

УДК [615.46.014.47:615.28]:546.26

Синтез углеродных сорбентов с антибактериальными свойствами

Л. Г. ПЬЯНОВА, О. Н. БАКЛАНОВА, В. А. ЛИХОЛОБОВ, В. А. ДРОЗДОВ, А. В. СЕДАНОВА

*Институт проблем переработки углеводов Сибирского отделения РАН,
ул. Нефтезаводская, 54, Омск 644040 (Россия)**E-mail: medugli@ihcr.ru*

(Поступила 15.10.13; после доработки 31.01.14)

Аннотация

Описан метод синтеза аппликационного материала медицинского назначения на основе углеродного гемосорбента. Химическое модифицирование углеродного материала проводили пропиткой динитрилом азобисизомаасляной кислоты (ДИНИЗ) в мономере N-винилпирролидоне (ВП) и последующей полимеризацией. Подробно описан выбор оптимальных параметров модифицирования, при которых удастся нанести до 8–15 мас. % поли-N-винилпирролидона (ПВП) на углеродный сорбент. В качестве основного анализа использован термический метод, обеспечивающий контроль процесса полимеризации ВП на углеродном материале. Предложенный способ синтеза ПВП на поверхности углеродного сорбента сопоставлен с альтернативными способами получения ПВП на поверхности носителей различной природы. Приведен анализ физико-химических свойств исследуемых сорбентов. Представленные результаты микробиологических исследований показали возможность применения углеродных сорбентов в вульнеросорбции.

Ключевые слова: углеродный сорбент, полимеризация N-винилпирролидона, поли-N-винилпирролидон, термогравиметрия, антибактериальные свойства

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в России растет число инфекционных заболеваний, связанных с раневыми инфекциями. Как правило, речь идет о внутрибольничных (нозокомиальных) инфекциях. Ежегодно от инфекций такого рода (гнойно-септические инфекции после хирургического вмешательства, инфекции у новорожденных, рожениц и др.) в России страдает около 2–2.5 млн человек [1–5].

Примерно 90 % всех внутрибольничных раневых инфекций имеет бактериальное происхождение. Вирусные, грибковые возбудители и простейшие встречаются значительно реже. Основные возбудители раневой инфекции (67 %) – грамположительные бактерии, в том числе стафилококки и стрептококки.

Основной метод лечения инфекционных заболеваний – антибактериальная терапия [1–7]. Однако применяемый традиционный подход имеет ряд серьезных недостатков:

- 1) антибактериальные препараты оказывают действие только по истечении 3–4 ч;
- 2) организмом усваивается примерно 50 % препарата;
- 3) широкое использование антибактериальной терапии, в том числе антибиотиков, приводит к появлению и распространению устойчивых к антибиотикам штаммов микроорганизмов;
- 4) длительный и дорогостоящий курс лечения;
- 5) антибиотики негативно влияют на микробиоценоз, вызывая дисбактериозы, нарушают процессы всасывания и усваивания различных питательных веществ, снижают иммунитет;
- 6) большая часть антибактериальных препаратов обладает побочными и другими нежелательными действиями на организм.

В связи с этим для профилактики и лечения смешанных инфекций и сложных инфекционных заболеваний бактериальной природы необходимы новые подходы и новые препараты с иным, нежели у антибиотиков, механизмом действия. Они должны обладать

высокой антибактериальной активностью и оказывать общеоздоравливающее действие на организм в целом.

В настоящее время среди методов сорбционной терапии наиболее активно развивается метод вульнеросорбции (аппликационная сорбция) [8–11]. Он заключается в выведении токсичных компонентов (остатки тканевой деградации микробных клеток, бактериальные токсины и др.) через раневую поверхность или очаг воспаления. При наложении сорбента происходит очистка раневого содержимого или гнойной полости, ускоряется транспорт некоторых веществ из крови с их последующей сорбцией. Сорбция раневого содержимого способствует нормализации биологических реакций всего организма, позволяет в короткие сроки уменьшить травматический или воспалительный отек мягких тканей, улучшить их микроциркуляцию, а также снизить количество микроорганизмов в среднем в 100–1000 раз по сравнению с традиционными перевязочными материалами.

Аппликационная сорбция положительно влияет на исходы лечения травматических, гнойных, ожоговых ран, трофических язв и т. п. Широко используется внутривидовая сорбция при гнойных процессах: перитоните, абсцессах легких, печени и др.

Таким образом, разработка углеродных сорбентов с антибактериальными свойствами для лечения инфекционных заболеваний имеет актуальное значение.

Сорбенты для аппликационной медицины

При разработке аппликационных материалов, непосредственно контактирующих с биологической жидкостью организма, предъявляются особые требования к их качеству: высокая степень химической чистоты, минимальное содержание примесей, низкая токсичность, высокая механическая прочность и гладкий рельеф поверхности гранул, отсутствие пылеобразования (выделения ультрадисперсных частиц), высокая сорбционная емкость по отношению к удаляемым веществам, совместимость с кровью и инертность по отношению к форменным элементам крови.

Пористость углеродных сорбентов определяет направления их использования в сорбционной медицине. Так, с помощью микропористых углеродных сорбентов эффективно удалять из биологических жидкостей продукты с небольшой молекулярной массой, например креатинин, алифатические оксикислоты, аминокислоты, мочевую кислоту и др.

Развитая мезопористая структура сорбентов удовлетворяет большинству задач сорбционной терапии. При удалении токсичных веществ углеродным сорбентом с гидрофобной поверхностью основным механизмом сорбции выступает физическая адсорбция, обусловленная действием дисперсионных сил. При этом эффективность адсорбции определяется соразмерностью молекул адсорбируемых веществ и пор (мезопоры) сорбента.

В Институте проблем переработки углеводородов (ИППУ) СО РАН разработаны технологические подходы к целенаправленному синтезу нового класса пористых углерод-углеродных материалов на основе глобулярного нанодисперсного углерода и сорбентов медицинского назначения на их основе: гемосорбента углеродного в физиологическом растворе стерильного ВНИИТУ-1 и энтеросорбента углеродного ВНИИТУ-2 [12].

В ходе исследований механизма и кинетики процессов термического разложения углеводородов на поверхности частиц дисперсного углерода с образованием пироуглерода, проведенных в ИППУ СО РАН, создана концепция матричного синтеза пористых углеродных материалов. Исходным сырьем служат природный газ и газы переработки нефти, а также нефтяные и каменноугольные смолы. Синтез основан на двухстадийном переходе углерода в нанодисперсные углеродные частицы и пироуглерод [12].

Развивающееся новое направление синтеза углеродных сорбентов позволяет создать медицинские сорбенты, которые соответствуют высоким требованиям медицины.

Технологический процесс получения медицинского сорбента из матрицы – углеродного пористого материала с определенной пористостью – включает операции, направленные на придание ему совместимости с кровью, стерильности и апиrogenности. Основная из

них – пневмогидромеханическая обработка пористого углеродного материала в режиме псевдооживленного слоя, благодаря которой с поверхности и из пор сорбента можно удалить пылевидные углеродные частицы, довести рН сорбента до физиологических норм, повысить общую прочность гранул за счет разрушения “слабых” гранул и нивелировать возможные неровности поверхности (“шлифовка” гранул) [12].

Гемосорбент углеродный по ряду свойств выгодно отличается от многих известных сорбентов. Для него характерны следующие показатели:

- высокая степень химической чистоты;
- мезопористая структура;
- минимальное содержание примесей;
- механическая прочность и гладкий рельеф поверхности гранул;
- отсутствие пылеобразования (выделение ультрадисперсных частиц);
- высокая адсорбирующая способность по отношению к токсинам с низкой и средней молекулярной массой, попавшим в организм из внешней среды или образуемым в процессе жизнедеятельности;
- низкая токсичность;
- кровосовместимость и инертность по отношению к форменным элементам крови (табл. 1).

Данный гемосорбент представляется перспективным материалом в качестве основы при разработке сорбентов для вульнеросорбции.

В настоящее время в России и за рубежом известно несколько разработок на основе сорбентов различной природы, используемых для целей аппликационной медицины. Среди них особый интерес вызывают разработки на основе углеродных сорбентов, поскольку для них характерна высокая сорбционная способность в отношении бактерий и бактериальных токсинов. Так, сорбционная способность активированного угля по отношению к стафилококковому токсину была установлена в ряде работ [13–16].

Полимеры медико-биологического назначения с антибактериальными свойствами

Для повышения эффективности антибактериальных свойств углеродных сорбентов необходимо использовать модификатор – препарат, проявляющий активность в отношении патогенной микрофлоры широкого спектра и не оказывающий отрицательного воздействия на организм. К таким веществам относятся полимеры медико-биологического назначения, обладающие собственными антибактериальными свойствами.

ТАБЛИЦА 1

Физико-химические и медико-биологические характеристики гемосорбента углеродного в физиологическом растворе стерильного ВНИИТУ-1

Показатели	Значения
Массовая доля золы, %, не более	0.15
Массовая доля общей серы, %, не более	0.30
Удельная поверхность по адсорбции азота, м ² /г	300–400
Удельная поверхность по адсорбции ЦТАБ, м ² /г	65–125
Йодное число, мг/г	175–245
Количество гранул диаметром 0.5–1.0 мм, %, не менее	90
Количество гранул диаметром менее 0.5 мм, %, не более	10
Прочность гранул при истирании, %/мин, не более	0.30
Концентрация раствора NaCl, равновесного с гемосорбентом, моль/дм ³	0.14–0.15
рН раствора NaCl, равновесного с гемосорбентом	6.0–7.8
Воздействие на форменные элементы крови при подаче крови 80–120 мм/мин на 350 см ³ сорбента:	
снижение числа лейкоцитов, %, не более	10
снижение числа тромбоцитов, %, не более	15
прирост свободного гемоглобина, %, не более	6

Выбор модификатора при разработке аппликационного материала для вульнеросорбции, в первую очередь, определяется его соответствием основным медицинским требованиям: низкая токсичность и наличие реакционноспособных биологически активных групп.

Известно, что полимеры на основе N-винилпирролидона (ВП) находят широкое применение в медицине и биологии как гидрофильные нетоксичные материалы. Их разрешено применять в контакте с биологическими средами живого организма и для выполнения разнообразных функций в составе материалов медицинского назначения [17, 18]. Полимеры на основе ВП используют для модификации анионных поверхностно-активных веществ, обладающих высокой бактерицидной активностью [17–21]. Ряд сополимеров ВП с ионогенными сомономерами обладает собственной антимикробной активностью, иммуностимулирующим и иммуномодулирующим действием. Для выведения токсичных веществ из организма обычно привлекают поли-N-винилпирролидон (ПВП) с молекулярной массой 10 000–15 000 г/моль.

Известно о применении ПВП в составе мазей для лечения инфицированных ран с содержанием его до 5,5 %. Согласно данным [21], он начинает проявлять антибактериальные свойства при концентрации в растворе порядка 1,0 %.

Нанесение ПВП на поверхность углеродного сорбента позволит повысить его детоксикационные свойства за счет миграции макромолекул ПВП в биологическую жидкость. Дополнительный положительный эффект – повышение смачиваемости углеродного материала вследствие лиофилизации его поверхности и понижения поверхностной энергии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве образца выбран сорбент, полученный при гидромеханической обработке пористого углеродного материала [12]. Образец углеродного сорбента представлял собой мезопористый сорбент с размером гранул, мм: ≥ 1.25 (2 %), 1,00 (54 %), 0,63 (43 %), ≤ 0.50 (1 %). Удельная площадь поверхности сорбента по БЭТ ($S_{\text{БЭТ}}$) составляла 394 м²/г; удельный

объем пор, см³/г: общий 0,630, микропор 0,013, мезопор 0,604, макропор 0,013.

Для модифицирования поверхности углеродного сорбента использовались: модификатор N-винилпирролидон C₆H₉NO (Merck, Германия), инициатор радикальной полимеризации динитрил азобисизомасляной кислоты C₈H₁₂N₄ (ДИНИЗ) (Merck, Германия).

Термический анализ исследуемых образцов (ТГ, ДТГ, ДТА) проводили на приборе DTG-60H Shimadzu. Точность определения температуры составляла 1 °С, изменения массы – 0,1 %. Съёмки проводились в атмосфере воздуха в интервале температур от комнатной до 1000 °С; навеска образца составляла 10 мг, скорость подъема температуры – 10 °С/мин.

Морфологию и рельеф поверхности исследуемых образцов углеродного сорбента изучали методом растровой электронной микроскопии с использованием электронного микроскопа JSM-6460LV Jeol. Методика пробоподготовки сорбентов заключалась в вакуумном напылении на образец золотой пленки толщиной 10–15 нм. Исследовали по 6–10 гранул образцов сорбента. Для получения контрастных электронных микроизображений поверхности исследования проводили при следующих условиях: напряжение 20 кВ, сила тока 10–30 мА.

Текстурные характеристики углеродных сорбентов изучали методом низкотемпературной адсорбции азота. Изотермы адсорбции-десорбции азота ($T_{\text{адс}} = 77,4$ К) получали на приборе Gemini-2380 Micromeritics. Величину $S_{\text{ВЭТ}}$ определяли по изотермам адсорбции в области относительных равновесных давлений паров азота $P/P_0 = 0,05–0,3$. Дополнительно определяли удельный объем пор исследуемых образцов. Перед проведением адсорбционных измерений образцы тренировали в вакууме при температуре 300 °С (исходный образец) и 60 °С (модифицированные образцы) в течение 6–8 ч.

Элементный анализ проводили на CHNOS-элементном анализаторе Vario EL Cube Elementar. При проведении элементного анализа образцы автоматически подавали в зону сжигания с помощью автосамплера, оборудованного шариковым краном. Содержание элементов определяли с использованием детектора по теплопроводности (катарометр).

Параметры проведения анализа С, Н, N, S: температура окислительной трубки 1150 °С,

температура восстановительной трубки 850 °С, температура серной адсорбционной колонки во время адсорбции 120 °С, расход гелия 230 мл/мин, расход кислорода 35–38 мл/мин. Каталитическое окисление пробы осуществляли при температуре 1150 °С в кварцевом реакторе, заполненном катализатором. Расчет концентрации элементов проводили по калибровочным кривым, построенным по стандартному веществу – сульфаниламиду (Art-№: 15.00-0062).

Определение кислорода осуществлялось посредством пиролиза образца в кварцевой трубке, заполненной сажей, при температуре 1170 °С. В ходе пиролиза кислород количественно переходит в монооксид углерода, далее происходит его десорбция и детектирование СО катарометром.

Параметры проведения анализа по определению кислорода: температура пиролизной трубки 1170 °С, температура СО адсорбционной колонки во время адсорбции 40 °С, температура СО адсорбционной колонки во время десорбции 260 °С, расход гелия 230 мл/мин. Расчет концентрации кислорода проводили по калибровочной кривой, построенной по стандартному веществу – бензойной кислоте (Cas-№: 65-85-0).

С помощью рентгеновского микроанализа установлен элементный состав на определенных участках гранул исследуемых образцов. Анализ выполняли с использованием электронного микроскопа JSM-6460LV Jeol. Исследовали по 6–10 гранул образцов сорбента.

Качественный состав функциональных групп полученных образцов определяли методом инфракрасной спектроскопии. ИК-спектры пропускания регистрировали на спектрометре Nicolet-5700 Thermo Fisher Scientific с разрешением 4 см⁻¹ и числом накопления спектров, равным 32. Методика исследований заключалась в приготовлении образца в виде очень тонкого однородного слоя, полученного методом седиментации мелких частиц в стеклянном цилиндре высотой 25 см на оптически ИК-прозрачную пластинку ВаF₂. Далее регистрировали ИК-спектры. Представленные спектры обрабатывали в программном пакете Origin для коррекции базовой линии и сглаживания фоновых флуктуаций.

Возможность удаления (десорбции, миграции) полимера с поверхности сорбента оце-

нивали по изменению удельной площади поверхности и содержания общего азота в образцах, выдержанных в физиологическом растворе (0.9 % раствор NaCl) в течение 1 сут. Содержание общего азота для образцов до и после модифицирования определяли химическим методом Кьельдаля [22].

Адсорбционные свойства исследуемых образцов углеродного сорбента и обратимость данного процесса (десорбцию) определяли в модельных условиях. В качестве веществ, моделирующих токсины микроорганизмов, выбрали краситель метиленовый голубой C₁₆H₁₈ClN₃S и витамин В12 C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄. Адсорбционную способность исходного и модифицированного образцов по отношению к метиленовому голубому и витамину В12 изучали в течение нескольких суток до установления равновесия в исследуемых системах.

Оценку микробиологической чистоты и антибактериальных свойств углеродных сорбентов по отношению к патогенной микрофлоре проводили в Центральной научно-исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии Министерства здравоохранения Российской Федерации (ЦНИЛ ОмГМА).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Размер полимерных глобул ПВП с молекулярной массой 8000–10 000 г/моль превышает размер пор углеродного сорбента, поэтому при модифицировании сложно ввести модификатор равномерно по всему объему пористого материала. В этом случае модифицирующий полимер распределяется преимущественно на внешней поверхности гранул в небольшом количестве. Как следствие, концентрация ПВП будет низкой, и препарат не сможет в полной мере оказывать эффективное действие на бактериальные клетки (патогенную микрофлору).

По этой причине в качестве модифицирующего агента выбран мономер ВП, размеры молекул которого позволяют заполнить поры сорбента (средний расчетный диаметр пор сорбента 6–9 нм, молекулы ВП ~0.4–0.8 нм). N-винилпирролидон – бесцветная жидкость со слабым характерным запахом, смешивается с водой и органическими растворителями.

На практике, как правило, полимеризацию ВП чаще всего проводят в среде мономера (в массе) или в присутствии растворителя мономера (в растворе). От выбранных параметров полимеризации (наличие растворителя, тип растворителя, тип инициатора, температуры процесса и др.) зависит молекулярная масса образующегося ПВП [23–28].

Одна из основных задач при разработке способа полимеризации ВП на углеродном сорбенте – выбор оптимальных параметров процесса модифицирования (температура, продолжительность процесса, тип и концентрация инициатора и др.), которые позволят получить на сорбенте ПВП линейного строения с молекулярной массой 8000–10 000 г/моль без примесей токсичного исходного мономера ВП и его низкомолекулярных производных.

Пропитку гранул углеродного гемосорбента проводили в круглодонной колбе 0.2–1.0 % раствором инициатора ДИНИЗ в ВП при рН 7.0–7.5, остаточное давление составляло 15–20 мм рт. ст., соотношение сорбент/раствор ВП = (1.0 : 1.4)–(1.0 : 2.0), продолжительность пропитки 40–60 мин (рис. 1).

Процесс полимеризации ВП в значительной мере определяется температурой и его продолжительностью [29, 30]. Температуру в реакционной среде изменяли до 65–70 °С, время выдерживания составляло 2–9 ч в инертной атмосфере. Модифицированный сорбент сушили при комнатной температуре в течение 18–24 ч.

Для выбора оптимальных условий модифицирования синтезирован ряд образцов при различных параметрах. В качестве основного метода для контроля процесса полимеризации ВП на углеродном сорбенте использовался термический анализ. Этот метод позволяет следить за ходом процесса полимеризации, установить температурный интервал, в котором он протекает, его эндо- или экзотермический характер. Кроме того, совместно с термическим анализом можно измерять и регистрировать потери массы образца, определять количество нанесенного модификатора.

Динамический термический анализ позволяет идентифицировать химические фазы и их смеси по наблюдаемым эффектам при изменении температуры. Процесс полимеризации изучали с привлечением термогравимет-

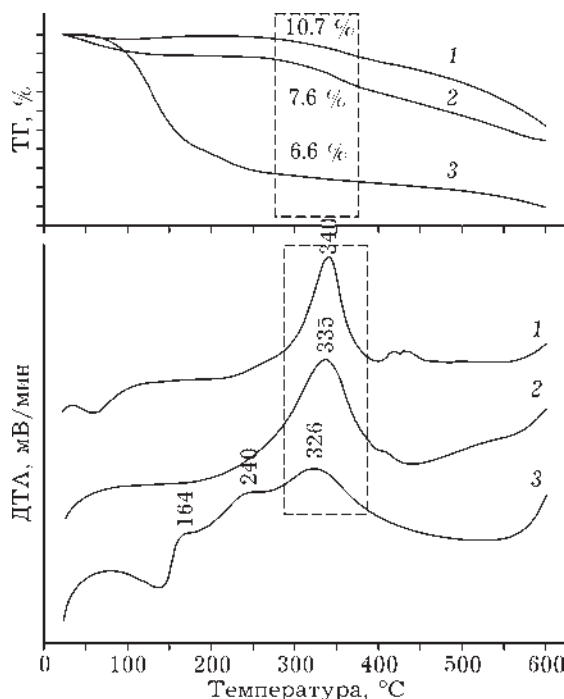


Рис. 1. Термограммы модифицированных углеродных сорбентов: 1 – сорбент с нанесенным коммерческим ПВП (30 % раствор); 2, 3 – сорбент с нанесенным ВП и последующей его полимеризацией при оптимальных и неоптимальных условиях соответственно.

рического (ТГ) и дифференциального термогравиметрического (ДТГ) анализа. В качестве температурной функции фиксировались либо изменение массы образца (ТГ), либо скорость этого изменения (ДТГ).

На рис. 1 показаны кривые ТГ для образцов, синтезированных при различных параметрах полимеризации ВП, в том числе и для образца углеродного сорбента, модифицированного раствором коммерческого ПВП с молекулярной массой 10 000 г/моль (Sigma-Aldrich).

Согласно литературным и экспериментальным данным, ПВП линейного строения с молекулярной массой 8000–10 000 г/моль разлагается в области температур 300–400 °С [23–28]. Анализ полученных термограмм синтезированных образцов позволил определить условия синтеза модифицированного углеродного сорбента: температура 68–70 °С, продолжительность процесса полимеризации ВП на углеродном сорбенте 9 ч.

На рис. 1 видно, что на кривой ДТА для образца, модифицированного в неоптимальных условиях (кривая 3), имеется низкотемпературный эндотермический пик в области

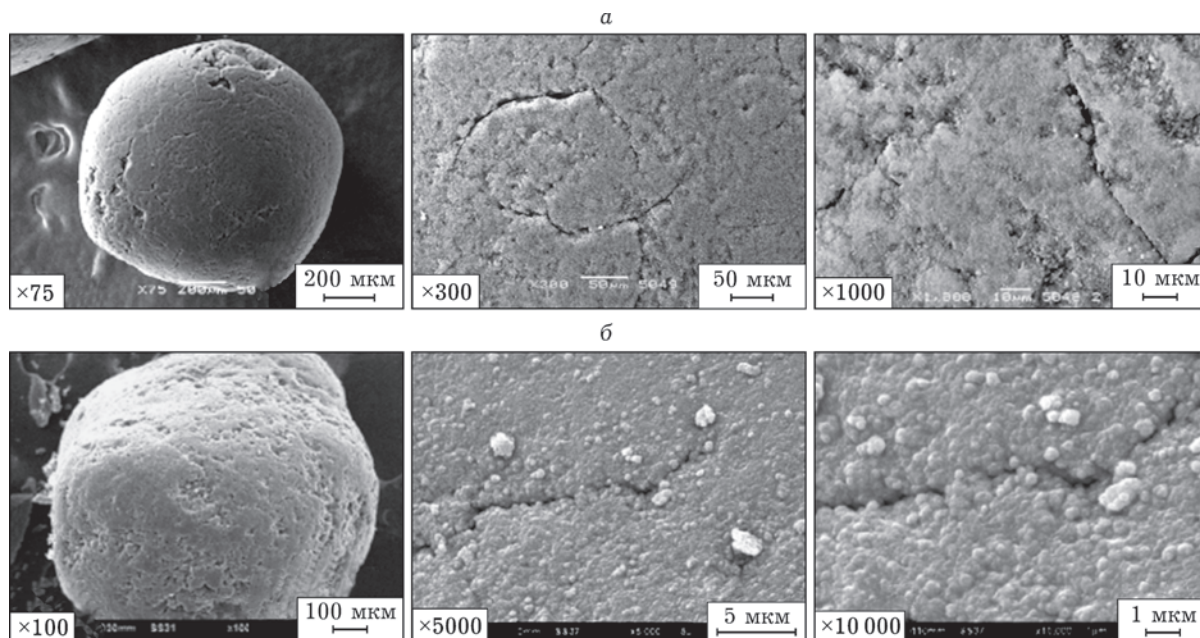


Рис. 2. Электронно-микроскопические снимки гранул и углеродной поверхности исходного (а) и модифицированного (б) сорбентов.

100–110 °С, связанный с потерей массы образца при удалении из его пор воды. Появление для него низкотемпературных пиков в области 164 и 240 °С можно объяснить разложением ВП и его соединений, образовавшихся в ходе полимеризации. При температуре 326 °С на кривой ДТА появляется экзотермический пик, который характеризует нанесенный модификатор. При этом потеря массы образца составляет 6.6 %.

На кривой ДТА для сорбента с нанесенным ВП с последующей его полимеризацией при оптимальных условиях имеется только один выраженный экзотермический пик при температуре 340 °С (см. рис. 1, кривая 2). Потеря массы образца равна 7.6 %. Эта кривая по виду сопоставима с кривой 1 (см. рис. 1), которая соответствует образцу с нанесенным коммерческим ПВП из 30 % раствора (потеря массы 10.7 %).

Из анализа термограмм следует, что синтезированный на углеродном сорбенте поли-

мер – это, по-видимому, ПВП (см. рис. 1, ТГ-кривая 2), а характер термограмм соответствует разложению полимера. Следовательно, условия синтеза данного модифицированного углеродного сорбента оптимальные.

На рис. 2 показаны изменения на поверхности образцов до и после модифицирования. Видно, что на всей поверхности углеродного сорбента образуется полимерная пленка в виде плотно прилегающих друг к другу полимерных частиц размером до 1 мкм.

Из данных табл. 2, где показано влияние модифицирования углеродного сорбента на его текстурные характеристики, следует, что при полимеризации ВП на поверхности углеродного сорбента поры закрываются практически полностью.

Методом рентгеновского микроанализа исследовано распределение элементов на поверхности образцов углеродного сорбента до и пос-

ТАБЛИЦА 2

Текстурные характеристики углеродных сорбентов

Образцы	$S_{БЭТ}$, м ² /г	Удельный объем пор, см ³ /г			
		общий	макро-	мезо-	микро-
Исходный	394	0.630	0.014	0.0603	0.013
Модифицированный	7.6	0.052	–	0.050	0.002

ТАБЛИЦА 3

Результаты элементного анализа исследуемых образцов

Элементы	Содержание элемента в образце, %	
	исходном	модифицированном
C	98.46±0.26	85.31±0.41
H	0.28±0.08	2.77±0.07
N	—	3.80±0.10
S	0.22±0.08	0.11±0.08
O	0.96±0.07	6.65±0.07
Σ	99.90±0.17	98.64±0.65

ле модифицирования. Установлено, что после модифицирования содержание углерода на поверхности уменьшается со 100 до 75 мас. % за счет присутствия здесь кислорода (15.6 мас. %) и азота (11.4 мас. %).

В табл. 3 представлены результаты элементного анализа образцов. Видно, что полимеризация ВП на углеродном сорбенте влияет на его элементный состав. После модифицирования в углеродном сорбенте уменьшается общее содержание углерода, но повышается содержание водорода и кислорода. Кроме того, в модифицированном образце появляется азот. Именно он служит индикатором того, что на поверхности углеродного сорбента присутствует модификатор.

Качественный состав функциональных групп полученных образцов определяли с помощью ИК-спектроскопии. На рис. 3, а представлены ИК-спектры модифицирующих веществ – ВП и ПВП.

Наличие модификатора на поверхности углеродного сорбента влияет на состав функциональных групп. В спектре модифицированного углеродного сорбента отсутствуют колебания карбонильных групп, характерные для исходного углеродного образца, но появляются характерные полосы поглощения полимера ПВП (см. рис. 3).

Основные отличия ИК-спектров исследуемых образцов – появление новых полос поглощения при 1660 и 1561 см^{-1} , соответствующих валентным колебаниям $\text{C}=\text{O}$ (амид I). Эти колебания могут также соответствовать составным частотам деформационных колебаний связи $\text{N}-\text{H}$ и валентных колебаний $\text{C}-\text{N}$ (амид II) амидной группы. Кроме того, отмечены полосы поглощения азотсодержащих групп при 1420 и 1460 см^{-1} , которые характерны для деформационных колебаний группы CH_2 , связанной с атомами азота и/или углерода.

Путем сопоставления ИК-спектров мономера ВП, раствора коммерческого ПВП и углеродного сорбента до и после модифицирования получены некоторые представления

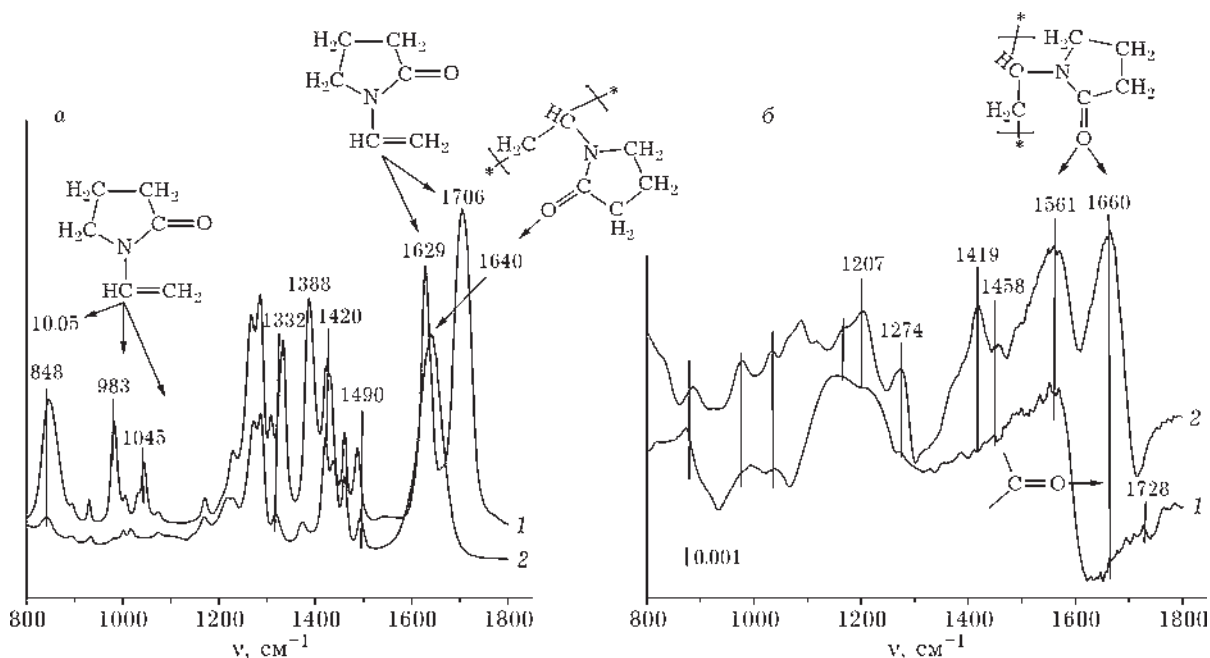


Рис. 3. ИК-спектры исследуемых образцов: а – ВП (1) и водного раствора ПВП (2); б – исходного (1) и модифицированного (2) сорбентов.

о процессе полимеризации ВП на поверхности углеродного сорбента. Показано, что этот метод позволяет контролировать процесс полимеризации ВП на углеродном сорбенте.

Изучение миграции полимера с поверхности модифицированного образца при контакте с водными растворами позволяет оценить “продолженное” действие получаемого препарата. Понятие “препарат продолженного действия” используется для характеристики таких препаратов, которые обеспечивают более длительный период терапевтического действия заключенного в них активного (лекарственного) вещества по сравнению с обычными препаратами с тем же веществом. Препарат продолженного действия должен высвобождать дозу активного (лекарственного) вещества непрерывно в течение определенного периода, обеспечивая тем самым постоянный оптимальный уровень этого вещества в организме. В данном случае нанесенный модификатор ПВП выступает в качестве биологически активного компонента.

Обнаружено, что в модельных условиях эксперимента основное количество модификатора мигрирует в раствор с поверхности сорбента в течение первого часа после контакта. При этом от полимерной пленки освобождается до 40 % (160 м²/г) углеродной поверхности, а содержание общего азота снижается в 2.8 раза (табл. 4). Таким образом, при переходе модификатора в раствор освобождается поверхность и уменьшается его содержание в сорбенте.

Как уже установлено, миграция модификатора в раствор сопровождается освобождением значительной части поверхности сорбента. Можно предположить, что модифицированный сорбент будет проявлять детоксикационные свойства, т. е. адсорбировать на доступной поверхности токсины, выделяемые микроорганизмами. Известно, что основное токсическое действие микроорганизмов обусловлено именно вырабатываемыми ими токсинами [1–6].

Оценку адсорбционных свойств исследуемых образцов углеродного сорбента и обратимость данного процесса (десорбцию) проводили в модельных условиях. В качестве веществ, моделирующих токсины микроорганизмов, выбраны краситель метиленовый голубой (молекулярная масса ММ = 319.85 г/моль, диаметр молекулы примерно 2.0 нм²)

ТАБЛИЦА 4

Десорбция полимера с поверхности модифицированного образца как препарата “продолженного” действия

Образцы	$S_{уд}$, м ² /г	$N_{общ}$, %
Исходный	394	Отс.
Модифицированный	8	5.2
То же после контакта с физраствором в течение, ч:		
1	88	2.5
3	125	2.0
6	148	1.5
24	161	0.9

и витамин В12 (ММ = 1355.38 г/моль, диаметр молекулы 6–8 нм²) (рис. 4).

Установлено, что адсорбционное равновесие на модифицированном сорбенте устанавливается значительно дольше, чем на исходном образце. Так, в системе “исходный сорбент – метиленовый голубой” равновесие наступает после 50 ч (~2 сут), а в системе “модифицированный сорбент – метиленовый голубой” – в 4 раза медленнее, спустя 200 ч (~8 сут). При адсорбции витамина В12 равновесие в системе “исходный сорбент – витамин” наступает после 120 ч (~5 сут), а в системе “модифицированный сорбент – витамин” – в 3 раза дольше, только после 400 ч (~17 сут).

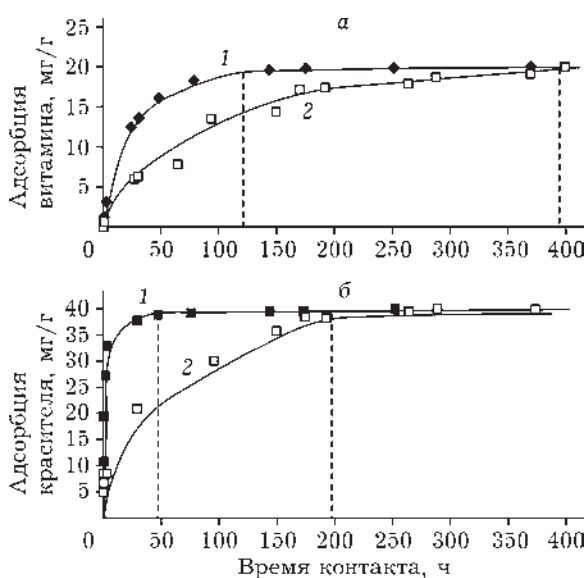


Рис. 4. Изотермы адсорбции витамина В12 (а) и красителя метиленового голубого (б) на исследуемых образцах углеродного сорбента.

Наблюдаемые различия можно объяснить текстурными характеристиками образцов: поверхность и объем пор исходного сорбента значительно больше по сравнению с модифицированным сорбентом (см. табл. 2).

Интересно, что при наступлении равновесия в изучаемых системах “сорбент – адсорбат” количество адсорбированных модельных веществ на исходном углеродном сорбенте практически совпадает с величиной адсорбции веществ на модифицированном образце. Так, адсорбция на исследуемых образцах в отношении метиленового голубого достигает (38 ± 2) мг/г, а витамина В12 – (19 ± 2) мг/г.

Адсорбция красителя и витамина на модифицированном образце с низкой удельной площадью поверхности, по-видимому, обусловлена тем, что одновременно протекают два процесса: миграция из пор модифицированного сорбента полимера ПВП, в результате которой увеличивается поверхность и объем пор сорбента, а также заполнение постепенно “освобождающихся” пор (“вакантных мест”) молекулами адсорбатов. Таким образом, в порах углеродного сорбента молекулы полимера постепенно замещаются молекулами красителя или витамина.

Установлено, что адсорбция метиленового голубого и витамина В12 обратима (десорбция протекает в растворе этилового спирта). Следовательно, поглощение адсорбатов на модифицированном углеродном сорбенте реализуется по механизму физической сорбции и обусловлено проявлением “ситового эффекта”.

Результаты исследований показали, что модифицированный углеродный сорбент способен проявлять бифункциональные свойства.

Согласно результатам проведенных микробиологических испытаний, исходный углеродный сорбент проявляет антибактериальные свойства в отношении грамположительных, грамотрицательных бактерий и смеси культур по истечении 24 ч. Модифицированный углеродный сорбент через 6 ч подавляет рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, а спустя 24 ч проявляет антибактериальное действие по отношению к смеси патогенных культур. Модифицированный сорбент оказывает эффективное антибактериальное действие в отношении бактериальных клеток грамотрицательных бактерий в ряду *Klebsiella*

pneumonia > *Pseudomonas aeruginosa* > *Escherichia coli*, а в отношении грамположительных микроорганизмов – *Streptococcus agalactiae* > *Staphylococcus aureus*.

Особенно примечательно действие модифицированного углеродного сорбента в отношении бактерий *Pseudomonas aeruginosae*, для подавления роста которых в настоящее время антибиотики малоэффективны.

Проявление антибактериальных свойств модифицированных сорбентов по отношению к грамположительным бактериям может быть обусловлено антибактериальными свойствами исходного сорбента. Известно, что растворы ПВП снижают токсичность кишечной палочки и протей, а также оказывают агглютинирующее действие на микробные клетки [18].

Антибактериальные свойства модифицированного сорбента по отношению к грамотрицательным бактериям можно объяснить проявлением антибактериальных свойств модификатора – поли-N-винилпирролидона, который обладает собственной антимикробной активностью. Антибактериальные свойства ПВП определяются его строением и наличием в структуре лактамного кольца: основное взаимодействие бактериальных клеток происходит с атомом азота пирролидоновых циклов ПВП. Благодаря наличию гидрофобной полимерной цепи и гидрофильных карбонильных групп в структуре ПВП возможно физическое связывание бактериальных клеток с полимерной матрицей (адгезия). Связывание, возможно, обусловлено также кулоновским взаимодействием отрицательно заряженной мембраны клетки и положительно заряженным протонированным атомом азота в макромолекуле полимера.

Таким образом, разработанный модифицированный углеродный сорбент представляет собой перспективный материал с антибактериальными свойствами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика синтеза модифицированных углеродных сорбентов. Выбранные оптимальные условия модифицирования углеродного материала ВП позволили получить на поверхности углеродного сорбента ПВП без

примесей токсичного мономера и его низкомолекулярных продуктов полимеризации.

Комплексом физико-химических методов исследована пористая структура, элементный состав и состав функциональных групп углеродных сорбентов. Установлена возможность миграции полимера с модифицированного углеродного сорбента с течением времени.

Изучены антибактериальные свойства сорбентов. Показано, что путем модифицирования углеродного материала ПВП можно получить модифицированный углеродный сорбент с антибактериальными свойствами.

Предложен механизм антибактериального действия модифицированного сорбента. Он заключается в постепенном удалении полимера (ПВП) в раствор из пористой структуры сорбента для взаимодействия с клетками патогенных микроорганизмов и подавления их роста и жизнедеятельности.

Полученные углеродные сорбенты представляют интерес в качестве аппликационного материала для профилактики и лечения различных заболеваний.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ИППУ СО РАН М. В. Тренихину за исследование гранул и поверхности образцов сорбента методом растровой электронной микроскопии, А. Б. Арбузову за исследования образцов методом ИК-спектроскопии, Н. В. Антоничевой за помощь в проведении термического анализа исследуемых образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Фоминых С. Г. // Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2011. Т. 13, № 4. С. 368–375.
- 2 Шитов Л. Н., Романов В. А. // Фундаментальные исследования. 2010. № 4. С. 86–91.
- 3 Привольнев В. В., Агафонов О. И., Андреев И. М. // Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2012. Т. 14, № 3. С. 191–200.
- 4 Романов А. В., Дехнич А. В., Эйдельштейн М. В. // Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2012. Т. 14, № 3. С. 201–208.
- 5 Шаршкова М. А., Деев Л. А. // Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2012. Т. 14, № 3. С. 260–264.
- 6 Палагин И. С., Сухорукова М. В., Дехнич А. В., Эйдельштейн М. В., Швелев А. Н., Гринев А. В., Перепанова Т. С., Козлов Р. С. // Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2012. Т. 14, № 4. С. 280–302.
- 7 Азовскова О. В., Иванчик Н. В., Дехнич А. В., Кречикова О. И., Козлов Р. С. // Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2011. Т. 13, № 4. С. 309–321.
- 8 Эфферентная терапия / Под ред. А. Л. Костюченко. СПб: Фолиант, 2003. 432 с.
- 9 Belik E. V., Brykalov A. V., Bostanova F. A., Gryadskikh D. A., Golovkina E. M. // Fibre Chemistry. 2008. Vol. 40, No. 5. P. 445–446.
- 10 Levashov P. A., Afanasieva O. I., Dmitrieva O. A., Klesareva E. V., Adamova I. Yu., Afanasieva M. I., Bepalova Zh. D., Sidorova M. V. and Pokrovsky S. N. // Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomed. Chem. 2010. Vol. 4, No. 3. P. 303–307.
- 11 Военно-полевая хирургия локальных войн и вооруженных конфликтов: руководство для врачей / Под ред. Е. К. Гуманенко, И. М. Самохина. М.: ГЕОТАР-медиа, 2011. 672 с.
- 12 Суrowикин В. Ф., Пьянова Л. Г., Лузянина Л. С. // Рос. хим. журн. 2007. № 5. С. 159.
- 13 Эшбадалов Х. Ю. // Стоматология. 2005. № 2. С. 36–37.
- 14 Каплин Н. Н., Серков В. Ф., Алексеева В. Н., Битюгов А. Ю., Сорина Л. Н. // Лаб. дело. 1979. № 9. С. 546.
- 15 Самсонов К. В. // Бюлл. физиологии и патологии дыхания. 2008. Вып. 29. С. 48–50.
- 16 Коваленко Г. А., Семиколенов В. А., Кузнецова Е. В., Плаксин Г. В., Рудина Н. А. // Коллоид. журн. 1999. Т. 61, № 6. С. 787–795.
- 17 Сидельковская Ф. П. Химия N-винилпирролидона и его полимеров. М.: Наука, 1970.
- 18 Кириш Ю. Э. Поли-N-винилпирролидон и другие поли-N-виниламиды. М.: Наука, 1998.
- 19 Черникова Е. В., Терпугова П. С., Филиппов А. Н., Гарина Е. С., Голубев В. Б., Гостев А. И., Сивцов Е. В. // Журн. прикл. химии. 2009. Т. 82, Вып. 10. С. 1730–1737.
- 20 Афиногенов Г. Е., Панарин Е. Ф. Антибактериальные полимеры. СПб: Гиппократ, 1993. 263 с.
- 21 Мальцев В. Н., Стрельников В. А., Федоровский Я. Я. // Журн. микробиол. 1987. № 4. С. 9–11.
- 22 Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC, 1970.
- 23 Zhenfeng C., Huijuan R., Guixia L., Guangyan H. // J. Rare Earths. 2006. Vol. 24. P. 724.
- 24 Lewandowska K. // Thermochim. Acta. 2011. Vol. 517. P. 90.
- 25 Kim S. J., Park S. J., Kim I. Y., Lee Y. H., Kim S. I. // J. Appl. Polymer Sci. 2002. Vol. 86. P. 1844.
- 26 Loia-Bastarrachea M. I., Herrera-Kao W., Cauch-Rodriguez J. V., Cervantes-Us J. M., Vazquez-Torres H., Avila-Ortega A. // J. Thermal Analysis and Calorimetry. 2011. Vol. 104. P. 737.
- 27 Lim T. Y., NG W. K., Reginald B. H. T. // J. Supercritical Fluids. 2010. Vol. 53. P. 179.
- 28 Uzun I. N., Sipahigil O., Dincer S. // J. Supercritical Fluids. 2011. Vol. 55. P. 1059.
- 29 Пьянова Л. Г., Бакланова О. Н., Лихолобов В. А., Княжева О. А., Седанова А. В. // Каучук и резина. 2013. № 2. С. 14.
- 30 Пат. 2481848 РФ, 2013.