

УДК 567.743-654.97

ХАРАКТЕРИСТИКА ИК-СПЕКТРОВ АДЪЮВАНТОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

* Красочко П.А., ** Капуцкий Ф.Н., * Красочко И.А., ** Зубец О.В., * Аладьева Т.А

* РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»

** Институт физико-химических проблем Белорусского Государственного университета

Приведен способ получения природных полисахаридов с повышенными сорбционными свойствами для их дальнейшего использования в качестве сорбентов и адъювантов. Проведен ИК-спектрофотометрический анализ полученных образцов полисахаридов и дана их характеристика

The way of receiving natural polysaccharides with the increased sorption properties for their further use is given in quality of sorbents and adjuvant. IR-spectrofotometric analysis of the received samples of polysaccharides is led and their characteristic is given

Введение. Механизм действия адъюванта состоит главным образом в депонировании антигена в месте введения и, соответственно, его более медленной доставке к иммунокомпетентным клеткам, что усиливает действие вакцины. Перспективной является возможность применения в качестве адъювантов для инактивированной вакцины модифицированной микрокристаллической целлюлозы. Микрокристаллическая целлюлоза применяется достаточно широко в фармацевтической промышленности в качестве добавки, играющей роль наполнителя и загустителя таблеток, капсул, мазей, различных лекарственных средств, а также в других специальных рецептурах. В то же время микрокристаллическая целлюлоза не содержит ионогенных групп, имеющих в некоторых других природных полисахаридах, и в силу этого не проявляет в достаточной степени, присущих им положительных качеств: повышенная гидрофильность, гелеобразование, способность химически связывать различные катионы [1]. Однако эти недостатки можно устранить путем подбора и модификации природных полимеров с целью повышения их сорбционных свойств. Для этого имеется возможность применения в качестве сорбента для вакцин (адъюванта) ряда природных полимеров, таких как альгинаты, а также модифицированной микрокристаллической целлюлозы.

Микрокристаллическая целлюлоза не содержит функциональных групп и поэтому имеет неизбирательную и относительно невысокую сорбционную активность. Напротив, пектины и альгинаты представляют собой природные полиэлектролиты, имеющие в своем составе карбоксильные группы и по этой причине являющиеся весьма эффективными сорбентами. Проведение модификации целлюлозы с целью придания ей полиэлектролитных свойств позволит увеличить сорбционную активность и повысить избирательность природного полимера.

Поэтому представляется вполне обоснованным использование модифицированных полисахаридов (целлюлозы) для использования в качестве сорбентов и адъювантов при конструировании вакцин.

Цель настоящих исследований - выбрать наиболее приемлемый образец для определения возможности использования в качестве адъюванта и сорбента и провести его оценку методом инфракрасной спектроскопии.

Материалы и методы. В экспериментах использовали следующие материалы и реагенты: древесная беленая целлюлоза (ГОСТ 3914-89), альгинат натрия ТУ-15-544-83, азотная кислота ГОСТ 4461-77 марки «ч.д.а.», соляная кислота ГОСТ 3118-77 марки «х.ч.», уксусная «ледяная» кислота ГОСТ 61-75 марки «х.ч.», гидроксид натрия ГОСТ 4328-77 марки «ч.д.а.», натрий двууглекислый ГОСТ 4201-79 марки «ч».

Микрокристаллическая целлюлоза была получена по традиционной схеме: гидролиз нативной древесной целлюлозы в кислой среде до порошкового состояния, затем полученный продукт отделяли на фильтре и тщательно отмывали дистиллированной водой до нейтральной pH промывных вод. После промывки материал высушивали в сушильном шкафу при 105 °С в течение 3-4 часов. При этом высушенная микрокристаллическая целлюлоза представляет собой неоднородную массу слипшихся при сушке агрегатов частиц. В определенных пропорциях данный продукт смешивали с альгинатом натрия (кремовый порошковый продукт, состоящий из чешуек различного размера, от менее чем 1 мм до 2-3 мм). Полученную смесь помещали в лабораторную мельницу для размла твердых материалов «КА» и после непродолжительной, но интенсивной обработки получали однородную по цвету и составу порошковую массу. Таким образом было приготовлено 3 состава. Параллельно приготовили еще три образца, однако в этом случае совмещение компонентов проводили в водной среде, потому что альгинат натрия хорошо набухает и образует вязкий раствор. В полученный раствор погружали микрокристаллическую целлюлозу, затем смесь диспергировали в высокооборотистом лабораторном гомогенизаторе Waring Blender. Приготовленную однородную массу выливали на поддон и сушили в сушильном шкафу при 105°С в течение 5-6 часов. Затем осуществляли размол в мельнице до получения однородного порошкового продукта. В результате таких операций получали продукт, частицы которого имели нерастворимое ядро и были покрыты высокомолекулярным компонентом, хорошо набухающим в воде и содержащий функциональные группы (карбоксилатные). Полученные таким образом композиционные материалы были переданы в Институт экспериментальной ветеринарии для оценки их сорбционных свойств. Вместе с тем были подготовлены и переданы в качестве сравнения образцы микрокристаллической целлюлозы, альгината натрия, а также полученная на его основе альгиновая кислота.

ИК-спектры исследуемых образцов получали методами инфракрасной спектроскопии пропускания на спектрофотометрах Specord-75 IR, и на ИК-Фурье спектрофотометре Excalibur 3100 (Varian, USA).

Прибор позволяет проводить регистрацию ИК-спектров и передачу результатов измерений на ЭВМ, в которой реализуются процессы математической обработки спектральной информации.

- Параметры регистрации ИК-спектров:
- спектральная область: 4000—350 см⁻¹;
 - целевая программа: 4;
 - интервал дискретизации: 1 см⁻¹;
 - количество сканирований: 20.

Образцы исследуемых веществ для ИК-спектроскопического исследования готовили по методу прессования таблеток с КВг. Тонко измельченные порошкообразные образцы предварительно высушивали в вакуумном сушильном шкафу при температуре 50⁰С, а затем тщательно перемешивали в агатовой ступке с сухим бромистым калием и запрессовывали в таблетки при давлении порядка 8·10⁸Па. Параллельно проводили также запись спектров водорастворимых полимеров, нанесенных и высушенных в виде пленки на подложку KRS-5 [2].

Результаты исследования. Микрокристаллическую целлюлозу получали гидролитической деструкцией нативной целлюлозы разбавленными минеральными кислотами при повышенных температурах (~100 °С). При этом происходит разрушение волокон полимера, значительное уменьшение степени его полимеризации, а конечный продукт выделяется в виде порошка. Однако в результате такой процедуры получается «высокооблагороженная» с повышенной кристаллическостью целлюлоза, имеющая, однако, невысокую сорбционную способность по отношению к различным ионногенным веществам.

Перспективной оказалась отработка способа получения модифицированной микрокристаллической целлюлозы в одну стадию с использованием одного реагента, как для целей гидролиза, так и для введения в полимер карбоксильных групп. В качестве кислого реагента нами была выбрана азотная кислота умеренной концентрации (50-56%). Регулируя температуру и продолжительность процесса, получали микрокристаллическую целлюлозу, содержащую, в зависимости от условий реагирования, от 3,0 до 12% COOH групп, выход конечного продукта при этом составил около 70%. Отмытый от остатков кислоты и высушенный полученный материал представляет собой порошок целлюлозы, имеющей карбоксильные группы и способной связывать продукты катионного характера. При переводе кислотных групп в солевые, например натриевые, данный материал приобретает повышенное сродство с водой и при определенных условиях может образовывать устойчивые суспензии и гели в водных системах, которые могут использоваться при приготовлении вакцин для животноводства. Кроме того, у препарата существенно возрастает сорбционная способность.

Благодаря тому, что мы проводили стадии окисления и гидролиз нативного полимера одним реагентом – раствором азотной кислоты, мы получали возможность совмещать эти два процесса в один, в результате чего получается продукт, представляющий собой порошок, обладающий свойствами полиэлектролитов – микрокристаллическая карбоксилированная целлюлоза. По своим сорбционным свойствам данный материал приближается к природным катионообменным полимерам - пектинам и альгинатам. Химизм процесса модификации целлюлозы представлен на рис.6.

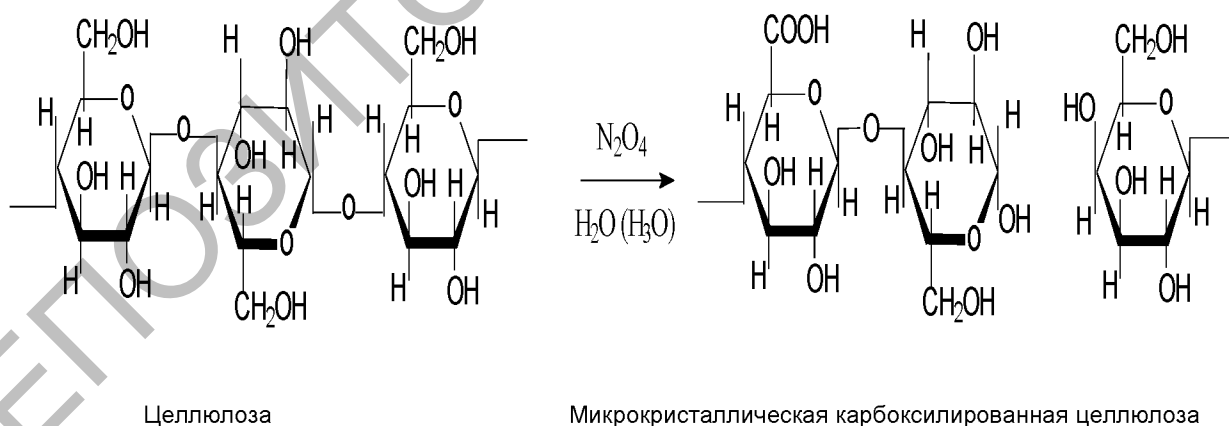


Рис. 6 Окисление и гидролиз целлюлозы

Полученный данным способом материал был тщательно промыт на фильтре Шотта дистиллированной водой от остатка азотной кислоты и высушен в вакуумном сушильном шкафу при 50 °С.

На рис. 2-3 приведены ИК-спектры различных образцов микрокристаллической целлюлозы и окисленной микрокристаллической целлюлозы.

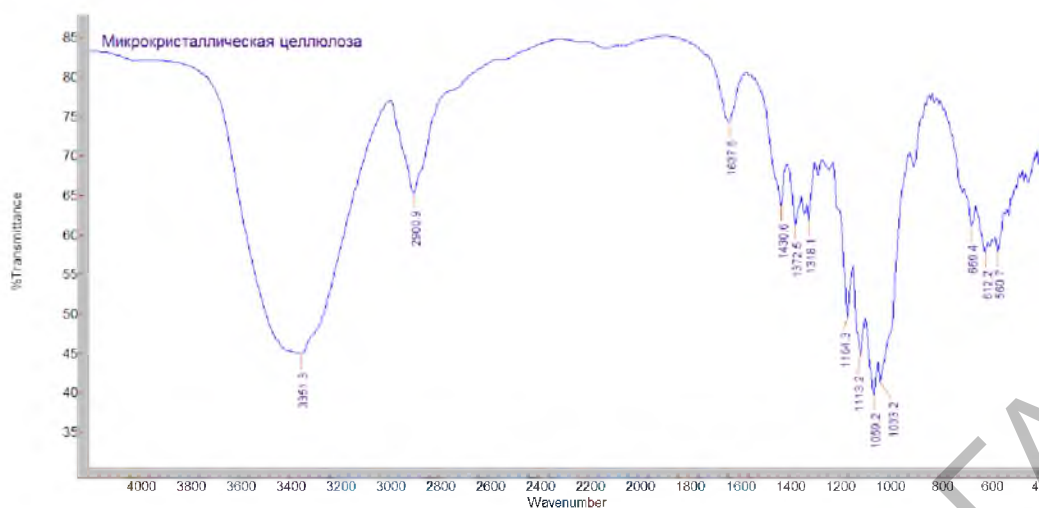


Рис. 7 ИК-спектры микрокристаллической целлюлозы

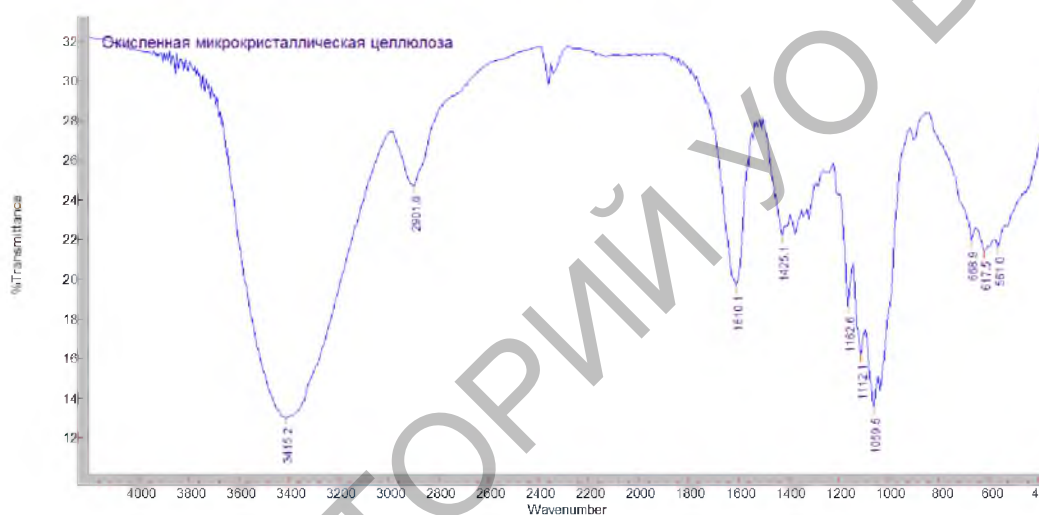


Рис. 8 ИК-спектр окисленной микрокристаллической целлюлозы

В ИК-спектрах микрокристаллической карбоксилированной целлюлозы, в отличие от исходной, появляется интенсивная полоса поглощения в области 1730 см^{-1} , обусловленная валентными колебаниями $\text{C}=\text{O}$ карбоксильной группы (рис. 8,7).

Сохранение кристаллической фазы свидетельствует, что процесс окисления целлюлозы протекает преимущественно на поверхности кристаллитов [3].

Другим источником природных полимеров для приготовления вакцин, на наш взгляд, могут служить водоросли (каррагинан, ламинарин и др.). Они содержат полисахариды, имеющие в своем составе карбоксильные и сульфозфирные функциональные группы и отличаются поэтому хорошим набуханием в воде, а также повышенными сорбционными свойствами. В частности, на нашем рынке широко представлен альгинат натрия производства Архангельского водорослевого комбината. Альгинаты широко используются как в пищевой промышленности, так и для медицинских целей в качестве наполнителей, загустителей, имеют высокие сорбционные показатели. В силу того, что альгинаты имеют высокое содержание карбоксильных групп, они могут быть достаточно привлекательным источником для получения адьювантов. [4].

Образец коммерческого альгината натрия был проанализирован на содержание карбоксильных групп. Для этого натриевую соль переводили в кислотную форму, обрабатывая ее слабым раствором соляной кислоты. После нескольких последовательных операций – обработки природного полимера кислотой и промывки его дистиллированной водой солевая форма альгината была переведена в Н-форму. Полноту перехода определяли с помощью ИК-спектроскопии (рис. 9,10).

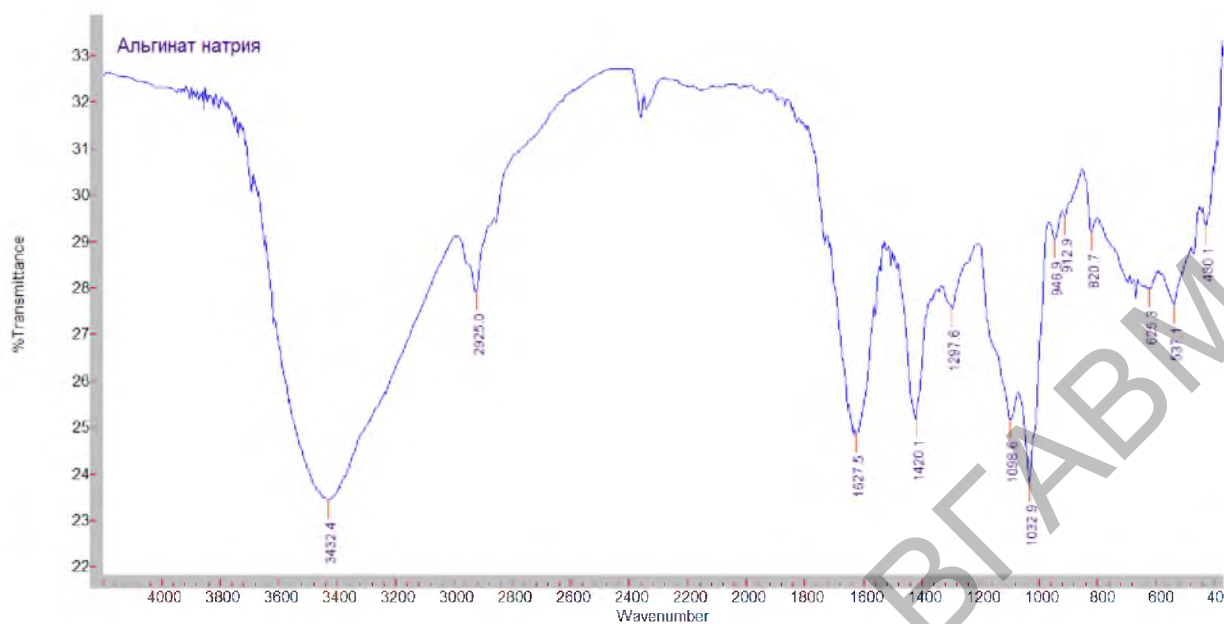


Рис. 9 – ИК-спектр альгината натрия

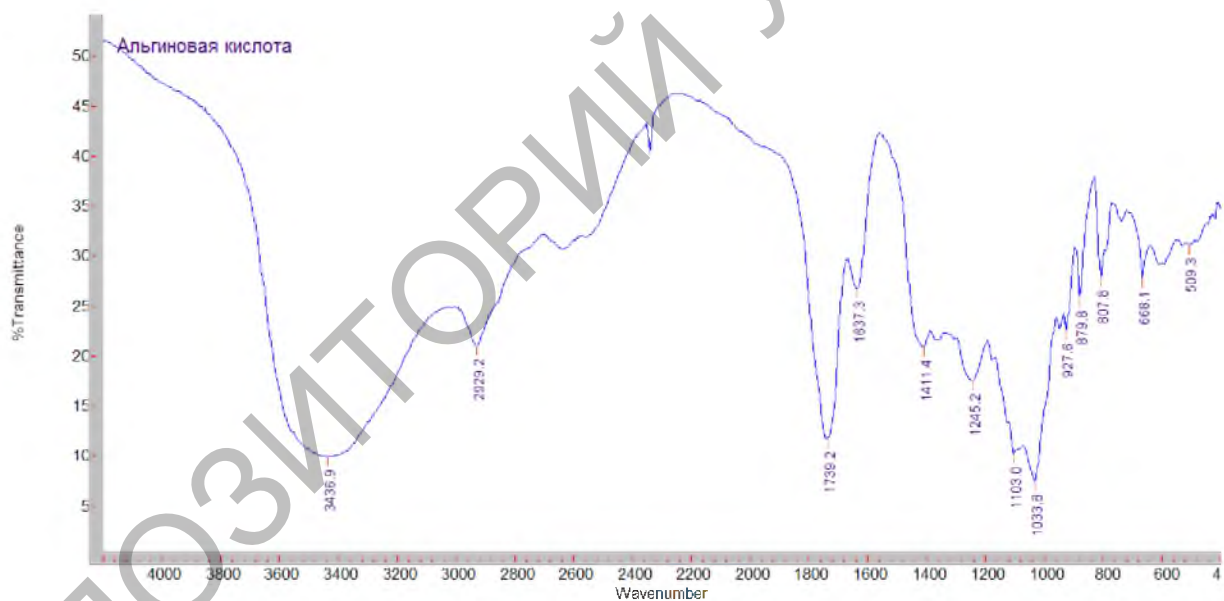


Рис. 10 – ИК-спектр альгиновой кислоты, полученной из альгината натрия

Из рисунков видно, что на ИК-спектре исследуемого образца наблюдается смещение максимума пика поглощения из области $\sim 1630 \text{ см}^{-1}$ (карбоксилат-ион) в область $\sim 1730 \text{ см}^{-1}$ (карбоксильная группа).

Заключение. Проведенный ИК-спектрофотометрический анализ природных полисахаридов свидетельствует о перспективности их использования для получения сорбентов и адъювантов.

Литература. 1. Беляков, Н.А. Энтеросорбция - механизм лечебного действия [Текст] / Н.А. Беляков, А.В. Соломенников // Эфферентная терапия. - 1997, - Т. 3, - № 2. 2. Иоелович, М.Я. Химия делигнификации и целлюлозы [Текст] / М.Я. Иоелович., Г.П. Веверис; под ред. Г.Ф. Закиса. - Рига: Зинатне. - 1991. - 114с. 3. Ермоленко И.Н. Спектроскопия в химии окисленных целлюлоз: монография [Текст] / И.Н. Ермоленко. - Минск: Изд. АН БССР, 1959. - 291 с. 4. Хотимченко Ю.С. Полисорбонат [Текст] / Ю.С. Хотимченко, М.В. Одицова, В.В. Кошлев. - Томск: изд-во НТЛ. - 2001. - 132 с.

Статья передана в печать 05.09.2012 г.