

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ НА МЕЖФАЗНЫХ ГРАНИЦАХ

УДК 546.26:661.183:615.47.014.47:615.281.9

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА УГЛЕРОДНЫХ СОРБЕНТОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

© 2021 г. Л. Г. Пьянова¹, *, В. А. Дроздов¹, Н. В. Корниенко¹, М. В. Тренихин¹, А. В. Лавренов¹

¹Центр новых химических технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки “Федеральный исследовательский центр “Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук” (Омский филиал) (ЦНХТ ИК СО РАН, ИК СО РАН), Институт катализа СО РАН, ул. Нефтезаводская, 54, Омск – 40, 644040 Россия

*e-mail: medugli@ihcp.ru

Поступила в редакцию 05.08.2020 г.

После доработки 22.04.2021 г.

Принята к публикации 29.04.2021 г.

Путем химической модификации поверхности мезопористого углеродного материала (300–400 м²/г) биологически активными веществами (молочная кислота, лизоцим, N-винилпирролидон, бетулин) получены новые сорбенты медицинского назначения. Определены их структурно-морфологические характеристики. Проведена оценка антиоксидантных и биоспецифических свойств.

Ключевые слова: углеродные сорбенты, молочная кислота, лизоцим, N-винилпирролидон, бетулин, медико-биологические свойства

DOI: 10.31857/S0044185621050211

ВВЕДЕНИЕ

Модифицирование поверхности пористых углеродных материалов биологически активными веществами (полимеры, белки, аминокислоты, гидроксикислоты и т.д.) относится к ключевым способам получения новых сорбентов медицинского назначения [1–4]. В результате модифицирования расширяются спектр и эффективность применения углеродных сорбентов. Разнообразие и сочетание биоспецифических свойств модификаторов позволяет получать сорбенты комплексного действия [5–7].

Известны исследования по синтезу композиций полимолочная кислота – углеродные наноматериалы (углеродные нанотрубки, материалы на основе графена) для медицинских целей полимеризацией *in situ*. Метод включает смешивание углеродного наноматериала с чистым мономером или раствором мономера в присутствии катализаторов и последующей поликонденсацией [8]. Отечественными учеными ведутся исследования о возможности применения природных биологически активных веществ (бетулин) как компонентов материалов медицинского применения. Установлено, что иммобилизация бетулина в структуре материала повышает эффективность его применения и расширяет спектр действия [9]. Китайскими учены-

ми разработаны пористые микрочастицы, содержащие лизоцим и полимолочную кислоту в качестве лекарственного средства для лечения заболеваний легких [10].

В ЦНХТ ИК СО РАН разработаны методики синтеза гранулированных углеродных сорбентов медицинского и ветеринарного назначений, модифицированных олигомерами молочной кислоты, поливинилпирролидоном и бетулином [11, 12]. Продолжаются исследования по модифицированию углеродной поверхности комплексами биологически активных веществ (поливинилпирролидон-бетулин, молочная кислота-лизоцим) [13].

В рамках данной работы изучены физико-химические и медико-биологические свойства углеродных сорбентов, модифицированных композициями молочной кислотой с лизоцимом, и N-винилпирролидона с бетулином. Дана оценка перспективам их применения в лечебной практике.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве исходного образца использовался гранулированный мезопористый углеродный сорбент (УС) с удельной площадью поверхности 300–400 м²/г (ЦНХТ ИК СО РАН, Россия). Для

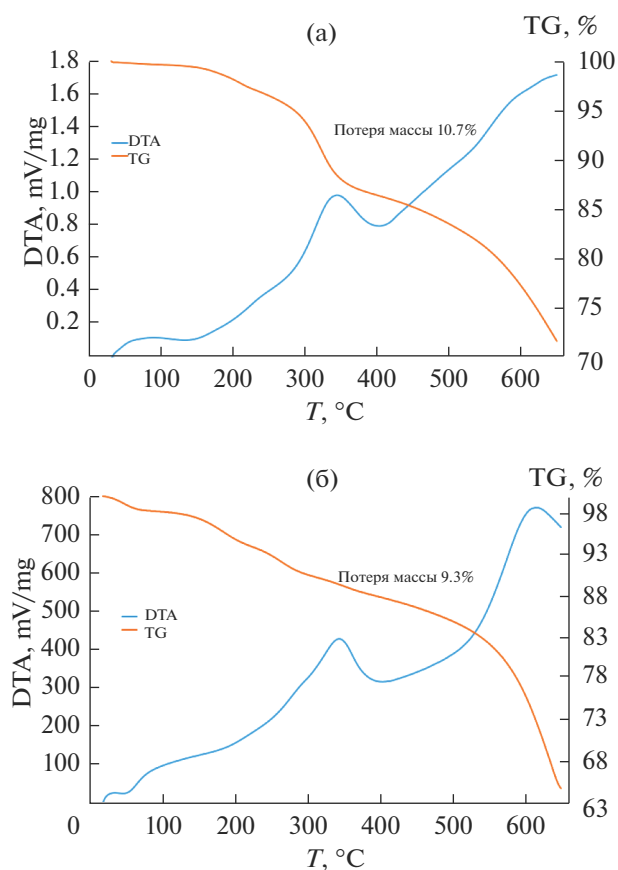


Рис. 1. ТГ-ДТА термограммы модифицированных углеродных сорбентов, УС-МК-ЛИЗ (а), УС-ПВП-Б (б).

модифицирования использовали молочную кислоту (МОСРЕАКТИВ, Россия), лизоцим (“Sigma-Aldrich”, Германия), N-винилпирролидон (“Merck”, Германия) и бетулин (ФГБУН Институт химии и химической технологии СО РАН, г. Красноярск).

Получение сорбента, модифицированного молочной кислотой (УС-МК-ЛИЗ), включало в себя пропитку гранул углеродного сорбента 50 мас. % водным раствором молочной кислоты при массовом соотношении сорбент : раствор модификатора 1 : 1 с последующей сушкой при температуре не выше 185°C в течении суток. Дополнительное модифицирование проводят 1 мас. % раствором лизоцима в ацетатном буфере (рН 7.4) при температуре 4°C и массовом соотношении сорбент : раствор 1 : 1.

Модифицирование углеродного сорбента поли-N-винилпирролидоном совместно с бетулином (УС-ПВП-Б) проводили путем пропитки углеродного материала 2.5 мас. % раствором бетулина в N-винилпирролидоне при объемном соотношении сорбент/раствор бетулина в N-ви-

нилпирролидоне 1 : 2 на водяной бане при температуре 70°C с последующей сушкой при 150°C.

Контроль процесса модифицирования углеродного сорбента по изменению текстуры и определение количества нанесенного модификатора осуществляли методами низкотемпературной адсорбции азота (анализатор Gemini 2380, Micromeritics, США) и термического анализа (термоанализатор DTG-60H, Shimadzu, Япония). Морфологию поверхности исследуемых образцов изучали методом сканирующей электронной микроскопии (электронный микроскоп JSM-6460LV, JEOL, Япония с энергодисперсионной приставкой для рентгеновского микроанализа INCA_{X-Act}, “Oxford Instruments”, Англия). Перед началом исследования проводили вакуумное напыление на образец сорбента платиновой пленки толщиной 10–15 нм. Изучали по 5–10 гранул сорбента. Исследования проводили при напряжении 15–20 кВ для обеспечения контрастности электронных снимков. ЭДС микроанализ проводили на 4–6 участках поверхности гранул каждого из исследуемых сорбентов.

Антиоксидантные свойства сорбентов оценивали по степени разложения водного раствора пероксида водорода. Константы скорости реакции разложения пероксида водорода (*k*) без сорбента и в присутствии исследуемых сорбентов рассчитывали по результатам газометрического метода. Использовали 3% раствор пероксида водорода объемом 30 см³, масса образца составляла 0.5000 ± 0.0002 г, продолжительность эксперимента – 1 ч [13].

Активность ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы) гемолизата эритроцитов после контакта с исследуемыми сорбентами при соотношении сорбент/гемолизат = 1/9 в течение 1 ч определяли по стандартным методикам [14].

Для оценки биоспецифических свойств применяли метод секторных посевов (метод Голда). Количественный учет роста микроорганизмов определяли путем высева из пробирки со смесью “образец–микроорганизм” при соотношении 1 : 1 через определенные промежутки времени термостатирования (0–48 ч) на чашки Петри с простым питательным агаром.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены термограммы модифицированных углеродных сорбентов, полученные в области температур до 700°C.

В температурном интервале 20–650°C для обоих модифицированных образцов на кривых ДТА

Таблица 1. Текстурные характеристики углеродных сорбентов и содержание модификаторов по данным термического анализа

Образец	Удельная поверхность ($S_{БЭТ}$), м ² /г	Суммарный объем пор (V_{Σ}), см ³ /г	Общее содержание модификатора, мас. %
УС	345	0.366	—
УС-МК-ЛИЗ	28	0.076	10.7
УС-ПВП-Б	48	0.128	9.3

наблюдаются выраженные экзотермические пики. Наиболее значимые потери массы происходят в области 200–400°С и составляют 9–11 мас. %. Экзоэффекты в области 200–400°С очевидно связаны с разложением нанесенных модификаторов. Полученные ранее термограммы исходного углеродного сорбента показывают, что он начинает медленно окисляться с потерей массы лишь при температурах выше 650°С [15].

Для образца УС-МК-ЛИЗ в области температур 230–400°С наблюдается один пик потери массы с экзоэффектом на кривой ДТА при 350°С. В образце УС-ПВП-Б наблюдается несколько пиков потери массы. Общая потеря массы для модифицированных образцов УС-МК-ЛИЗ и УС-ПВП-Б составляет 23.5 и 36.3 мас. % соответственно.

В результате модифицирования наблюдается снижение удельной площади поверхности и суммарного объема пор сорбентов (табл. 1). Важно отметить, что мезопористый характер структуры модифицированных сорбентов сохраняется. Распределение мезопор по размерам не меняется и средний диаметр пор составляет 10–11 нм. При этом общий объем пор углеродного сорбента, модифицированного композицией N-винилпирролидон–бетулин остается выше, чем углеродного сорбента, модифицированного композицией молочная кислота–лизозим при практически одинаковом содержании модификаторов. По-видимому, на значения удельной поверхности и пористости модифицированных сорбентов, прежде всего, влияет разное распределение модификаторов по внешней поверхности и в порах образцов.

Электронно-микроскопические изображения поверхности гранул исходного и модифицированных углеродных сорбентов представлены на рис. 2 и 3.

Гранулы исходного углеродного сорбента характеризуются гладким рельефом поверхности и округлой формой (рис. 2а). Видно, что в процессе модифицирования размер и форма гранул сорбента сохраняются. Однако при этом наблюдаются изменения рельефа и морфологии поверхности модифицированных образцов. На поверхности образца УС-МК-ЛИЗ (рис. 2б) видны частицы моди-

фикатора неправильной формы с размерами от 10 мкм и более, распределенные локально в виде “островков”.

На поверхности образца УС-ПВП-Б модификатор распределен в виде полимерной пленки (рис. 3).

Из данных табл. 2 видно, что имеет место заметное различие содержания углерода и кислорода на поверхности углеродного сорбента до и после модифицирования. Этот результат характерен для всех исследованных участков поверхности модифицированных образцов (рис. 4). На поверхности модифицированных образцов содержание кислорода существенно выше, чем в исходном (0.05 мас. % О) и может достигать на отдельных участках поверхности образца УС-МК-ЛИЗ величины 14.31 мас. %, в то время как для образца УС-ПВП-Б лишь величины 2.15 мас. % кислорода. В образце УС-МК-ЛИЗ отличия в содержании кислорода на различных участках поверхности гранул варьируются примерно в 5 раз (табл. 2, рис. 4). Это указывает на неоднородное распределение композиции модификаторов на поверхности гранул сорбента УС-МК-ЛИЗ. Практически одинаковые значения содержания кислорода 2.0–2.2 мас. % на различных участках поверхности гранул сорбента УС-ПВП-Б свидетельствует о равномерном распределении композиции модификаторов поли-N-винилпирролидон–бетулин на его поверхности.

Газометрическим методом определены константы скорости реакции разложения пероксида

Таблица 2. Данные рентгеновского микроанализа поверхности углеродных сорбентов

Образец	Содержание элемента, мас. %	
	углерод	кислород
УС	99.95 (спектр 5)	0.05 (спектр 5)
УС-МК-ЛИЗ	85.69 (спектр 3)	14.31 (спектр 3)
	97.24 (спектр 4)	2.76 (спектр 4)
УС-ПВП-Б	97.96 (спектр 1)	2.04 (спектр 1)
	97.85 (спектр 2)	2.15 (спектр 2)

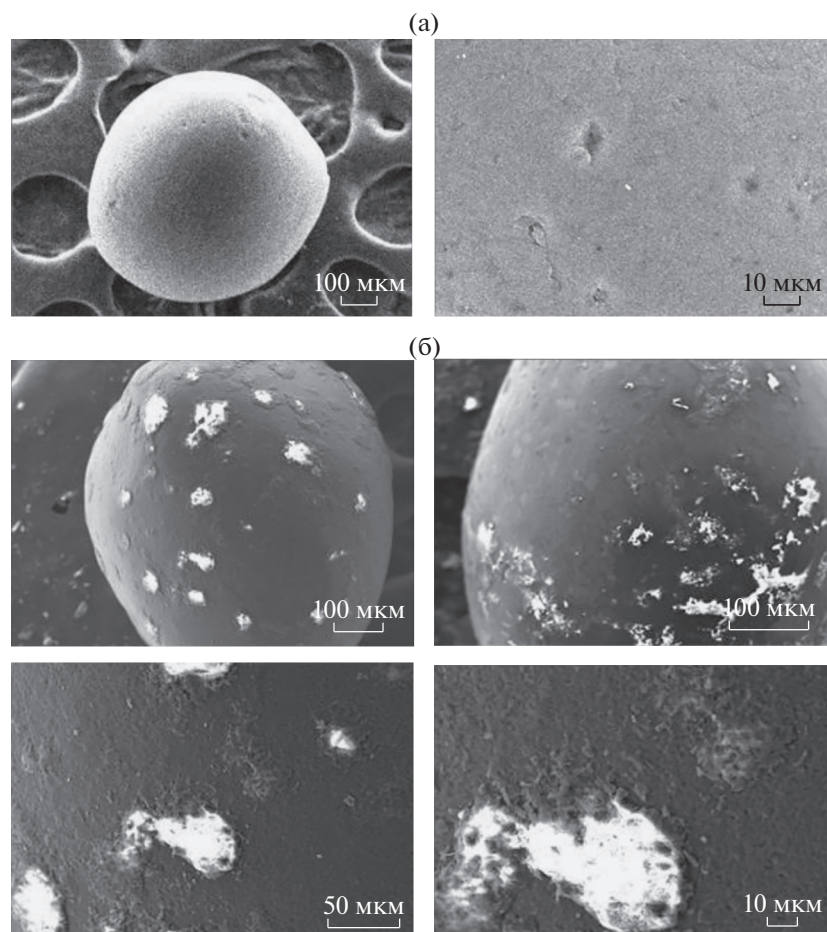


Рис. 2. Электронно-микроскопические снимки гранул образцов УС (а) и УС-МК-ЛИЗ (б).

водорода в присутствии углеродных сорбентов (табл. 3).

Полученные данные показывают, что углеродные сорбенты, как исходный, так и модифицированные, на порядок ускоряют разложение пероксида водорода по сравнению с системой без сорбента. Это может свидетельствовать о наличии антиоксидантных свойств у исходного и модифицированного углеродных сорбентов.

Таблица 3. Константы скорости реакции разложения пероксида водорода и объем выделившегося кислорода

Исследуемая система	Константа скорости k , мин^{-1}	Объем кислорода, см^3
3% H_2O_2	6.5×10^{-5}	0.45
3% H_2O_2 + УС	2.5×10^{-4}	2.05
3% H_2O_2 + УС-МК-ЛИЗ	1.8×10^{-4}	2.75
3% H_2O_2 + УС-ПВП-Б	1.0×10^{-4}	2.95

Результаты исследования активности ферментов антиоксидантной системы супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР) гемолизата эритроцитов после контакта с исследуемыми углеродными сорбентами в сравнении с контролем К (без контакта с сорбентами) представлены в табл. 4.

Все исследованные углеродные сорбенты повышают активность ферментов антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР) в различной степени. Углеродный сорбент УС увеличивает активность супероксиддисмутазы в 1.1 раза, каталазы в 1.1 раза и глутатионпероксидазы в 1.1 раза по сравнению с контролем К. Углеродный сорбент, модифицированный композицией олигомеры молочной кислоты – лизоцим УС-МК-ЛИЗ увеличивает активность супероксиддисмутазы в 1.1 раза по сравнению с контролем К. Углеродный сорбент, модифицированный композицией поли-N-винилпирролидон – бетулин УС-ПВП-Б увеличивает активность су-

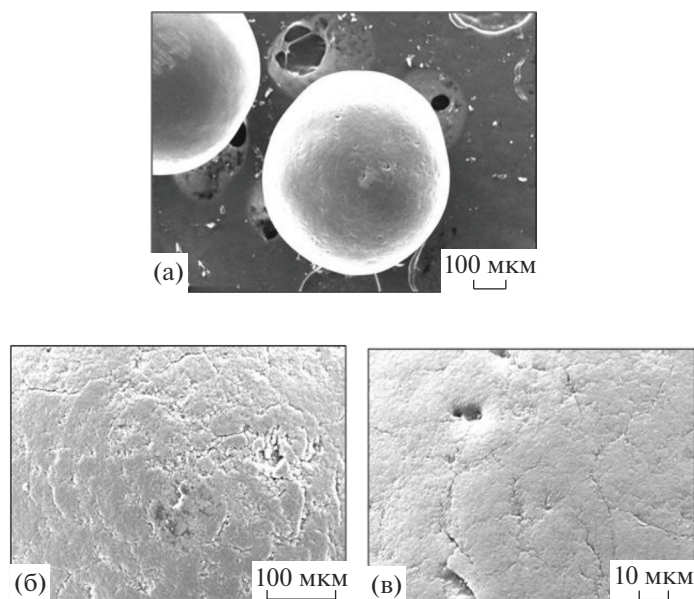


Рис. 3. Электронно-микроскопические снимки гранул модифицированного углеродного сорбента УС-ПВП-Б.

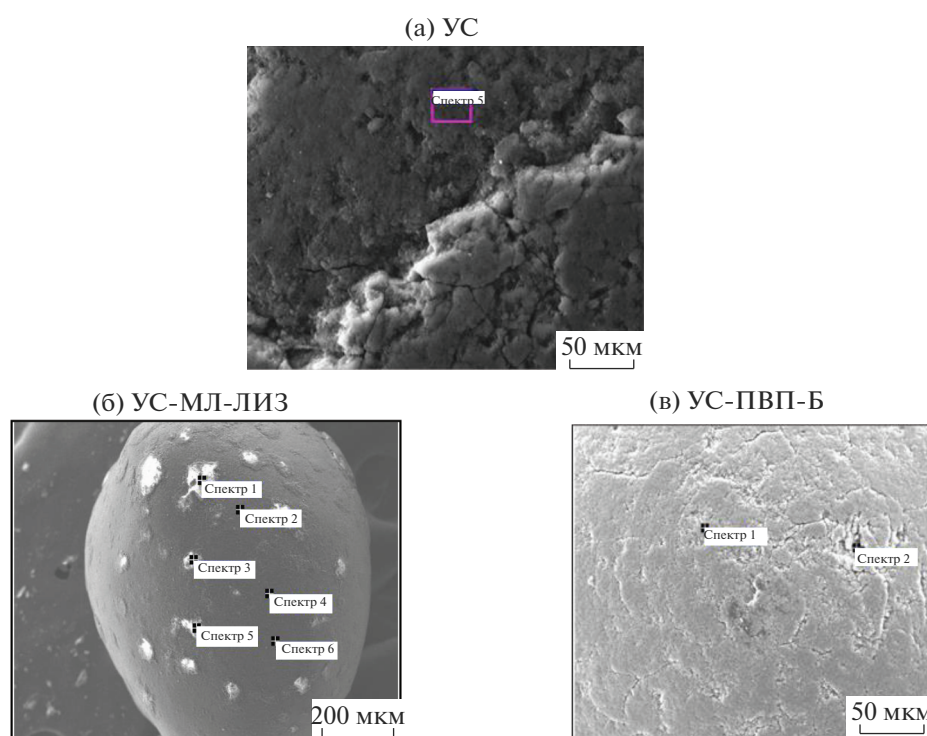


Рис. 4. ЭМ-изображения поверхности образцов углеродных сорбентов с указанием участков, для которых выполнен локальный элементный анализ.

пероксиддисмутазы в 1.2 раза и глутатионредуктазы в 1.6 раза по сравнению с контролем К.

Исходный углеродный сорбент способствует снижению роста микроорганизмов только через 24 ч после контакта. Для углеродного сорбента, модифицированного композицией олигомеры

молочной кислоты – лизоцим УС-МК-ЛИЗ, наблюдается полное отсутствие роста микроорганизмов уже через 3 ч после контакта и сохраняется в дальнейшем. Углеродный сорбент, модифицированный композицией поли-N-винилпирролидон–бетулин УС-ПВП-Б, способствует прекращению

Таблица 4. Активность антиоксидантных ферментов гемолизата эритроцитов после контакта с углеродными сорбентами, Me (LQ – HQ)

Образец	СОД, ед.	КАТ, мкат.	ГПО, мкмоль/мин	ГР, мкмоль/мин
К	0.85 (0.71–1.00)	13.2 (10.3–14.6)	92.3 (65.7–90.0)	6.1 (5.2–6.7)
УС	0.93 (0.83–1.07)	15.1 (14.0–16.5)	104.8 (89.3–108.7)	5.5 (5.1–6.3)
УС-МЛ-ЛИЗ	0.92 (0.84–0.97)	12.0 (11.0–12.6)	76.2 (60.5–87.3)	6.2 (5.9–7.1)
УС-ПВП-Б	0.99 (0.93–1.07)	12.1 (11.7–13.1)	90.7 (79.9–119.9)	9.8 (9.3–10.9)

Таблица 5. Результаты медико-биологической оценки биоспецифических свойств углеродных сорбентов

Тест-культуры/Время контакта, ч	0	3	6	24	48
УС					
<i>Staphylococcus aureus</i>	Рост 10 ⁶	Рост 10 ⁵	Рост 10 ²	Роста нет	Роста нет
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Рост 10 ⁶	Рост 10 ³	Рост 10 ²	Роста нет	Роста нет
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Рост 10 ⁶	Рост 10 ⁴	Рост 10 ⁴	Роста нет	Роста нет
<i>Escherichia coli</i>	Рост 10 ⁶	Рост 10 ³	Рост 10 ³	Роста нет	Роста нет
Смесь <i>Candida albicans</i> / <i>Escherichia coli</i>	Рост 10 ⁶	Рост 10 ² /Рост 10 ²	Рост 10 ² /Рост 10 ²	Роста нет/Роста нет	Роста нет/Роста нет
УС-МК-ЛИЗ					
<i>Staphylococcus aureus</i>	Рост 10 ⁶	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Рост 10 ⁶	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Рост 10 ⁶	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет
<i>Escherichia coli</i>	Рост 10 ⁶	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет
Смесь <i>Candida albicans</i> / <i>Escherichia coli</i>	Рост 10 ⁶	Роста нет/Роста нет	Роста нет/Роста нет	Роста нет/Роста нет	Роста нет/Роста нет
УС-ПВП-Б					
<i>Staphylococcus aureus</i>	Рост 10 ⁶	Рост 10 ⁵	Рост 10 ³	Роста нет	Роста нет
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Рост 10 ⁶	Рост 10 ⁴	Рост 10 ³	Роста нет	Роста нет
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Рост 10 ⁶	Рост 10 ⁵	Рост 10 ³	Роста нет	Роста нет
<i>Escherichia coli</i>	Рост 10 ⁶	Рост 10 ⁵	Рост 10 ⁵	Рост 10 ²	Роста нет
Смесь <i>Candida albicans</i> / <i>Escherichia coli</i>	Рост 10 ⁶	Рост 10 ⁵ /Рост 10 ⁵	Рост 10 ⁴ /Рост 10 ⁵	Рост 10 ² /Рост 10 ²	Роста нет/Роста нет

роста микроорганизмов и их смеси по истечению 24 ч.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены углеродные сорбенты, модифицированные композициями биологически активных веществ: олигомерами молочной кислоты с иммобилизованным лизоцимом (УС-МК-ЛИЗ) и поли-N-винилпирролидоном совместно с бетулином (УС-ПВП-Б). Установлено, что в процессе модифицирования углеродного сорбента снижается удельная площадь поверхности и суммарный объем пор: в 12.3 и 4.8 раза для образца УС-МК-

ЛИЗ, в 7.2 и 2.9 раза для образца УС-ПВП-Б, но средний диаметр мезопор в обоих сорбентах одинаков и составляет 10–11 нм. Методом термического анализа определено количество нанесенных модификаторов, которое составляет 10.7 мас. % для образца УС-МК-ЛИЗ и 9.3 мас. % для образца УС-ПВП-Б. Исследование поверхности методом сканирующей электронной микроскопии показало, что для углеродного сорбента, модифицированного олигомерами молочной кислоты с иммобилизованным лизоцимом наблюдается локальное, в виде “островков”, распределение композиции модификатора на поверхности. Для сорбента, модифицированного поли-N-винилпирролидоном сов-

местно с бетулином композиция модификатора распределена в виде равномерной полимерной пленки. Методом рентгеновского локального анализа установлено различие в элементном составе поверхности исходного и модифицированных образцов углеродного сорбента. Наблюдается увеличение содержания кислорода на поверхности сорбентов по сравнению с исходным образцом до 14.31% (УС-МК-ЛИЗ) и до 2.15% (УС-ПВП-Б). Установлена антиоксидантная способность исследуемых углеродных сорбентов в отношении модельной системы (пероксид водорода). Показана способность исследуемых углеродных сорбентов увеличивать активность ферментов антиоксидантной системы в различной степени. Проведена микробиологическая оценка биоспецифических свойств сорбентов. Исследуемые образцы проявляют свою активность в отношении микроорганизмов и их смеси в различной степени. Полученные модифицированные образцы представляют интерес для применения в медицине и ветеринарии в качестве материалов комплексного действия (антибактериального, антиоксидантного и т.д.).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность к. м. н., доценту Е.С. Ефременко (ОмГМУ) за участие в изучении антиоксидантных свойств сорбентов, д. м. н., профессору Е.В. Наумкиной (ОмГМУ) за организацию изучения биоспецифических свойств и Н.В. Антоничевой (ЦНХТ ИК СО РАН) за проведение термического анализа.

Исследования проведены с использованием оборудования ЦКП “Национальный центр исследования катализаторов” Института катализа СО РАН.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках

государственного задания Института катализа СО РАН (проект АААА-А21-121011890076-8).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gupta T.K., Budarapu P.R., Chappidi S.R. et al. // Current Medicinal Chemistry. 2019. V. 26(38). P. 6851–6877.
2. Nezakati T., Cousins B.G., Seifalian A.M. // Archives of Toxicology. 2014. V. 88. P. 1987–2012.
3. Saliev T. // J. Carbon Research. 2019. V. 5. P. 29–51.
4. Тухомирова А.Д. // Известия СПбГТИ. 2016. № 33. С. 77–80.
5. Gao X., Wang S., Xu Y. et al. // Plos one. 2018. V. 5. P. 1–14.
6. Wang W., Cao N., Dong J. et al. // The Royal Society of Chemistry Advances. 2019. V. 9. P. 23362–23373.
7. Petuhov O., Lupascu T., Behunová D. et al. // J. Carbon Research. 2019. V. 5. P. 31–44.
8. Gonçalves C., Gonçalves I.C., Magalhães F.D. et al. // Polymers. 2017. V. 9. P. 269–306.
9. Куринова М.А. // Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы (Smartex). 2017. № 1. С. 201–206.
10. Kang Y.-Q., Zhao C., Chen A.-Z. et al. // Materials. 2013. V. 6. P. 3571–3583.
11. Дроздов В.А., Пьянова Л.Г., Лавренов А.В. и др. // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2019. Т. 55. № 6. С. 573–581.
12. Пьянова Л.Г., Лихолобов В.А., Седанова А.В. и др. // Российский химический журн. 2018. Т. LXII. № 1–2. С. 169–178.
13. Пьянова Л.Г., Дроздов В.А., Седанова А.В. и др. // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2018. Т. 54. № 6. С. 544–548.
14. Долгих В.Т., Пьянова Л. Г., Ефременко Е.С. и др. // Вестник СурГУ. Медицина. 2019. № 2(40). С. 95–99.
15. Пьянова Л.Г., Лихолобов В.А., Дроздов В.А. и др. // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2016. Т. 52. № 3. С. 278–284.