

© Коллектив авторов, 2015

С. А. Кедик<sup>1, 2</sup>, А. А. Вагина<sup>1</sup>, А. В. Панов<sup>1, 2</sup>, Е. С. Жаворонок<sup>1, 2\*</sup>,  
Е. В. Ворфоломеева<sup>1, 2</sup>, В. В. Суслов<sup>1, 2</sup>

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА КОЭФФИЦИЕНТ ПОГЛОЩЕНИЯ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ СОПОЛИМЕРОВ N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА С 2-МЕТИЛ-5-ВИНИЛПИРИДИНОМ

<sup>1</sup> Московский государственный университет тонких химических технологий (МИТХТ)

им. М. В. Ломоносова, Россия, 119571, Москва, пр-т Вернадского, д. 86

<sup>2</sup> ЗАО «Институт фармацевтических технологий», Россия, 121353, Москва,

Сколковское ш., д. 21/32; \* e-mail: zhavoronok\_elena@mail.ru

Проведено спектрофотометрическое исследование водных растворов 3 образцов сополимеров N-винилпирролидона с 2-метил-5-винилпиридином с различным соотношением звеньев мономеров. Получены концентрационные зависимости оптической плотности растворов при 269 нм и рассчитаны удельные коэффициенты поглощения этими растворами. Найдены области значений pH и температур с наиболее стабильными результатами определений. Полученные результаты могут быть положены в основу разработки методики количественного определения сополимеров N-винилпирролидона с 2-метил-5-винилпиридином в водных растворах.

**Ключевые слова:** сополимеры N-винилпирролидона с 2-метил-5-винилпиридином; удельный коэффициент поглощения; разделение фаз; влияние pH раствора.

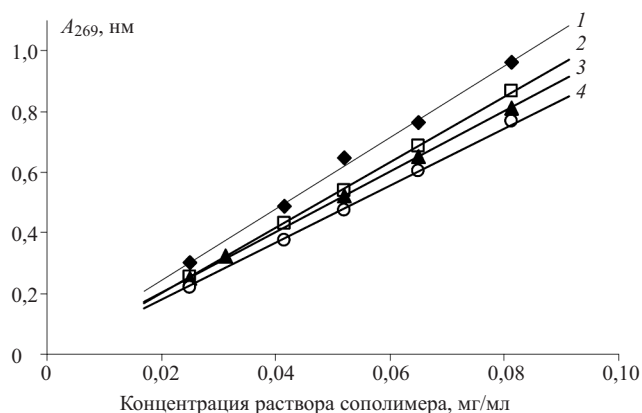
Сополимеры на основе N-винилпирролидона (I) с различными производными пиридина представляют большой интерес в качестве физиологически активных веществ [1 – 4]. Они эффективны в качестве активаторов фагоцитоза и противораковых средств [5, 6], а также перспективны в качестве иммуномодулирующих и иммуноадаьювантных дополнительных компонентов лекарственных препаратов. При этом важнейшим условием является установление содержания такого компонента (сополимера) в готовой лекарственной форме.

Одним из доступных и нетрудоемких, но в то же время точных методов количественного определения сополимеров с известной молекулярной массой, содержащих пиридиновые фрагменты, является спектрофотометрия [7]. Ранее [8] нами показаны возможности этого метода для количественной характеристики состава сополимера, причем в качестве растворителя использовался хлороформ. Однако в большинстве парентеральных лекарственных форм растворителем является вода. Свойства указанных сополимеров в водных растворах сильно отличаются от их свойств в среде органических растворителей и зависят от таких факторов, как температура, pH среды и содержание солей в растворе. Ранее [9] нами показано, что в водных растворах сополимеров I с 2-метил-5-винилпиридином (II) при определенных условиях может образовываться новая фаза, что для готовых лекарственных форм неприемлемо.

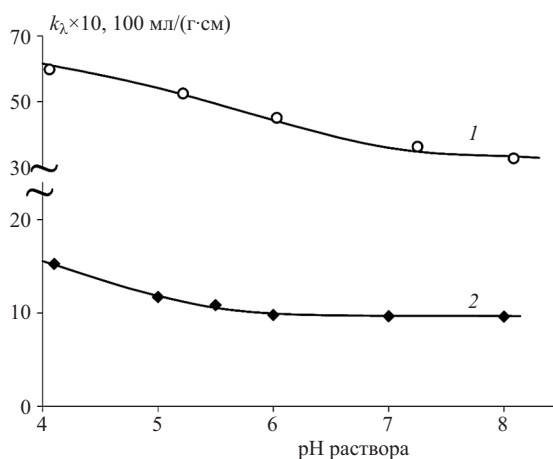
Цель настоящей работы заключается в спектрофотометрическом исследовании водных растворов сополимеров I с II и определении удельного показателя поглощения с учетом таких факторов, как состав сополимера, температура и pH среды, а также концентрация солей, которые могут содержаться в готовой лекарственной форме (растворе). Полученные результаты будут положены в основу разработки методики количественного определения сополимера I с II известной молекулярной массы и мономерного состава в готовых лекарственных формах.

### Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использовали специально синтезированные сополимеры I с II (далее – сополимеры). Сополимеры синтезировали радикальной сополимеризацией (инициатор — динитрил азо-бис-изомаасляной кислоты) при 65 – 67 °C в атмосфере аргона при постоянном соотношении мономеров в реакционной массе, обеспечиваемом подпиткой реакционной смесью постоянного состава [10, 11]. Исследовали 3 образца с различным содержанием звеньев II в сополимере (27, 35 и 55 мол. % по данным ЯМР <sup>13</sup>C и неводного титрования [11]) и средневязкостной молекулярной массой 48 – 49 кДа. Спектры ЯМР <sup>13</sup>C регистрировали на спектрометре Jeol JNM-ECX400 при 18 °C с рабочей частотой на ядрах углерода 100 МГц. Для количественной оценки образцов спектры регистрировали в режиме Inverse Gate, при котором происходит полное широкополосное подавление



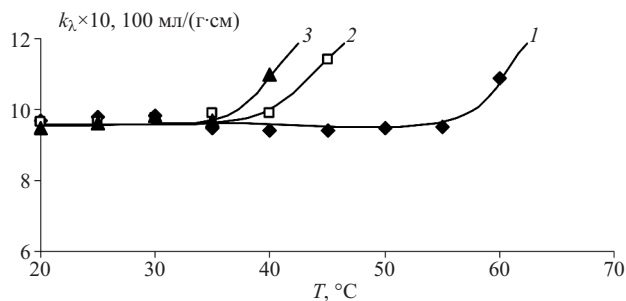
**Рис. 1.** Типичные концентрационные зависимости оптической плотности водных растворов сополимеров при 269 нм. Сополимер с мольным содержанием пиридиновых звеньев 35 %, температура 25 °С, содержание NaCl в растворе 0,9 масс. %, pH раствора 5,0 (1), 5,5 (2), 6,0 (3), 7,0 (4).



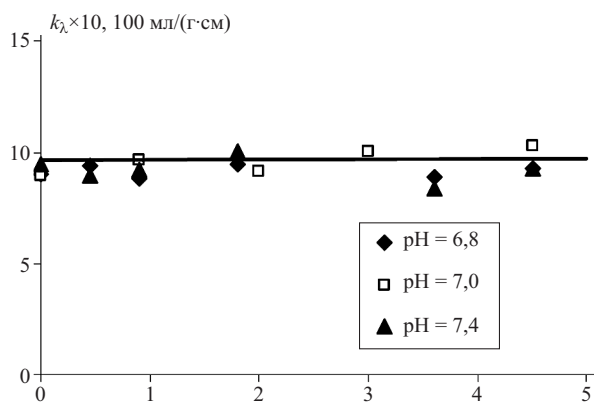
**Рис. 3.** Типичная зависимость удельного коэффициента поглощения водных растворов III (1) и сополимера с содержанием П 35 мол. % (2) от pH среды. Температура 25 °С, содержание NaCl в растворе 0,9 масс. %.

протонов и отсутствует ядерный эффект Оверхаузера. Задержка между импульсами по правилу 5T1 составляла 30 с, количество сканирований — 1000 [11]. Метод неводного титрования звеньев заключается в кислотно-основном титровании II сополимера в среде уксусного ангидрида 0,1 М раствором хлорной кислоты с потенциометрической регистрацией точки эквивалентности [11]. Дополнительно использовали поли-I марки “Повидон” производства ООО “АК Синтвита” с молекулярной массой  $(35 \pm 2)$  кДа (ФСП 42-0345-4369-03), а также мономолекулярный метилэтилпиридин (III) производства Astos Organics с т. кип. 178 °С и  $n_D(20\text{ °С}) = 1,497$ .

Образцы для исследования готовили путем растворения предварительно высушенного поли-I или сополимера в фосфатно-солевом буферном растворе ФБР (pH = 7,4;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,7 мМ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  5,2 мМ, NaCl 150 мМ) с получением 0,1 масс. % раствора. При необходимости pH раствора доводили до заданного значения с помощью 6 масс. % водного раствора  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  и



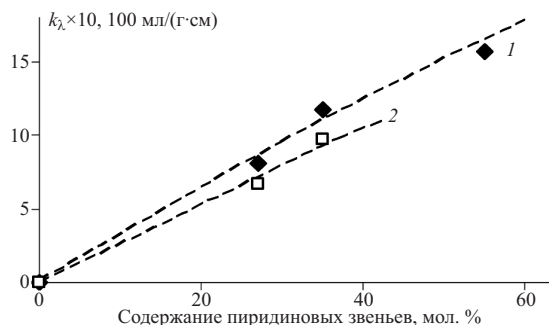
**Рис. 2.** Типичные зависимости удельного коэффициента поглощения водных растворов сополимера с содержанием фрагментов пиридина 35 мол. % от температуры. Содержание NaCl в растворе 0,9 масс. %. pH раствора 6,0 (1), 7,0 (2), 8,0 (3).



**Рис. 4.** Зависимость удельного коэффициента поглощения водных растворов сополимера с содержанием фрагментов пиридина 35 мол. % от концентрации NaCl. Температура 25 °С.

10 масс. % водного раствора  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Полученный раствор разбавляли ФБР (при исследовании влияния концентрации солей) или водой (в прочих случаях) с получением 0,01 масс. % раствора. Далее проводили последовательные разбавления этого раствора ФБР или водой с получением образцов для спектрофотометрии. Определение pH растворов проводили с помощью преобразователя ионометрического И-500 (“НКПФ Аквилон”, Россия), снабженного стеклянным комбинированным электродом ЭСК-10601 и термостатом.

Спектрофотометрические исследования проводили на спектрофотометре СФ-104 (“НКПФ Аквилон”, Россия) при длине волны 269 нм, которая соответствует максимуму пика поглощения фрагментов пиридина. Предварительно было показано, что в этой области поглощение структурных фрагментов пирролидона отсутствует. Эксперимент проводили при постоянных температурах в интервале от 20 до 60 °С, постоянных pH в диапазоне 4,0 до 8,0 и постоянных концентрациях соли (NaCl) в интервале от 0 до 4,5 масс. %. Перед каждым экспериментом для удаления возможного осадка сополимера на стенках кварцевой спектрофотометрической кюветы ее обрабатывали концентрированной соляной кислотой с последующим многократным ополаскиванием в дистиллированной воде и растворе образца.



**Рис. 5.** Зависимость удельного коэффициента поглощения водных растворов сополимеров от состава сополимера. Температура 25 °С, содержание NaCl в растворе 0,9 масс. %, pH раствора 5,0 (1) и 7,0 (2).

### Результаты и их обсуждение

Типичный вид зависимости оптической плотности растворов при 269 нм от концентрации раствора сополимера приведен на рис. 1.

Полученные зависимости соответствуют закону Бугера — Ламберта — Бера [7], причем использовали массу-объемную концентрацию растворов  $c_p$  [г/100 мл] и, следовательно, удельный коэффициент поглощения  $k_\lambda$  [100 мл/г · см]:

$$A_\lambda = k_\lambda c_p l, \quad (1)$$

где  $A_\lambda$  — оптическая плотность при данной длине волны;  $l$  — длина слоя образца (толщина спектрофотометрической кюветы),  $l = 1$  см.

Ранее [9] показано, что водные растворы исследуемых сополимеров характеризуются нижней критической температурой смещения (НКТС) [12], причем в зависимости от состава сополимера и условий эксперимента (в частности, температуры и pH) возможен переход в гетерогенное состояние. Проведенные эксперименты (рис. 2) показывают, что при переходе в гетерогенное состояние (при разделении фаз) удельный коэффициент поглощения резко возрастает, тогда как в области гомогенности он строго постоянен. Кажущееся увеличение оптической плотности в первом случае связано с появлением новых центров рассеяния. Таким образом, на основании спектрофотометрических экспериментов можно судить о фазовом состоянии растворов сополимеров, в частности, определять температуру разделения фаз.

Дальнейшие эксперименты проводились в области гомогенного состояния растворов до температуры появления новой фазы. При исследовании влияния pH среды на удельный коэффициент поглощения (рис. 3) было выделено 2 области: в слабокислой pH = (4,0 – 6,0)  $k_\lambda$  заметно падает с увеличением pH, тогда как в нейтральной и слабоосновной pH = (6,0 – 8,0)  $k_\lambda$  от pH практически не зависит. Можно предположить, что это связано с протонированием фрагментов пиридина в кислой области pH, что изменяет его поглощение. Для проверки этого предположе-

ния была получена зависимость  $k_\lambda$  от pH для III, имеющего структуру, аналогичную пиридиновому фрагменту в сополимере. Соответствующая зависимость также приведена на рис. 3.

Из приведенных зависимостей видно, что поглощение III действительно зависит от pH в кислой области. Таким образом, падение  $k_\lambda$  с увеличением pH от 4,0 до 6,0 связано именно с протонированием пиридиновых фрагментов в сополимере. Кроме того, из рис. 3 можно сделать вывод, что спектрофотометрические исследования водных растворов исследуемых сополимеров целесообразно проводить в области pH = 6,0 – 8,0, то есть в том диапазоне, где pH не влияет на  $k_\lambda$ .

Большое значение при спектрофотометрическом исследовании лекарственных растворов (например, вакцин) на основе исследуемых сополимеров имеет влияние концентрации солей. Экспериментальные результаты (рис. 4) свидетельствуют, что концентрация NaCl (компонент физиологического раствора) до 4,5 масс. % на  $k_\lambda$  практически не влияет. Это позволяет осуществлять воспроизводимые спектрофотометрические эксперименты, не учитывая содержание солей в лекарственной системе.

Растворимость в воде и прочие свойства исследуемых сополимеров сильно зависят от их мономерного состава [9]. Поэтому на заключительном этапе данной работы исследовали влияние соотношения звеньев мономеров в сополимере на удельный коэффициент поглощения. За образец с содержанием пиридиновых звеньев 0 % принимали поли-I. Зависимость  $k_\lambda$  от содержания пиридиновых звеньев в сополимере представлена на рис. 5. Из рисунка видно, что с увеличением доли пиридиновых звеньев в сополимере удельный коэффициент поглощения сильно возрастает. Приведенные зависимости дают возможность решать и обратную задачу — количественно оценивать состав сополимера по спектрофотометрическим данным.

Проведенные исследования свидетельствуют, что методом спектрофотометрии по уравнению (1) можно определять концентрацию сополимера в водных растворах и лекарственных препаратах на их основе (например, в вакцинах). Такие исследования следует проводить, имея информацию о соотношении звеньев мономеров в сополимере, в области гомогенных растворов (до температуры разделения фаз) и при pH = 6,0 – 8,0; влиянием концентрации солей, по крайней мере до 4,5 масс. %, можно пренебречь.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ф. П. Сидельковская, *Химия N-винилпирролидона и его полимеров*, Наука, Москва (1970).
2. Ю. Э. Кирш, *Поли-N-винилпирролидон и другие поли-N-виниламиды: синтез и физико-химические свойства*, Наука, Москва (1998).
3. Сэноо Манабу (ред.), *Полимеры медицинского назначения*, Медицина, Москва (1981).
4. Н. А. Платэ, А. Е. Васильев, *Физиологически активные полимеры*, Химия, Москва (1986).
5. С. А. Кедик, С. В. Ворожцова, Е. И. Ярцев и др., *Вопросы биол., мед. и фарм. химии*, № 8, 32 – 35 (2012).

6. С. А. Кедик, А. В. Панов, И. В. Сакаева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **46**(12), 30 – 33 (2012); *Pharm. Chem. J.*, **46**(12), 726 – 729 (2013).
7. *Основы аналитической химии*, Ю. А. Золотов (ред.), Кн. 2, Методы химического анализа, Высшая школа, Москва (2004).
8. С. А. Кедик, Д. В. Еремин, Ю. В. Кочкина и др., *Вестник МИТХТ*, **9**(1), 64 – 67 (2014).
9. С. А. Кедик, А. В. Панов, В. В. Суслов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **47**(6), 33 – 34 (2013); *Pharm. Chem. J.*, **47**(6), 318 – 320 (2013).
10. Е. К. Федоров, О. Е. Лобанов, Л. Ф. Мосалова и др., *Высокомолек. соедин., Сер. А.*, **36**(9), 1446 – 1451 (1994).
11. С. А. Кедик, А. В. Панов, И. В. Сакаева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **46**(8), 10 – 22 (2012); *Pharm. Chem. J.*, **46**(8), 478 – 481 (2012).
12. С. А. Кедик, А. В. Панов, И. В. Сакаева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **47**(5), 55 – 56 (2013); *Pharm. Chem. J.*, **47**(5), 287 – 288 (2013).

Поступила 27.06.14

## INFLUENCE OF VARIOUS FACTORS ON OPTICAL ABSORPTION COEFFICIENT OF AQUEOUS SOLUTIONS OF N-VINYLPYRROLIDONE AND 2-METHYL-5-VINYLPYRIDINE COPOLYMERS

S. A. Kedik<sup>1, 2</sup>, A. A. Vagina<sup>1</sup>, A. V. Panov<sup>1, 2</sup>, E. S. Zhavoronok<sup>1, 2\*</sup>, E. V. Vorfolomeeva<sup>1, 2</sup>, and V. V. Suslov<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Lomonosov University of Fine Chemical Technology, Moscow, 119571 Russia

<sup>2</sup> Institute of Pharmaceutical Technologies, Moscow, 121353 Russia

\* e-mail: zhavoronok elena@mail.ru

The spectrophotometric study of aqueous solutions of three copolymers of N-vinylpyrrolidone and 2-methyl-5-vinylpyridine with different ratios of monomer units has been performed, the concentration dependences of the optical density of copolymer solutions at 269 nm were obtained, and the specific optical absorption coefficients of these solutions were calculated. It is established that, for the studied systems characterized by the LCMT (low critical mixing temperature), an increase in the temperature leads to a marked increase in the specific absorption coefficient. In a homogeneous field, when the solution pH is decreased from 6.0 to 4.0, the specific absorption coefficient of solutions also increases due to a change in the optical absorption of the pyridine fragments of copolymer as a result of their protonation. The concentration of salt (NaCl), at least up to 4.5 wt. %, produces almost no effect on the specific absorption coefficient of solution. The obtained results can be used as the basis for development of quantitative techniques for determining copolymers of N-vinylpyrrolidone and 2-methyl-5-vinylpyridine in aqueous solutions (including, final dosage forms). The most consistent results can be obtained at temperatures up to the transition temperature and in a weakly basic region (for a copolymer containing 35 % pyridine units, pH = 6.0 – 8.0).

**Keywords:** copolymers of N-Vinylpyrrolidone and 2-Methyl-5-vinylpyridine; specific optical absorption coefficient; phase separation; solution pH effect.