

УДК [615.46.014.47:615.28]:546.26

DOI: 10.15372/KhUR20170109

Адсорбционные свойства углеродных энтеросорбентов, модифицированных биологически активными веществами

Л. Г. ПЬЯНОВА^{1,2}, В. А. ЛИХОЛОБОВ^{1,2,3}, Л. К. ГЕРУНОВА⁴, А. В. СЕДАНОВА¹, А. В. ЛАВРЕНОВ¹¹Институт проблем переработки углеводов Сибирского отделения РАН, Омск, Россия

E-mail: medugli@ihcp.ru

²Омский государственный технический университет, Омск, Россия³Омский научный центр Сибирского отделения РАН, Омск, Россия⁴Омский государственный аграрный университет им. П. А. Столыпина, Омск, Россия

Аннотация

Для повышения биоспецифических свойств углеродных энтеросорбентов ветеринарного назначения предложены способы химического модифицирования их поверхности. Синтезированы модифицированные образцы углеродного сорбента: углеродный сорбент, содержащий полиаргинин, и препарат с импрегнированным в пористую матрицу бетулином. Изучены адсорбционные свойства исследуемых образцов по отношению к веществам, моделирующим токсины с низкой и среднемолекулярной массой (витамин В₁₂, метиленовый синий). Проведена оценка адсорбционных свойств по отношению к провоспалительным цитокинам на примере сорбента, модифицированного полиаргонином. Установлено, что на адсорбционные свойства углеродных сорбентов оказывают влияние локальное нанесение модификаторов на образцы углеродного сорбента и повышенное содержание кислород- и азотсодержащих групп на их поверхности.

Ключевые слова: углеродный сорбент, аргинин, полиаргинин, бетулин, модифицирование, адсорбционные свойства, витамин В₁₂, метиленовый синий, провоспалительные цитокины, интерлейкин 8, интерлейкин 6, фактор некроза опухоли альфа

ВВЕДЕНИЕ

Создание углеродных материалов с повышенной адсорбционной активностью по отношению к токсичным веществам определенной природы, с детоксикационными и корригирующими свойствами путем регулирования химической природы их поверхности (химического модифицирования) представляет значительный интерес, так как позволяет расширить спектр сорбентов биоспецифического действия.

Механизм действия сорбционных препаратов основан на связывании токсических веществ в желудочно-кишечном тракте путем

адсорбции, абсорбции, ионного обмена и комплексообразования. Дополнительный лечебный эффект энтеросорбции проявляется в стимуляции работы кишечника [1–3].

При сорбции токсических веществ поверхностью углеродного сорбента, гидрофобной по природе, основным механизмом взаимодействия является физическая адсорбция, обусловленная действием дисперсионных сил. Ее определяющим фактором служит соразмерность молекул токсических веществ и пор сорбента, поэтому известные углеродные сорбенты обладают различной активностью [1, 4].

ТАБЛИЦА 1

Эффективные размеры небольших частиц, молекул и ионов

Частицы	Диапазон размеров, диаметр, нм
Дрожжи и грибы	1000–10 000
Бактерии	300–10 000
Масляные эмульсии	100–10 000
Твердые коллоидные частицы	100–1 000
Вирусы	30–300
Белки и полисахариды (молярная масса $M = 10^4$ – 10^6 г/моль)	2–10
Ферменты ($M = 10^4$ – 10^5 г/моль)	2–5
Противопаразитарные препараты ($M = 300$ – 1000 г/моль)	1–3
Антибиотики ($M = 300$ – 1000 г/моль)	0.6–1.2
Органические молекулы ($M = 30$ – 500 г/моль)	0.3–0.8
Неорганические ионы ($M = 10$ – 100 г/моль)	0.2–0.4
Вода ($M = 18$ г/моль)	0.2

В табл. 1 представлены характеристические размеры микроорганизмов и различных соединений. Подбор сорбентов с определенной структурой поверхности позволяет извлечь из организма широкий спектр токсических веществ.

Для повышения биоспецифических свойств углеродных сорбентов в работе используют два направления: 1) химическое модифицирование поверхности методом поликонденсации аргинина и образования полимеров *in situ* (непосредственно на поверхности углеродных сорбентов); 2) импрегнирование в пористую матрицу углеродного носителя нанодиспергированного бетулина в водорастворимой форме. В настоящее время подобные процессы практически не изучены.

Ранее [5] мы исследовали физико-химические характеристики синтезированных ветеринарных препаратов. В данной работе изучены адсорбционные свойства образцов по отношению к веществам, моделирующим токсины низкой и среднемолекулярной массы. Адсорбционные свойства – одна из основных характеристик для оценки эффективности сорбентов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования служил мезопористый углеродный энтеросорбент Зоокарб. Образец соответствовал требованиям ТУ 9318-003-71069834–2006 и представлял собой блестящие сферические гранулы диаметром 0.1–

1.0 мм черного или серебристого цвета, без запаха. Массовая доля углерода в образце не менее 99.5 %; потеря массы при высушивании не превышала 0.10 %; остаток после прокаливания – не более 0.5 %; адсорбционная активность по метиленовому синему – не менее 30 мкг/мг; согласно результату ситового анализа, остаток на сите с диаметром отверстий 1.0 мм и прошедший через сито с диаметром отверстий 0.1 мм не превышал 0.5 %.

В качестве веществ, моделирующих токсичные соединения, выбраны метиленовый синий (молярная масса $M = 319.8$ г/моль; средний диаметр 1.26 нм) производства ПАО “Шосткинский завод химических реактивов” (Украина); витамин B_{12} ($M = 1355$ г/моль; средний диаметр 6 нм) производства ОАО “Мосхимфармпрепараты” им. Н. А. Семашко” (Россия).

Адсорбционные свойства образцов углеродного сорбента по отношению к веществам-маркерам изучены спектрофотометрическим методом [6–11].

Адсорбцию изучали в статических условиях при температуре (25 ± 2) °С. Зависимость адсорбции веществ на образцах сорбента от времени контакта исследовали следующим образом: к навеске сорбента (0.1800 ± 0.0002) г добавляли 1.8 мл раствора красителя или витамина с концентрацией (0.50 ± 0.02) мг/мл и измеряли количество адсорбата в растворе по истечении определенного времени контакта (2, 4, 6, 24, 48 ч). Концентрацию веществ в рас-

творе оценивали до и после проведения адсорбции при соответствующей длине волны (для метиленового синего – 660 нм, для витамина В₁₂ – 360 нм), толщина кюветы 10 мм.

Статическую обменную емкость образца *a* рассчитывали по формуле

$$a = (C_{\text{исх}} - C_{\text{равн}})V/m \quad (1)$$

где $C_{\text{исх}}$ и $C_{\text{равн}}$ – исходная и равновесная концентрации маркера в растворе соответственно, мг/мл; V – объем раствора, мл; m – масса навески сорбента, г.

После проведения исследований строили графическую зависимость $f(x) = y$: “время контакта – количество адсорбированного вещества из раствора”.

Зависимость адсорбции на исследуемых сорбентах веществ-маркеров от их концентрации в растворе изучали при установленном времени равновесия.

Рассчитывали значения статической обменной емкости и строили кривую зависимости адсорбции на исследуемых сорбентах веществ-маркеров от их концентрации в растворе.

Градуировочные кривые растворов красителя и витамина В₁₂ имели линейную зависимость (коэффициент корреляции $R^2 = 1$) и описывались следующими уравнениями:

1) для растворов метиленового синего в интервале концентраций 0.005–0.010 мг/мл: $y = 212.41x + 0.0509$;

2) для растворов витамина В₁₂ в интервале концентраций 0.010–0.500 мг/мл: $y = 16.945x + 0.0029$.

Оценку адсорбционных свойств по отношению к провоспалительным цитокинам проводили на примере сорбента, модифицированного полиаргинином, по разработанным методикам на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Омского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения РФ (ЦНИЛ ОмГМУ Минздрава РФ). Адсорбционные свойства образцов исследовали по отношению к цитокинам: интерлейкину 6 (ИЛ-6), интерлейкину 8 (ИЛ-8), фактору некроза опухоли (ФНО). Испытания проводили с использованием плазмы крови лабораторных животных (крыс) с экспериментальным перитонитом. Концентрацию провоспалительных цитокинов в плазме крови лабораторных животных определяли до и после ее контакта с образцами энтеросор-

бентов. Уровни интерлейкинов определяли методом твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА) на планшеточном фотометре Multiscan EX (Финляндия) с использованием наборов реагентов Pro Con IL-6, Pro Con IL-8 (ООО “Протеиновый контур”, С.-Петербург) методом твердофазного ИФА.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования зависимости адсорбции метиленового синего и витамина В₁₂ на образцах сорбента от времени контакта представлены на рис. 1.

Видно, что при адсорбции метиленового синего и витамина на модифицированных образцах равновесие наступает быстрее, чем на исходном образце. Это можно объяснить мень-

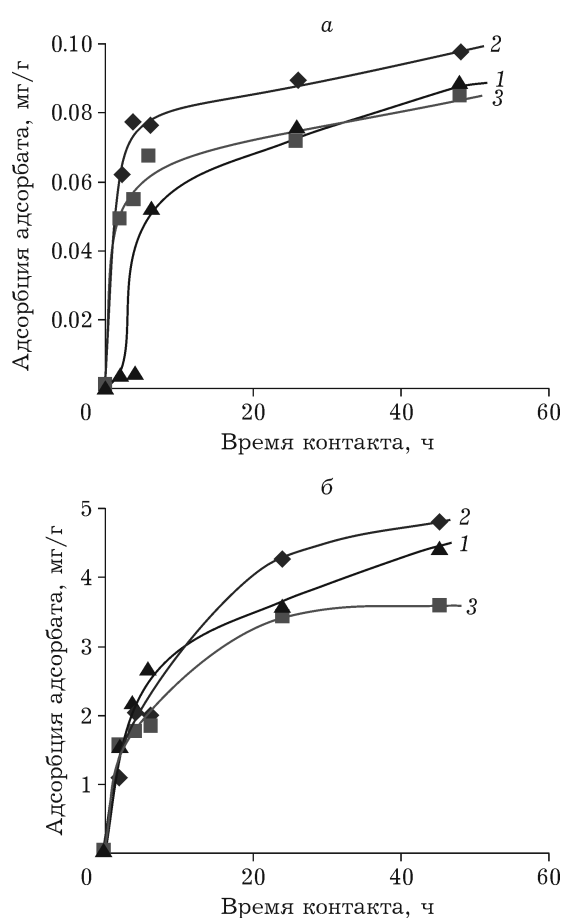


Рис. 1. Зависимость величины адсорбции метиленового синего (а) и витамина В₁₂ (б) от времени контакта для исследуемых образцов: 1 – исходный; 2 – модифицированный бегулином; 3 – модифицированный полиаргинином.

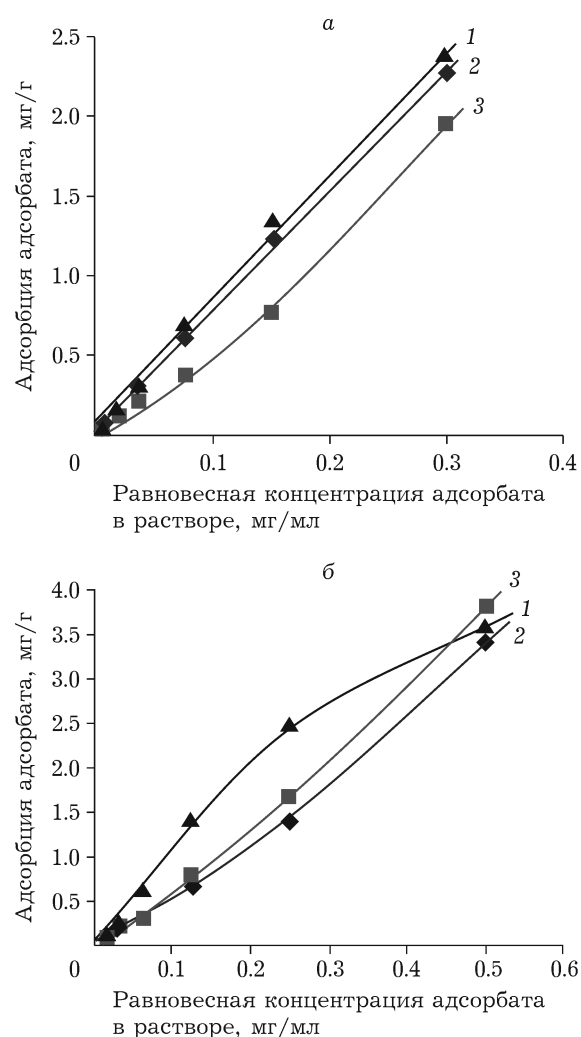


Рис. 2. Изотермы адсорбции метиленового синего (а) и витамина В₁₂ (б) из раствора на исследуемых образцах углеродного сорбента (время контакта 24 ч): 1 – исходный; 2 – модифицированный бетулином; 3 – модифицированный полиаргинином.

шей удельной поверхностью модифицированных образцов из-за закрытых модификатором пор. К наступлению равновесия в системе ко-

личество адсорбированного красителя практически одинаково для всех образцов и составляет 0.087–0.098 мг/г (см. рис. 1, а). Таким образом, для исследования процесса адсорбции выбранное время контакта составляет 24 ч.

Исследование зависимости адсорбции метиленового синего и витамина В₁₂ на образцах сорбента от их концентрации в растворах показало, что адсорбция образцов по отношению к метиленовому синему практически одинаковая и равна (2.17±0.22) мг/г (рис. 2, а). При этом адсорбционная кривая для образца, модифицированного бетулином, практически совпадает с кривой, установленной для исходного сорбента. Для образца, модифицированного полиаргинином, фиксируется тип адсорбции, характерный для микропористых сорбентов. Скорее всего, это связано с особенностью распределения модификатора в пористой структуре углеродного сорбента. По типу изотерм исходный образец относится к мезопористым сорбентам.

Установлено, что для образца, модифицированного полиаргинином, адсорбция витамина В₁₂ выше и достигает (3.64±0.20) мг/г (см. рис. 2, б). Необходимо отметить, что изотермы адсорбции двух адсорбатов на исследуемых образцах не выходят на “плато”, что свидетельствует о возможности дальнейшего насыщения сорбционного материала. Таким образом, модифицированные образцы обладают высокой адсорбционной способностью.

Оценка адсорбционных свойств по отношению к провоспалительным цитокинам проведена на примере сорбента, модифицированного полиаргинином, на базе ЦНИЛ ОмГМУ Минздрава РФ. Установлено, что модифицированные образцы углеродного сорбента значительно снижают уровень фактора некроза

ТАБЛИЦА 2

Адсорбционные свойства образцов по отношению к белкам (n = 30), (M±m)

Белки плазмы крови	Уровень цитокинов, пг/мл	
	до сорбции	после сорбции*
ИЛ-6 (M = 21 000, pI 6.2)	26.40±1.20 (11.2, 39.9)	22.20±0.50 (5.68, 27.2)
ИЛ-8 (M = 8500, pI 9.9)	3.10±0.20 (1.03, 5.32)	0.95±0.06 (0.575, 2.250)
ФНО-α (M = 26 000, pI 5.3)	2.25±0.75 (0.875, 4.550)	1.2±0.03 (0.1, 3.1)

Примечание. M – молярная масса молекулы белка, г/моль; pI – изоэлектрическая точка белка.

* Статистически значимые различия относительно показателей животных до проведения сорбции (p < 0.05).

опухоли α (ФНО-α), провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8 в сыворотке крови крыс (табл. 2). По-видимому, улучшенные адсорбционные свойства модифицированного образца по отношению к ИЛ-8 обусловлены структурой и молярной массой, изоэлектрической точкой в водных растворах последнего и размерами пор сорбента. Основное влияние на взаимодействие молекул цитокинов с модифицированной поверхностью сорбентов оказало локальное нанесение полимерной пленки аминокислот на поверхность углеродного носителя с соответствующими изменениями его текстурных и кислотно-основных свойств.

Таким образом, в результате модифицирования углеродного энтеросорбента полиаргинином получен препарат, позволяющий извлекать из биологических жидкостей провоспалительные цитокины, в том числе ИЛ-8.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Модифицирование поверхности углеродного энтеросорбента бетулином и полиаргинином улучшает их адсорбционные свойства по отношению к маркерам токсических веществ (метиленовому синему и витамину В₁₂). Величина адсорбции метиленового синего и витамина В₁₂ зависит от удельной поверхности сорбента и уменьшается с увеличением количества нанесенного модификатора, что свидетельствует о протекании преимущественно физической адсорбции. Величина адсорбции витамина В₁₂ для образца, модифицированного бетулином, выше, чем для образца, модифицированного полиаргинином, а по отношению к метиленовому синему адсорбция образцов практически одинаковая.

Углеродный сорбент, модифицированный полиаргинином, снижает содержание провоспалительных цитокинов (интерлейкина 6, интерлейкина 8, фактора некроза опухоли) в плазме крови крыс с острым экспериментальным перитонитом.

Используемые концентрации биологически активных компонентов (бетулина, аргинина) обеспечивают неполное закрытие пор материала (локальное модифицирование поверхности). Свободная, не заполненная частицами поверхность препарата обуславливает эффективную сорбцию веществ, моделирующих токсины. Формирование новых функциональных групп на поверхности модифицированных сорбентов обеспечивает их высокие адсорбционные свойства по отношению к провоспалительным цитокинам.

Разработанные сорбенты биоспецифического действия перспективны для использования в ветеринарной медицине при профилактике и комплексном лечении целого ряда заболеваний.

Авторы выражают благодарность д-ру мед. наук, профессору, зав. Клинико-диагностической лабораторией бюджетного учреждения здравоохранения Омской области “Клинический диагностический центр” Т. И. Долгих за руководство стендовыми медицинскими испытаниями.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Беляков Н. А. Энтеросорбция. Л.: Центр сорбционных технологий, 1991. 301 с.
- 2 Кручинский Н. Г. // Современные методы диагностики, лечения и профилактики заболеваний. 2002. Т. 5, В. 2. С. 330–360.
- 3 Филипенко П. С., Моисеевкова Н. Н. // Клиническая медицина. 2004. № 12. С. 9–15.
- 4 Лопухин Ю. М., Молоденков М. Н. Гемосорбция. 2-е изд. М.: Медицина, 1985. 288 с.
- 5 Пьянова Л. Г., Лихолобов В. А., Герунова Л. К., Седанова А. В., Лавренов А. В. // Химия уст. разв. 2017. Т. 25, № 1. С. 57–65.
- 6 Гауровитц Ф. Н. Химия и биология белков: пер. с англ. М.: Мир, 1953. 229 с.
- 7 Маркелов Д. А., Ницак О. В., Геращенко И. И. // Хим.-фарм. журн. 2008. Т. 42, № 7. С. 30–33.
- 8 Семак И. В., Зырянова Т. Н., Губич О. И. Биохимия белков: практикум для студентов. Минск: БГУ, 2007. 49 с.
- 9 Семенович А. В., Лоскутов С. Р. // Химия раст. сырья. 2004. № 3. С. 121–125.
- 10 Хохлова Т. Д., Хиен Л. Т. // Вестн. моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2007. Т. 48, № 3. С. 157–161.
- 11 Halperin A., Kröger M. // Macromolecules. 2011. Vol. 44. P. 6986–7005.

