

© Коллектив авторов, 2007

Т. С. Пак¹, Д. Б. Тахтаганова¹, Э. Л. Кристаллович²

ЭНТЕРОСОРБЕНТ НА ОСНОВЕ ФИБРОИНА НАТУРАЛЬНОГО ШЕЛКА И ЕГО МЕХАНОХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ДЕЗОКСИПЕГАНИН ГИДРОХЛОРИДОМ

¹ Институт химии и физики полимеров АН РУз, Ташкент;

² Институт химии растительных веществ АН РУз, Ташкент

Предложен селективный энтеросорбент на основе фиброина натурального шелка, превышающий по своим детоксикационным свойствам традиционные углеродные сорбенты (СКН-2К, СКН-4М), что позволяет решить вопросы импортзамещения и утилизации отходов шелковой промышленности. Для усиления саногенного действия полученного энтеросорбента показана возможность использования его в качестве матрицы для лекарственных средств и создания новой полимерной лекарственной формы. Получены и исследованы “комплексы включения” энтеросорбента с дезоксипеганин гидрохлоридом. Показано, что в процессе взаимодействия энтеросорбента с дезоксипеганин гидрохлоридом образуются водородные связи. Пакет документов на разработанный энтеросорбент находится на рассмотрении в Фармакологическом Комитете Республики Узбекистан.

Среди методов сорбционной детоксикации особо перспективным является метод гастроинтестинальной сорбции или энтеросорбции, преимуществами которого являются физиологичность проведения, техническая простота и высокий клиренс токсических метаболитов. Энтеросорбция не вызывает нарушений биохимического состава крови и не приводит к нарушениям функций желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [1].

Известно, что современные энтеросорбенты (ЭС) не должны обладать токсическими свойствами, являться нетравматичными для слизистых оболочек, хорошо эвакуироваться из кишечника, иметь хорошие функциональные свойства, удобную лекарственную форму и селективность [2].

В связи с этим считается, что прогресс сорбционных методов может быть достигнут на пути создания селективных и строго специфических сорбентов на конкретные ионы и токсины.

При решении вопроса утилизации отходов переработки натурального шелка, нами были получены потенциальные препараты, оказавшиеся весьма эффективными при использовании их в качестве энтеросорбентов.

Полученное соединение представляет собой порошок от белого до кремового цвета, растворимый в концентрированных кислотах и в растворах некоторых солей. Плотность — 1,34 – 1,43 г/см³, степень набухания 50 – 80 %. ЭС является высокомолекулярным природным полимером на основе фиброина натурального шелка (ФНШ). При прохождении по ЖКТ он не разрушается до отдельных аминокислот, сохраняя целостность своей структуры, не травмирует слизистые ЖКТ, хорошо эвакуируется из кишечника. Меди-

ко-биологические испытания данного ЭС показали, что он не токсичен, лишен аллергических и канцерогенных свойств, кроме того обладает гипополипдемическим, а также гипохолестеринемическим действием и проявляет отчетливый терапевтический эффект при остром токсическом гепатите, что следует из данных табл. 1.

Высокая сорбционная емкость ЭС по отношению к желчным кислотам и холестерину дает основание для применения разработанного сорбента при высоком содержании холестерина в организме. Согласно литературным данным селективная энтеросорбция холестерина и желчных кислот является эффективным способом снижения их уровня в крови и улучшения других показателей липидного обмена, т.е. она влияет на факторы риска развития атеросклероза [3].

Перспективным является использование сорбентов как матриц для иммобилизации различных лекарственных средств — антибиотиков, ферментов, химиопрепаратов, рентгеноконтрастных веществ. Установлено, что иммобилизованное вещество может удерживаться на матрице за счет межмолекулярного взаимодействия, электростатическими и водородными связями. Освободившиеся от иммобилизованного препарата частицы матрицы выполняют роль адсорбента, поглощая микроорганизмы, метаболиты, токсины и др. [4].

В настоящей работе с целью усиления саногенного действия полученного энтеросорбента изучена его модификация природным алкалоидом антихолинэстеразного действия — дезоксипеганин гидрохлоридом (ДОПГХ) [5] механохимическим способом.

Вопросу оценки возможных взаимодействий полимер — ЛВ при механохимической активации посвя-

щен ряд работ [6–9], в которых это взаимодействие описывается и как образование “комплексов включения” (“КВ”) и как межмолекулярное взаимодействие типа Ван-дер-Ваальсовских. Причем, возможно, что тип взаимодействия в какой-то степени зависит от свойств взаимодействующих компонентов и от способов активации.

Учитывая структурные особенности энтеросорбента на основе ФНШ и ДОПГХ, мы предположили образование в условиях механообработки ранее описанных “КВ” [10, 11], а также не исключалась возможность образования продуктов химического взаимодействия. В связи с этим нами проведено детальное исследование системы ЭС – ДОПГХ с использованием физических и физико-химических методов оценки молекулярной и, особенно, надмолекулярной структуры.

Экспериментальная часть

Механическую обработку (измельчение – активацию) субстанции ДОПГХ и его смесей с ЭС проводили на планетарно-центробежном активаторе АГО-2У фирмы “Гефест” (Россия).

ИК-спектры регистрировали на однолучевом ИК-Фурье-спектрометре фирмы “Перкин-Элмер” (модель 2000, 100 сканирований, разрешение 4 см^{-1}).

Рентгенографические исследования проводили на дифрактометре ДРОН-ЗМ с монохроматизированным Si-K_α -излучением при напряжении 20–28 кВ и силе тока 15–18 мА, которые подбираются в зависимости от препарата. Образцы готовили путем прессования измельченных препаратов в виде таблеток. Съемку проводили в интервале углов $2\alpha = 10 - 40^\circ$.

Для оценки растворения использовали метод [12]. Количественный анализ растворов проводили на спектрофотометре СФ-46 при $\lambda = 278 \text{ нм}$.

Равновесный диализ проводили при температуре 37°C в двухкамерной ячейке, разделенной полупроницаемой мембраной из целлофана. Мембрана не взаимодействовала с компонентами раствора, а обеспечивала транспортировку ДОПГХ и была непрозрачна для полииона и связанных с ним противоионов. Процесс диализа контролировался в течение 2 ч. Через определенные промежутки времени отбирались пробы для контроля за концентрацией ЛВ в ячейках диа-

лизатора. Количественное определение содержания лекарственного вещества осуществляли спектрофотометрически на приборе СФ-46.

Образцы подвергались механообработке как отдельно, так и в смеси ЭС с ДОПГХ в планетарно-центробежном измельчителе – активаторе АГО-2У.

Результаты и их обсуждение

ИК-спектральные исследования показали, что как для индивидуальных компонентов, так и для смеси наблюдаются изменения, зависящие от времени и условий активации.

ДОПГХ при механообработке не претерпевает глубоких изменений даже после обработки при 60 г в течение 30 мин. При измельчении ДОПГХ отсутствуют процессы деструкции и структурных превращений, происходит лишь частичное разрушение водородных связей, о чем свидетельствуют ИК-спектральный [13] и рентгенофазовый анализы.

Данные рентгенофазового анализа показали, что препарат, несмотря на достаточно интенсивное измельчение, реструктурируется слабо, более того, обработка при 20 г приводит к усилению основных дифракционных максимумов. Такое явление отмечалось ранее и для других низкомолекулярных органических кристаллических веществ. Заметное снижение интенсивности дифракционных максимумов происходит только после обработки при энергонапряженности 60 г, хотя все пики на дифрактограмме сохраняются (при $18,7; 20,6; 21,6; 23,3; 25,1; 26,1; 28,2; 31,3; 34,9; 35,8; 37,2^\circ$) и положение их не меняется.

Рентгенофазовый анализ подтвердил выводы ИК-спектральных исследований о том, что при механообработке ДОПГХ происходит частичная аморфизация и частичное разрушение водородных связей, что в свою очередь способствует повышению его растворимости [13].

Для ИК-спектра ЭС наиболее характерны следующие частоты: 3292 см^{-1} (валентные колебания ОН, NH), $2970, 2930 \text{ см}^{-1}$ (валентные колебания СН, CH_2 -групп), 1705 см^{-1} (валентные колебания C=O), 1631 см^{-1} (колебания CONH-амид 1), 1515 см^{-1} (колебания амидного карбонила CONH-амид 11) ($\delta\text{NH} + \nu_{\text{CO}}$).

Таблица 1

Влияние энтеросорбента на степень эндотоксемии у крыс с тетрациклиновым поражением печени

Группа	АлАТ ¹ , мкмоль/л	АсАТ ² , мкмоль/л	Мочевина, ммоль/л	Аммиак, мг %	Парацетамол, с
Интактная	$2,3 \pm 0,1$	$3,22 \pm 0,11$	$7,48 \pm 0,26$	$9,92 \pm 0,35$	$198,92 \pm 7,05$
ОТГ* 3 сут.	$2,88 \pm 0,17^a$	$3,67 \pm 0,07^a$	$6,13 \pm 0,46^a$	$13,13 \pm 0,48^a$	$78,0 \pm 1,54^a$
ОТГ 6 сут.	$2,95 \pm 0,11^a$	$3,86 \pm 0,14^a$	$5,36 \pm 0,16^a$	$13,76 \pm 0,27^a$	$128,32 \pm 2,12^{a,6}$
ОТГ + ЭС 3 сут	$2,79 \pm 0,12^a$	$3,57 \pm 0,06^a$	$8,88 \pm 0,48^{a,6}$	$11,54 \pm 0,21^{a,6}$	$129,17 \pm 3,68^{a,6}$
ОТГ + ЭС 6 сут	$2,31 \pm 0,07^b$	$3,40 \pm 0,07^b$	$8,75 \pm 0,17^{a,6}$	$11,04 \pm 0,27^{a,6}$	$170,5 \pm 3,64^{a,6}$

Примечание. ^a — достоверность различий по сравнению с интактным, ^b — достоверность различий по сравнению с контролем.

* ОТГ — острый токсический гепатит, ¹ — аланинаминотрансфераза, ² — аспартатаминотрансфераза.

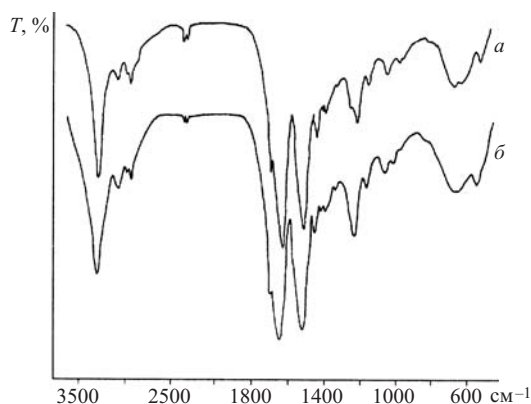


Рис. 1. ИК-спектры ЭС: *a* — исходный; *b* — АГО, 60 г, 10 мин

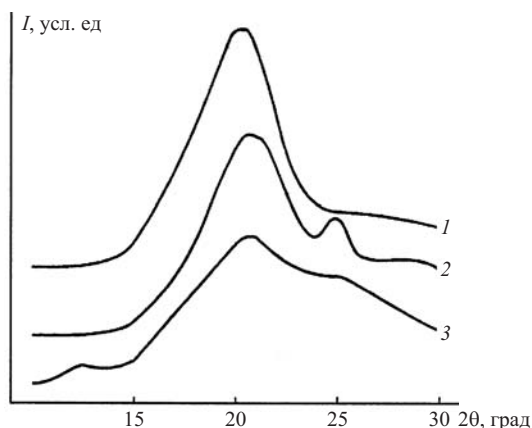


Рис. 2. Рентгеновские дифрактограммы: *1* — ФНШ исходный; *2* — ЭС до измельчения; *3* — ЭС после измельчения

После механообработки в АГО-2У в течение 10 мин при 60 г происходит понижение частоты в максимуме полосы, соответствующей валентным колебаниям ОН, NH (3289 см^{-1}), и заметный сдвиг в высокочастотную область полосы амид I (1658 см^{-1}), при этом слабая полоса с частотой в максимуме при 1705 см^{-1} исчезает. Этот экспериментальный факт показывает, что механодеструкция оказывает влияние на молекулярную структуру ЭС (рис. 1).

Рентгеновские дифрактограммы ЭС, снятые до и после измельчения в интервале $2\alpha = 10 - 40^\circ$, также обнаруживают заметные отличия. Для дифрактограммы ЭС наиболее характерен максимум при $2\alpha = 20,7^\circ$, а также более слабый максимум при $2\alpha = 25^\circ$. Можно видеть некоторый подъем дифрактограммы в интервале $2\alpha = 28 - 31^\circ$ (рис. 2, кривая 2).

При диспергировании ЭС в АГО-2У различное время происходит его явная аморфизация. На дифрактограмме исчезают максимумы $2\alpha = 20,7^\circ$ и 25° . Вместо этого наблюдается широкое аморфное гало с вершиной при $2\alpha = 20,5^\circ$. Эти результаты свидетельствуют о почти полной аморфизации ЭС и, соответственно, об образовании нового типа водородных связей (рис. 2).

Обработка смеси ЭС – ДОПГХ (1:1) при энергонапряженности 20 г и, особенно, 40 г и 60 г вызывает заметные изменения ИК-спектральных характеристик по сравнению с таковыми исходных компонентов (рис. 3, *a – в*, срав. с рис. 1, *б* и 4, *з*).

После совместной механообработки ЭС и ДОПГХ в ИК-спектрах смеси (1:1) при энергонапряженности

20 г, хотя и наблюдается изменение формы полос в области частот $1500 - 1600\text{ см}^{-1}$, в основном, преобладают полосы, характерные для ДОПГХ — 1678 см^{-1} , 1580 см^{-1} и 1490 см^{-1} . В области частот, обусловленных валентными колебаниями ОН, NH, ^+NH -групп, наблюдаемое перераспределение интенсивностей полос, особенно в области поглощения ^+NH -катиона ($2500 - 3200\text{ см}^{-1}$), может быть связано с реструктуризацией водородных связей (рис. 3, *а*).

ИК-спектры смесей ЭС – ДОПГХ (1:1), обработанных при энергонапряженности 40 г и 60 г заметно отличаются положением, формой и соотношением интенсивностей полос в области $1000 - 1500\text{ см}^{-1}$, относительно спектра ДОПГХ (рис. 4, *з*). Аналогичные изменения формы, т.е. появление “размытого” контура полос, наблюдаются в области частот $1500 - 1710\text{ см}^{-1}$, в которой проявляются колебания амидного карбонила, СООН-группы ЭС и гетероароматической системы дезоксипеганин хлоргидрата.

Приведенные изменения положения, форм и интенсивностей полос в ИК-спектрах механообработанных смесей ЭС – ДОПГХ (рис. 3, *а – в*) позволяют сделать вывод о возможном образовании “КВ”, при этом предполагая, что в случае механообработки смеси ЭС – ДОПГХ при энергонапряженности 20 г происходит частичное взаимодействие молекул ЭС с ДОПГХ.

Доказательством образования “КВ” при механохимическом перемешивании смеси ЭС – ДОПГХ в соотношении 1:1 является разностный спектр (рис. 4, *д*), полученный вычитанием из спектра смеси

Таблица 2
Динамика растворения ДОПГХ и “КВ” ЭС – ДОПГХ = 1:1 после механообработки при различной энергонапряженности в среде 0,1 N HCl (концентрация, %)

Энергонапряженность, г	Продолжительность растворения, мин						
	0,5	1	2	5	10	20	30
ДОПГХ исходный	7,03	7,38	8,81	14,63	23,91	39,23	54,34
ЭС – ДОПГХ (1:1), 20	6,7	6,84	7,32	11,16	17,51	27,83	35,98
ЭС – ДОПГХ (1:1), 40	6,86	6,64	7,52	10,84	18,18	26,88	35,44
ЭС – ДОПГХ (1:1), 60	6,99	6,81	7,96	10,44	16,39	25,72	34,23

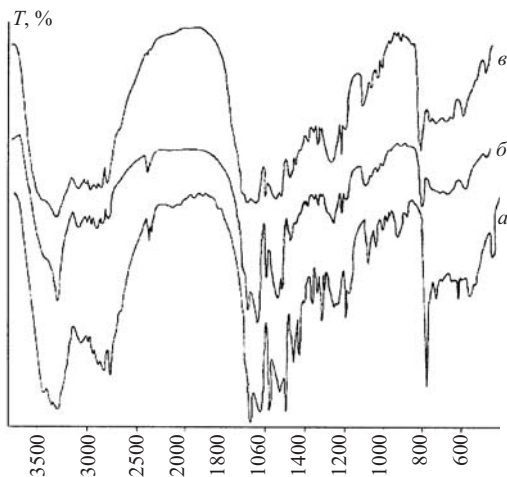


Рис. 3. ИК-спектры смеси: ЭС – ДОПГХ (1:1), АГО, 10 мин: а — 20, б — 40, в — 60 г

ЭС – ДОПГХ (1:1, 60 г) спектра ЭС (60 г), не идентичный спектру дезоксипеганин хлоргидрата.

На основании появления неинтенсивной полосы поглощения 1745 см^{-1} и широкой полосы в области $1390 - 1500\text{ см}^{-1}$ установлено, что при взаимодействии ЭС с ДОПГХ часть карбоксильных групп превращается в солевую форму (COO^-). Понижение интенсивности и сохранение положения полос поглощения амид I (1631 см^{-1}) и амид II (1515 см^{-1}) в разностном спектре (рис. 4, д) предполагает отсутствие взаимодействия амидного карбонила и NH-групп ЭС с ^+NH -катионом ДОПГХ. Следовательно, наличие интенсивной полосы поглощения в области частот $2250 - 3500\text{ см}^{-1}$, соответствующей валентным колебаниям ассоциированных ^+NH -групп, дает основание сделать заключение, что “КВ” ЭС – ДОПГХ образуется посредством водородных связей с участием ^+NH -катиона ДОПГХ и OH, COO^- функциональных групп ЭС.

Идентичность ИК-спектров механообработанных смесей ЭС – ДОПГХ (1:1, 40 г) и ЭС – ДОПГХ (1:1, 60 г) в области частот $1000 - 1500\text{ см}^{-1}$ (рис. 3, б, в) показывает, что образование “КВ” возможно уже при средней нагрузке активатора АГО-2У.

Анализ растворимости механообработанных смесей ЭС с ДОПГХ, полученных при различной энергонапряженности, согласуется с ИК-спектральными данными. В случае механообработанных смесей ЭС с ЛВ наблюдается более медленное растворение ЛВ в усло-

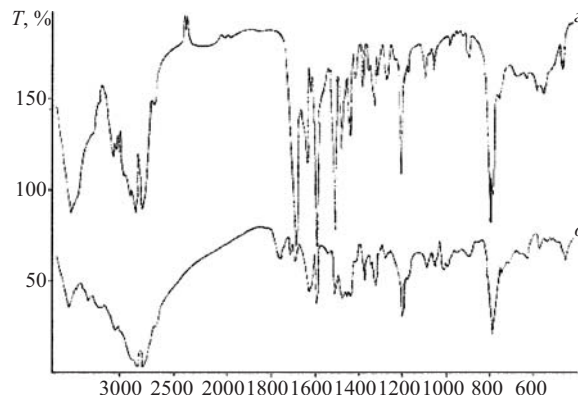


Рис. 4. ИК-спектры: z — ДОПГХ (АГО, 60 г, 10 мин); д — разностный спектр “КВ” ЭС – ДОПГХ (1:1, 60 г) — ЭС (60 г)

виях, моделирующих среду желудочного сока, по сравнению с исходным ЛВ, т.е. пролонгирование процесса растворения (табл. 2), что указывает на взаимодействие между компонентами в системе с образованием “КВ” аналогично [11], представляющим собой систему, в которой происходит равномерное смешение ЛВ и полимера и образование водородных связей между активными группами взаимодействующих компонентов. Например, растворимость исходного ДОПГХ в течение 30 мин составила 54 %, а растворимость смеси ЭС – ДОПГХ (1:1), полученной при энергонапряженности 20, 40 и 60 г, — соответственно 36, 35 и 34 %.

Для более полного подтверждения образования “КВ” был проведен равновесный диализ [10] смеси ЭС – ДОПГХ (1:1, 40 г) и ИК-спектральный анализ нерастворившейся части смеси и части, перешедшей в раствор (табл. 3, рис. 5).

Из данных табл. 3 следует, что десорбция ДОПГХ из “КВ” несколько замедляется, что может привести к изменению направленности действия препарата. Исследование динамики десорбции ДОПГХ из механообработанных смесей с ЭС, полученных при различной энергонапряженности измельчителя показало (табл. 3), что при минимальной нагрузке измельчителя (20 г) величина диффузии ДОПГХ из “КВ” составила за 120 мин 77,95 %, при средней (40 г) — 69,27 %, при максимальной (60 г) — 69,14 %, т.е. образование “КВ” завершается уже при средней нагрузке активатора 40 г, как и показано ИК-спектральными исследованиями.

Таблица 3
Динамика десорбции ДОПГХ в среде 0,1 N HCl из механообработанных смесей ЭС – ДОПГХ = 1:1 при различной энергонапряженности (концентрация, %)

Энергонапряженность, г	Продолжительность десорбции, мин				
	10	20	30	70	120
ДОПГХ — исходный	39,87	57,69	64,44	81,42	84,19
ЭС – ДОПГХ (1:1), 20	28,24	41,69	47,55	68,88	77,95
ЭС – ДОПГХ (1:1), 40	18,49	24,82	34,19	52,43	69,27
ЭС – ДОПГХ (1:1), 60	18,03	24,16	33,95	52,10	69,14

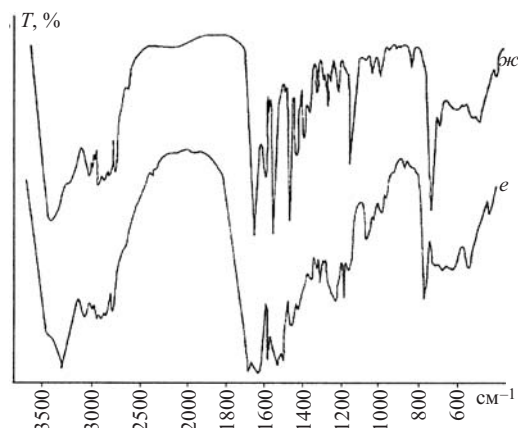


Рис. 5. ИК-спектры смеси ЭС – ДОПГХ (1:1), АГО, 40 г, 10 мин: *e* — нерастворимая часть; *ж* — растворимая часть

Анализ спектров нерастворившейся части и части, перешедшей в раствор, позволяет сделать однозначный вывод, что в раствор переходит практически чистый ДОПГХ (возможно с очень незначительным количеством сильно деструктурированного ЭС) (рис. 5, *ж*).

Спектр нерастворимой части идентичен спектру смеси ЭС – ДОПГХ (1:1, 20 г) в области частот 1000 – 1500 cm^{-1} (срав. спектр рис. 3, *a* и рис. 5, *e*), что свидетельствует о сорбции дезоксипеганина хлоргидрата полимером, т.е. об образовании “КВ”.

Таким образом, можно сделать вывод, что в результате механообработки ЭС с ДОПГХ, как в индивидуальном состоянии, так и в смеси происходят изменения

размеров, формы и структуры образцов, при механообработке смеси происходит взаимодействие между функциональными группами компонентов с образованием “КВ”, которое усиливается с ростом энергонапряженности активатора, что подтверждается данными ИК-спектрального исследования, рентгенофазового анализа, изучения растворимости и диализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. А. Баранов, *Вестник хирургии им. Грекова*, № 4–6, 240–245 (1992).
2. И. В. Михайлов, *Мед. помощь*, № 5, 47–51 (1999).
3. Н. Д. Бурханова, С. М. Югай, М. Ю. Юнусов и др., *Химия природ. соед.*, № 2, 229–233 (1999).
4. М. А. Андрейчин, В. В. Гебеш, М. С. Гнатюк и др., *Врачебное дело*, № 9, 12–19 (1991).
5. С. Ю. Юнусов, *Алкалоиды*, “Фан”, Ташкент (1981).
6. O. Battista and P. Smith, *Ind. Eng. Chem.*, **54**(9), 20 (1962).
7. Pat. GB. 1011406.
8. S. Yamamura, K. Terada, and Y. Momose, *J. Pharm. Pharmacol.*, **49**(12), 1178–1181 (1997).
9. Y. Nakai, E. Funuska, S. Nakajima, *Chem Pharm. Bull.*, **26**(10), 2983 (1978).
10. Ю. Э. Кирш, *Хим.-фарм. журн.*, **19**(9), 1105–1110 (1985).
11. С. С. Халиков, Т. Ю. Поминова, А. В. Авдеева и др., *Химия природ. соед.*, № 2, 226–228 (1995).
12. *ГФ СССР*, XI изд., вып. 2, Медицина, Москва (1987).
13. С. С. Халиков, *Дис. докт. техн. наук*, Ташкент (1996).

Поступила 30.07.04

ENTEROSORBENT BASED ON FIBROIN FROM NATURAL SILK AND ITS MECHANOCHEMICAL MODIFICATION WITH DEOXYPEGANIN HYDROCHLORIDE

T. S. Pak¹, D. B. Takhtaganova¹, and E. L. Kristallovich²

¹ Institute of the Chemistry and Physics of Polymers, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

² Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

A new selective enterosorbent based on fibroin from natural silk is proposed, which possesses higher detoxicating properties as compared to traditional carbon sorbents (SKN-2K, SKN-4M). The new product can solve problems of the import substitution and the utilization of silk industry wastes. The positive action of the new enterosorbent can be increased by using it as a polymeric matrix for other drugs. The inclusion complexes of the proposed enterosorbent with deoxypeganine hydrochloride have been obtained and investigated. It is shown that the interaction of enterosorbent with deoxypeganine hydrochloride leads to the formation of hydrogen bonds.