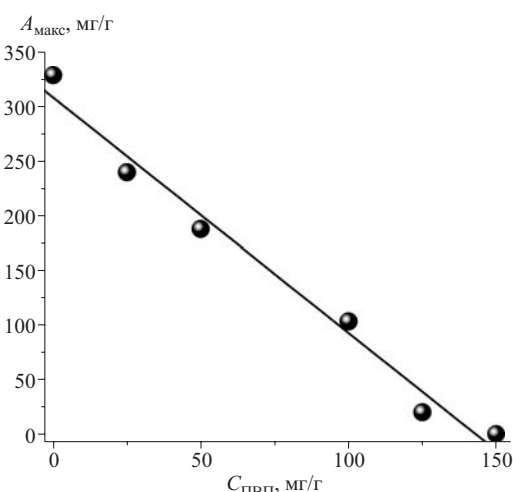


Рис. 4. Зависимость величины максимальной адсорбции желатина от содержания ПВП на поверхности высокодисперсного кремнезема.

80 °С в течение 2 ч для удаления сорбированных молекул этанола.

В работе использовали желатин фирмы “Мерк”. Адсорбцию желатина на поверхности исходного и модифицированных кремнеземов проводили при pH = 5 [1, 9] в статических условиях при комнатной температуре из буферных растворов, содержащих 0,1 М лимонную кислоту и 0,2 М Na₂HPO₄ [11]. В колбы, содержащие по 200 мг кремнезема, приливали по 20 + 0,05 мл раствора белка известной концентрации (соотношение сорбент-раствор составляло 100 мг:10 мл) и полученную суспензию перемешивали. Через 1 ч контакта (этого времени достаточно для установления адсорбционного равновесия [1, 6, 10]) суспензию центрифугировали при 6000 об/мин в течение 30 мин.

Величину адсорбции желатина рассчитывали по разнице его исходной и равновесной концентраций в растворе до и после контакта с сорбентом. Равновесную концентрацию желатина определяли колориметрически с помощью биуретового метода [11]. Оптиче-

скую плотность раствора измеряли на колориметре КФК-2МП при длине волны 540 нм.

Спектральные исследования проводились на ИК-спектрофотометре с Фурье-преобразованием “FTIR ThermoNicolet” (США). Для записи ИК-спектров образцы кремнезема прессовали в пластинки размером 8 × 28 мм и массой 15 – 20 мг.

Результаты и их обсуждение

Для модифицированных образцов кремнезема в ИК-спектрах наблюдается снижение интенсивности полосы 3750 см⁻¹, симбатно содержанию полимера, и появление широкой полосы возмущенных силанольных групп с максимумом около 3350 см⁻¹ (рис. 1, а). Ранее нами было показано [12], что взаимодействие ПВП с поверхностью высокодисперсного кремнезема происходит за счет образования водородных связей между атомами кислорода карбонильной группы и водорода силанольной группы.

Важным показателем, характеризующим структуру поверхностного адсорбированного слоя полимеров, является параметр p , представляющий собой отношение количества мономерных звеньев макромолекулы, непосредственно взаимодействующих с поверхностью, к их общему содержанию в слое. Из представленной зависимости параметра p от содержания ПВП для исследуемых образцов (рис. 1, б), рассчитанного из ИК-спектров, видно, что при небольших степенях модифицирования во взаимодействии с поверхностью участвует до 80 % звеньев, а при образовании монослойного покрытия — около 40 %, т.е. примерно каждое второе звено. Это означает, что молекулы полимера находятся на поверхности в виде плоской зигзагообразной цепи [12].

Слой ПВП прочно удерживается на поверхности высокодисперсного кремнезема и до содержания полимера 75 мг/г практически не десорбирует в воду при pH суспензии равном 5. При превышении этого значения ПВП начинает частично десорбироваться, однако даже при монослойном покрытии, которое достигается уже при содержании полимера 175 мг/г, величина десорбции составила всего около 15 % (рис. 2).

Изотермы адсорбции желатина на поверхности высокодисперсного кремнезема (рис. 3) хорошо описываются уравнением Ленгмюра. В координатах $C/A-C$ они имеют вид прямых линий, и были определены величины максимальной адсорбции $A_{\text{макс}}$ на исследуемых образцах, соответствующие по определению [13] емкостям монослоя.

Зависимость емкости монослоя желатина от содержания ПВП в поверхностном слое (рис. 4) показывает, что величина $A_{\text{макс}}$, которая составила в случае исходного кремнезема примерно 350 мг/г, для полностью модифицированного образца снизилась до нуля.

Следует заметить, что сам факт снижения адсорбции белка на поверхности кремнезема, содержащего ПВП, отмечался для силикагеля [14]. Причины этого в указанной работе детально не анализируются, однако то обстоятельство, что силикагель является пористым веществом, а модифицирование поверхности проводили путем полимеризации сорбированного винилпирролидона, позволял объяснить снижение адсорбции белка заполнением пор полимером.

Однако в случае исследуемого непористого кремнезема стерические причины снижения адсорбции желатина маловероятны. Для выявления факторов, обусло-

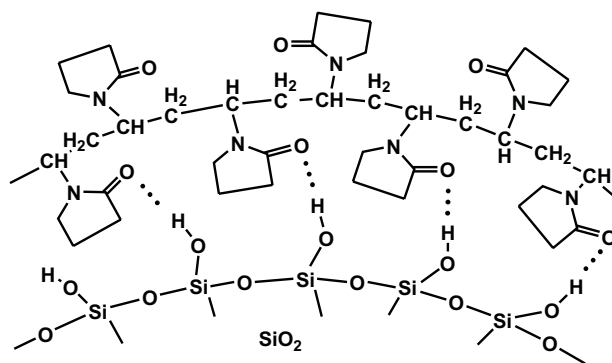


Рис. 5. Схематическое изображение структуры модифицирующего слоя ПВП на поверхности высокодисперсного кремнезема.

вивших характер полученной зависимости (рис. 4), были проанализированы изменения строения поверхностного слоя кремнезема в результате модифицирования. В основном это связано с тем, что поверхность модифицированного кремнезема в качестве активных центров вместо силанольных групп, которые теперь участвуют во взаимодействии с макромолекулами ПВП, содержат карбонильные группы винилпирролидоновых звеньев, ориентированных наружу (рис. 5). Это приводит к тому, что кремнезем, который в исходном состоянии относится по классификации [15] к специфическим адсорбентам т. н. “второго” типа, т.е. имеет поверхность, содержащую протолитические группы, в данном случае — гидроксильные (кислотные центры Бренстеда). После модифицирования кремнезем становится адсорбентом “третьего” типа, содержащего на поверхности только апротонные электронодонорные группы (основные центры Льюиса).

Макромолекулы желатина состоят из полипептидных цепей, типичная структура которых приведена на рис. 6 [16–18]. Главными активными функциональными группами желатина являются электроноакцепторные карбонильные и электронодонорные аминные группы. В составе молекулы имеются также бифункциональные гидроксильные группы оксипролина, однако, их общее количество невелико (~ 10 %), причем значительная их часть участвует в образовании межмолекулярных и внутримолекулярных водородных связей [19, 20].

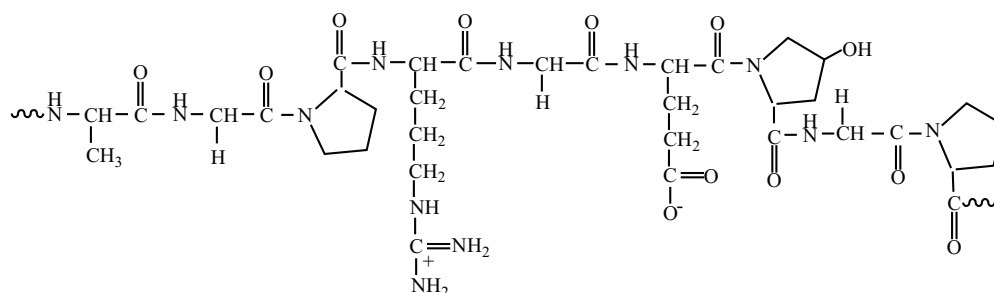


Рис. 6. Схематическое изображение первичной структуры макромолекулы желатина (-Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-4Hyp-Gly-Pro-).

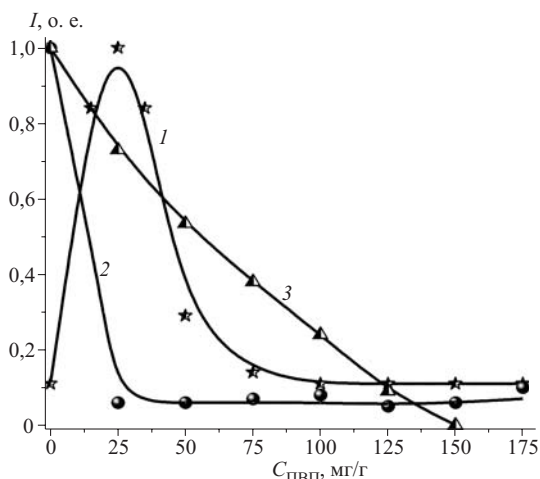


Рис. 7. Зависимость реологических (1), гемолитических (2) и протеолитических свойств кремнезема от степени модифицирования поливинилпирролидоном (3).

Карбонильные группы в пептидах по размеру значительно больше, аминных (длина связи C=O составляет 0,123 нм, а N-H — 0,1 нм [21], а атомные радиусы кислорода и водорода — соответственно 0,6 и 0,37 нм [22]), поэтому именно они определяют возможность взаимодействия с поверхностью кремнезема. При наличии на поверхности силанольных групп происходит образование многочисленных водородных связей между ними и карбонильными группами, что и обеспечивает прочную адсорбцию белков [1, 9, 23]. Замена силанольных групп на карбонильные приводит к взаимному отталкиванию молекул желатина и модифицированной поверхности кремнезема, и в результате к снижению или полному отсутствию адсорбции белка.

Это указывает на целесообразность применения поливинилпирролидона для модифицирования сорбентов медицинского назначения, о чем свидетельствует анализ зависимости некоторых важнейших медико-фармакологических свойств высокодисперсного кремнезема от содержания ПВП на поверхности (рис. 7). Уже при содержании ПВП в количестве ~ 25 мг/г (2,5 масс. % или ~ 15 % $A_{\text{макс}}$) величина гемолиза эритроцитов снижается на порядок (т.е. существенно возрастает биосовместимость кремнезема) [5], вязкость водных суспензий повышается на 3 по-

рядка (суспензия превращается в гель) [4], а адсорбция белка при этом уменьшается всего примерно на 15 %, что может быть легко скомпенсировано соответствующим увеличением дозы препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Чуйко (ред.), *Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния*, Наукова думка, Киев (2003).
2. Н. В. Гузенко, О. Е. Воронина, Н. Н. Власова, Е. Ф. Воронин, *Журн. приклад. спектр.*, **71**(2), 141 – 144 (2004).
3. О. А. Казакова, В. М. Гунько, Н. А. Липковская и др., *Коллоид. журн.*, **64**(4), 461 – 467 (2002).
4. Н. В. Гузенко, О. Е. Воронина, Е. М. Пахлов, Е. Ф. Воронин, *Хим.-фарм. журн.*, **35**(1), 46 – 49 (2001).
5. Л. С. Андрійко, О. Л. Габчак, В. І. Зарко и др., *Фарм. журн.*, № 1, 83 – 87 (2007).
6. А. А. Чуйко (ред.), *Кремнеземы в медицине и биологии*, Киев-Ставрополь (1993).
7. ФС 42У-82 / 224-889-00 Силикс.
8. А. А. Чуйко (ред.), *Химия поверхности кремнезема*, УкрИНТЭИ, Киев (2001).
9. Ю. И. Тарасевич, В. А. Смирнова, Л. И. Монахова, *Коллоид. журн.*, **40**(6), 1214 – 1216 (1978).
10. С. П. Воронін, С. М. Пахлов, Н. М. Власова и др., *Фарм. журн.*, № 4, 61 – 64 (1999).
11. Р. Досон. Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс, *Справочник биохимика*, Мир, Москва (1991).
12. Н. В. Гузенко, Е. М. Пахлов, Н. А. Липковская, Е. Ф. Воронин, *Журн. приклад. химии*, **74**(12), 1957 – 1961 (2001).
13. Ю. Г. Фролов, *Курс коллоидной химии*, Химия, Москва (1982).
14. Т. Д. Хохлова, *Вестн. Моск. Ун-та., Сер. 2. Химия*, **43**(3), 144 – 146 (2002).
15. А. В. Киселев, В. И. Лыгин, *Инфракрасные спектры поверхностных соединений*, Наука, Москва (1972).
16. Н. Babin and E. Dickinson, *Food Hydrocolloids*, **15**, 271 – 276 (2001).
17. D. Oakenfull and A. Scott, *Biomaterials*, **17**, 207 – 210 (2003).
18. A. Bigi, S. Panzavolta and K. Rubini, *Biomaterials*, **25**, 5675 – 5680 (2004).
19. D. A. Ledward, *Gelation of gelatin, in Functional properties of food macromolecules*, ed. J. R. Mitchell and D. A. Ledward (Elsevier Applied Science Publishers Ltd., (1986), pp. 171 – 201.
20. А. Вейс, *Макрохимия желатина*, Пищевая пр-ть, Москва (1971).
21. А. А. Анисимов (ред.), *Основы биохимии*, Высшая школа, Москва (1986).
22. Л. Паулинг, *Природа химической связи*, Госхимиздат, Москва (1947).
23. Р. Айлер, *Химия кремнезема*, Мир, Москва (1982).

Поступила 09.08.07

EFFECT OF HIGHLY DISPERSED SILICA MODIFICATION BY POLY(VINYL PYRROLIDONE) ON GELATIN ADSORPTION

A. P. Vasilenko, N. V. Guzenko, L. V. Nosach, and E. F. Voronin*

Chuko Institute of Surface Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, 03164 Kiev, Ukraine

* e-mail: e.voronin@bigmir.net

The effect of modification of the surface of highly dispersed silica by poly(vinyl pyrrolidone) (PVP) on its adsorption capacity in respect to gelatin has been studied. It is established that this modification leads to a monotonic decrease in the proteolytic properties of silica due to a change in the nature of surface active sites. Variation of the other pharmacologically important properties – rheological and hemolytic – of the PVP-modified silica exhibits an extremal character. Due to this circumstance, it is possible to achieve high positive effects of the modification at a minimum decrease in the protein adsorption. This is evidence for good prospects of using PVP as a modifying agent in designing new drugs based on highly dispersed silica. The optimum level of silica modification by PVP is 20 – 30 mg/g, which corresponds to about 15% of monolayer capacity.

Key words: high-disperse silica, Silics, adsorption modifying, polyvinyl-pyrrolidone.