

ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩИХ СВОЙСТВ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА И ГЕЛЛАНОВОЙ КАМЕДИ

А.Н. Мамцев, Е.И. Кулиш, А.В. Акулич, Е.Е. Пономарев, М.В. Динякова, В.Н. Козлов

Рассмотрены физико-химические свойства йодосодержащего органоминерального комплекса «хитозан – геллановая камедь – йод». Изучены механизмы комплексообразования йода с биополимерами. В опытно-экспериментальных условиях доказана целесообразность введения в состав йодосодержащей биологически активной добавки второго полимера с целью повышения устойчивости йода в составе комплекса. Методами ИК-спектроскопии установлено, что главными активными центрами комплексообразования в органоминеральном комплексе «хитозан – геллановая камедь – йод/йодид калия» (БАД «Йодхитозан») являются гидроксильные и аминогруппы хитозана, а также карбонильная группа геллановой камеди, способствующие стабилизации комплекса.

Введение

Хитозан, линейный полисахарид β -(1,4) связанного D-глюкозамина, получаемый в результате дезацетилирования хитина, привлекает большое внимание как многофункциональный биополимер для промышленных, сельскохозяйственных, медицинских и фармацевтических целей из-за его уникальных свойств, таких как: биологическая активность, биodeградируемость, биологическая совместимость полиэлектролитных свойств и хелатирующей способности.

В пищевой промышленности также широкое применение находят камеди с целью профилактики явлений седиментации суспендированных веществ в объеме жидких продуктов. Камеди, в частности НМ-В геллановая камедь, наделены псевдопластическими реологическими свойствами, легко диспергируются, гидратируются, характеризуются низкой реактивностью с белками. Как следует из анализа литературных данных, выше рассмотренные биополимеры представляют интерес в качестве вектора для доставки биологически активных веществ и лекарственных препаратов в организм человека [1]. Частицы хитозана и камеди активно взаимодействуют с мембранами клеток благодаря высокой плотности зарядов на поверхности молекул, биodeградируют под действием ферментов на усвояемые аминокислоты, не токсичны, не индуцируют явления сенсибилизации и реакции отторжения. В связи с вышеизложенным следует считать перспективными исследования физико-химических свойств индивидуальных полимеров и их смесей, обеспечивающих адьювантные свойства биологически активных веществ.

Целью данной работы является сравнительная оценка устойчивости комплексов йода с биополимерными системами на основе хитозана и геллановой камеди.

Результаты исследований и их обсуждение

В качестве объектов исследования были выбраны образцы водорастворимых полисахаридов хитозан (ЗАО «Биопрогресс», Россия) и геллановая камедь (фирма CPKelco, США). Комплексы гомополимеров с йодом синтезировали смешением раствора полимеров с раствором йода и йодидом калия ($[I_2] / [KI]$). При содержании хитозана в растворе менее $5 \cdot 10^{-4}$ моль/дм³ наблюдалось характерное желтое окрашивание раствора. При содержании хитозана в растворе более $5 \cdot 10^{-2}$ моль/дм³ наблюдалось фиолетовое окрашивание раствора. Раствор геллановой камеди с йодом при любой концентрации полимера окрашивался в желтый цвет. УФ-спектры водных растворов соединений регистрировали относительно раствора соответствующей кислоты на спектрофотометре «Specord M-40» с использованием кварцевых кювет обеспечивающих толщину слоя жидкости равную 1 см. Для регистрации УФ-спектров в тонких пленках раствор комплекса наносили шпателем на кварцевую подложку и высушивали на воздухе. Для определения времени удерживания йода в комплексном соеди-

нении изучали зависимость оптической плотности раствора, соответствующей максимуму поглощения йода, при погружении тонкой пленки в воду. Для определения устойчивости полимерных комплексов были использованы методы изомолярных серий (МИС) и мольных отношений (ММО). Исследование физико-химических свойств индивидуальных полимеров – хитозана, геллановой камеди и комплексного соединения «хитозан – геллановая камедь – йод/йодид калия» было проведено методом ИК-спектроскопии на ИК-Фурье спектрометре фирмы «SHIMADZU» (Япония) в виде таблеток с бромидом калия (KBr).

ИК-спектр обоих полимеров и хитозана (рисунок 1), и геллановой камеди (рисунок 2) имеет диффузный характер, что свидетельствует об их полимерной природе и даст общую информацию о молекулах полимеров. Так, в спектрах обоих полимеров наблюдается широкая полоса поглощения в области $3700\text{--}3100\text{ см}^{-1}$, принадлежащая валентным колебаниям OH- , а также NH- связей (в случае хитозана). Также наблюдается уширенная полоса в области $2960\text{--}2920\text{ см}^{-1}$, в которую попадают валентные колебания C-H связей в метиленовой и метильной группах. Для образца хитозана, кроме того, наблюдаются полосы поглощения в области 1640 см^{-1} и 1515 см^{-1} , соответствующие деформационным колебаниям ацетамидной и аминогруппы, наличие широкой полосы в области $1460\text{--}1200\text{ см}^{-1}$ с максимумами при 1458 и 1210 см^{-1} (плоскостные деформационные колебания гидроксильных групп), а также при 1379 и 1316 см^{-1} , соответствующих деформационным колебаниям метильных и метиленовых групп. Кроме того, имеется наличие интенсивного максимума в области 1076 см^{-1} , отвечающего валентным колебаниям пиранозного кольца. В случае камеди, кроме широкой полосы в области $1450\text{--}1200\text{ см}^{-1}$, появляется полоса с максимумом при 1740 см^{-1} , соответствующая колебаниям карбоксильных групп. При добавлении йода к геллановой камеди смещения полос поглощения не происходит, лишь несколько уменьшается их интенсивность. В случае комплекса «хитозан – йод» весь спектр во всей анализируемой области незначительно смещается в область меньших длин волн. В случае комплексного соединения «хитозан – геллановая камедь – йод/йодид калия» происходит резкое изменение соотношений между интенсивностью полос, соответствующих гидроксильным и азотсодержащим группам (за стандартную принималась полоса 2900 см^{-1} , соответствующая валентным колебаниям метильных и метиленовых групп). Анализ изменения соотношения полос позволяет предположить, что основными центрами в хитозане, удерживающими внутри хитозановой спирали полийодидную цепочку, являются азотсодержащие и гидроксильные группы. При этом, очевидно, имеет место конкурентная реакция между полианионом – геллановой камедью и ионами йода за активные центры хитозана.

Электронный спектр водного раствора I_2/KI характеризуется наличием двух максимумов поглощения при 290 и 360 нм , которые характерны для ионов I_3^- (рисунок 4).

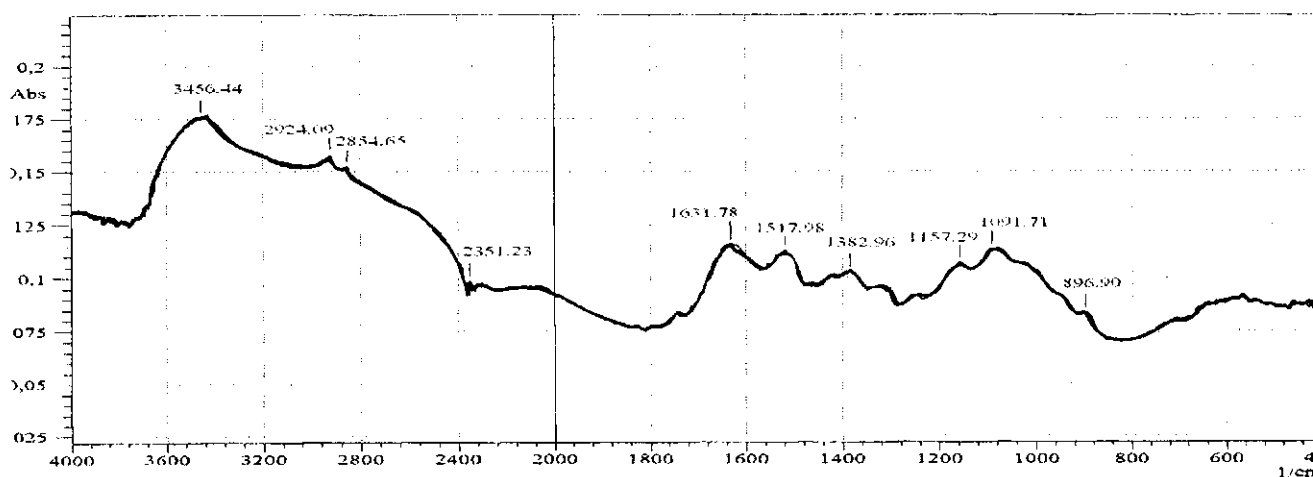


Рисунок 1 – ИК-спектр хитозана

При добавлении в водный раствор системы I_2/KI сравнимого количества хитозана интенсивность полос поглощения трийодидов резко возрастает, а их максимумы сдвигаются в

длинноволновую область на 4–5 нм.

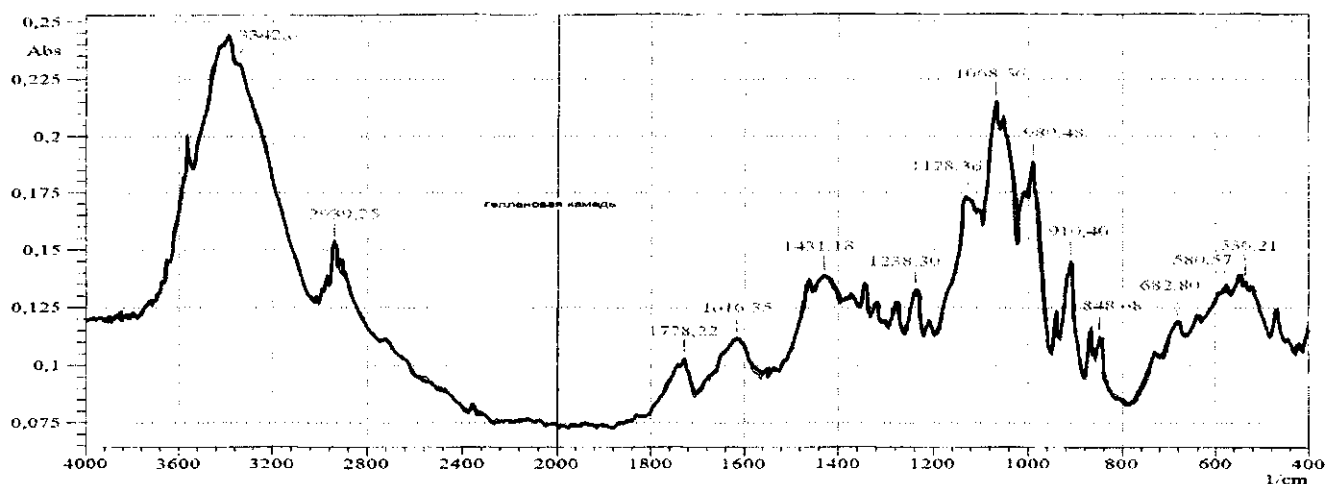


Рисунок 2 – ИК-спектр желатиновой камеди

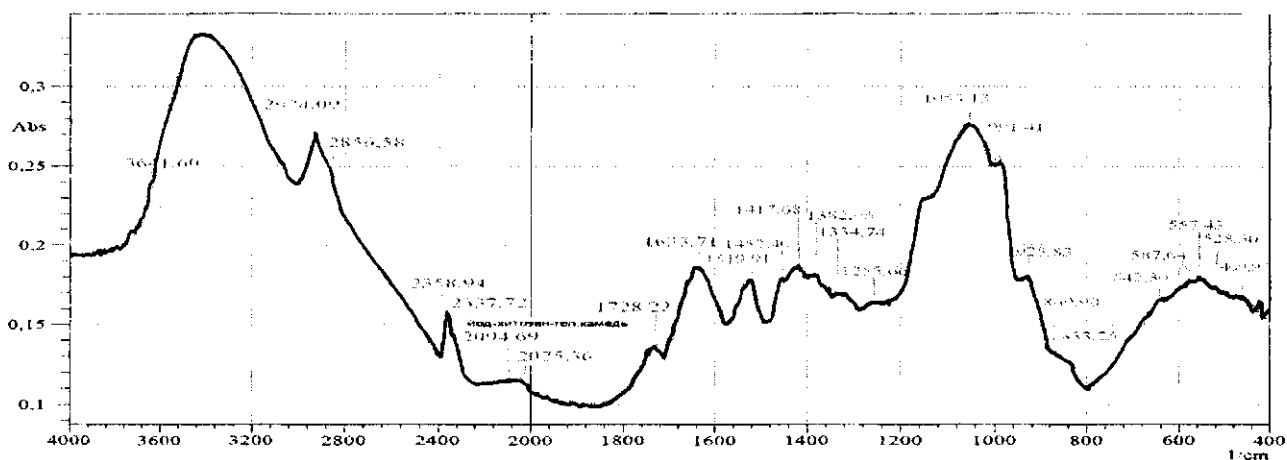


Рисунок 3 – ИК-спектр комплексного соединения «хитозан – желатиновая камедь – йод/йодид калия»

Спектральные изменения свидетельствуют о влиянии, оказываемом полисахаридом на электронную систему I_2/KI и образовании комплексного соединения желтого цвета. Резкое повышение интенсивности полос поглощения в области 290 и 360 нм говорит об увеличении числа ионов I_3^- в составе комплекса. Электронные спектры для системы «желатиновая камедь – I_2/KI » носят аналогичный вид.

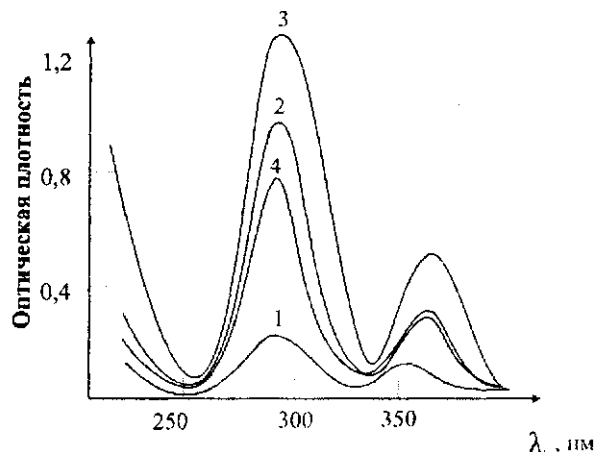
Исследование комплексных соединений хитозана и желатиновой камеди с йодом в разбавленном водном растворе методами МИС и ММО позволяет констатировать, что константы устойчивости комплексных соединений составили $4,4 \times 10^4$ дм³/моль в случае желатиновой камеди и $8,1 \times 10^4$ дм³/моль в случае хитозана.

При смешении растворов полимеров и получении тройного комплекса «хитозан – желатиновая камедь – I_2/KI » в электронном спектре наблюдается изменение интенсивности полос поглощения трийодид ионов и их bathochromic shift (рисунок 4, кривая 4). Константа устойчивости тройного комплекса составила $1,2 \times 10^5$ дм³/моль.

Поскольку хитозан имеет положительно заряженную аминогруппу, а желатиновая камедь – отрицательно заряженную карбоксильную группу, они агрегируют, образуя полиэлектролитный комплекс (ПЭК). Вероятно, уменьшение концентрации трийодид ионов связано с конкурентной реакцией между полианионом – желатиновой камеди и ионами йода за активные центры хитозана. Учитывая, что константа устойчивости возросла на порядок, может быть сделан вывод о стабилизации образующегося комплексного соединения.

При повышении содержания хитозана в растворе выше 5×10^{-4} М или при переходе к кон-

денсированной фазе хитозан с йодом образуют комплекс не желтого, а фиолетового цвета. Подобный комплекс может быть синтезирован и в присутствии желатиновой камеди. В спектре тонкой пленки смешанного фиолетового комплекса, как и в комплексе «хитозан – I_2/KI », помимо полос поглощения трийодид ионов появляется полоса с переносом заряда в области 510 нм, которая, вероятно, принадлежит к поглощению полийодидов I_5^- и I_7^- (рисунок 5).



Концентрация I_2 - 5×10^{-4} М, концентрация KI - $1,5 \times 10^{-2}$ М, концентрация полимеров - 5×10^{-4} М

Рисунок 4 – УФ-спектры водных растворов систем « I_2/KI » (1), «хитозан – I_2/KI » (2), «желатиновая камедь – I_2/KI » (3) и «хитозан – желатиновая камедь – I_2/KI » в воде (4)

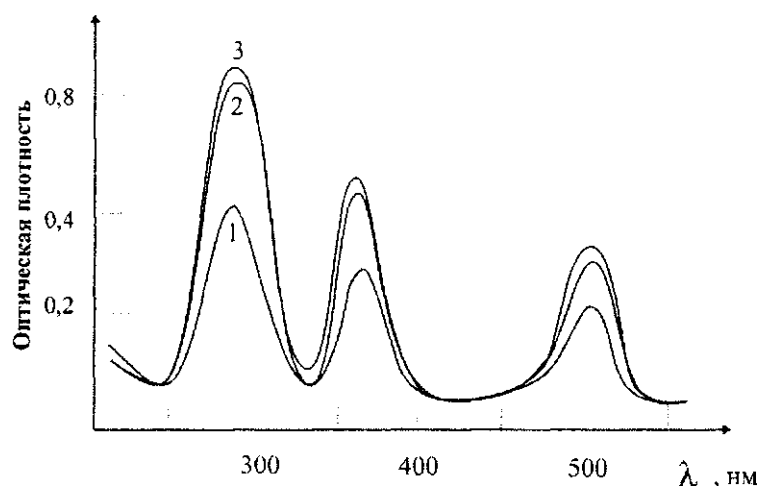


Рисунок 5 – УФ-спектры тонких пленок комплексов «хитозан – I_2/KI » (1) и «хитозан – желатиновая камедь – I_2/KI » (2,3), полученные после выдержки на воздухе в течение одних суток (1,2) и 10 суток (3)

Согласно литературным данным, фиолетовый комплекс «хитозан – I_2/KI » является неустойчивым и разрушается при обычных условиях по мере старения [3]. Присутствие в этой системе желатиновой камеди способствует стабилизации комплекса, о чем свидетельствует постепенное повышение интенсивности как трийодидных, так и полийодидных полос поглощения в течение анализируемых 10–12 суток. Вероятно, в системе «хитозан – желатиновая камедь – I_2/KI » стабилизация фиолетового комплекса происходит за счет электростатического взаимодействия аминогрупп хитозана с карбоксильными группами желатиновой камеди, что предотвращает диссоциацию межмолекулярных водородных связей между хитозаном и комплексно связанным йодом.

Именно пониженной растворимостью органоминерального комплексного соединения «хитозан – желатиновая камедь – йод» в воде объясняются несколько меньшие значения оптической плотности, обусловленные содержанием йода в водной фазе (так как часть йода оста-

ется в нерастворимом осадке). Как видно из рисунков 6–7 и в случае комплекса «хитозан – йод», и в случае комплекса «геллановая камедь – йод», содержание йода в водной фазе снижается в течение суток более чем вдвое. Через трое суток фильтрат комплексов «хитозан – йод» и «геллановая камедь – йод» практически не содержит йода.

Данный характер закономерностей наблюдается как для ионов йода I^3- (кинетика выхода изучена при длине волны 290 и 360 нм), так и для полийодид ионов (кинетика выхода изучена при длине волны 510 нм). Таким образом, несмотря на хорошую растворимость данных комплексов в воде и на первоначально большее содержание йода в фильтрате комплексов «хитозан – йод» и «геллановая камедь – йод», йод в данных комплексных соединениях не является стабильным. Обращает на себя внимание также факт, что в комплексе «геллановая камедь – йод» фактически отсутствуют полийодиды. В отличие от комплексов «хитозан – йод» и «геллановая камедь – йод», йод, выделившийся из комплекса «хитозан – геллановая камедь – йод», остается в растворе и является стабильным в течение 4–5 суток (о чем свидетельствует постоянство оптической плотности).

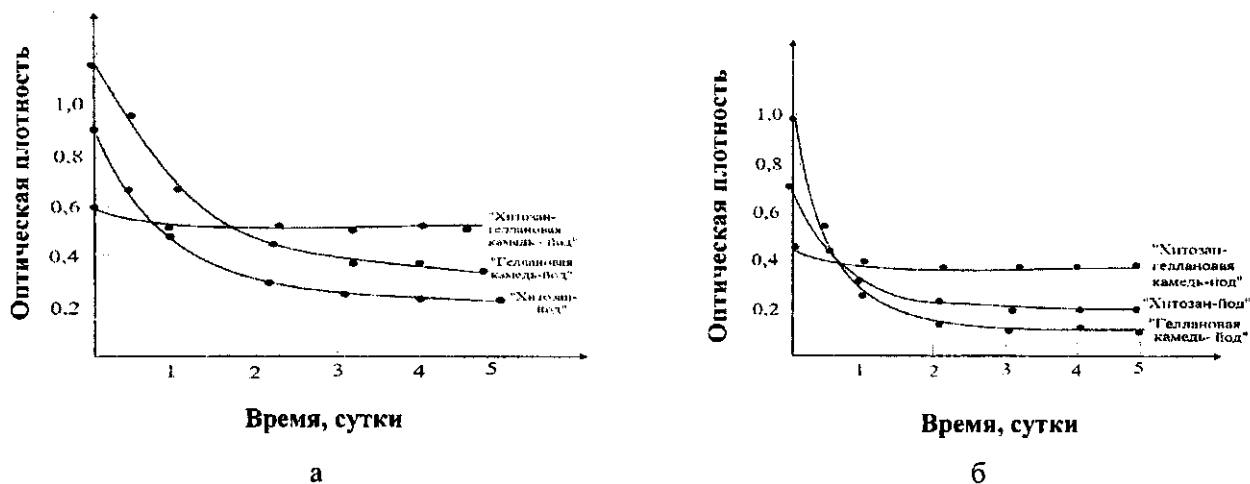


Рисунок 6 – Динамика выхода ионов I^3- из комплексов «геллановая камедь – йод», «хитозан – йод» и смешанного комплекса «хитозан – геллановая камедь – йод» оцененная по изменению оптической плотности растворов при длине волны 290 нм (а) и 360 нм (б)

В растворе смеси полимеров в принципе возможно образование ассоциатов двух типов – гомо- (ассоциаты «хитозан – хитозан» наряду с ассоциатами «геллановая камедь – геллановая камедь») и гетероассоциатов, образованных макромолекулами хитозана и геллановой камеди. Ассоциаты, содержащие однородные сегменты (гомоассоциаты хитозана или геллановой камеди), уплотнены по сравнению с соответствующими гомофлуктуационными образованиями в индивидуальных растворах полимеров при одинаковых весовых концентрациях. Ассоциаты, состоящие из разнородных сегментов, наоборот должны быть разрыхлены, так как интенсивность взаимодействия сегментов «хитозан – хитозан» и «геллановая камедь – геллановая камедь» больше, чем «хитозан – камедь» в системе из несовместимых полимеров. Повышение плотности ассоциатов полимеров может приводить к пролонгированию фармакологического действия лекарственного препарата, удерживаемого полимерной матрицей.

Вывод о типе (гомо- или гетеро-) образующихся ассоциатов может быть сделан по величине и характеру отклонения экспериментальных значений концентрационной зависимости относительной вязкости от теоретических. В случае бесконечного разбавления суммарная относительная вязкость двух полимеров должна быть аддитивна. Увеличение размеров макромолекулярных гетероассоциатов, связанное с низкой плотностью упаковки в них сегментов макромолекул с различной первичной структурой, должно приводить к росту экспериментальных значений суммарной относительной вязкости, по сравнению с аддитивными величинами. Сжатие макромолекулярных гомоассоциатов, обусловленное повышенной плотностью упаковки однотипных по структуре молекул, напротив, должно вызывать уменьшение относительной вязкости растворов смеси полимеров по сравнению с аддитивными зна-

чениями.

Исследование реологических свойств растворов хитозана и геллановой камеди (рисунок 8) выявило неаддитивный характер изменения суммарной относительной вязкости растворов полимеров. Как видно из рисунка 8, при добавлении геллановой камеди к раствору хитозана происходит понижение суммарной относительной вязкости растворов двух полимеров, свидетельствующим об образовании гомоассоциатов в смеси полимеров. Очевидно именно образованием гомоассоциатов, способных вследствие повышенной плотности упаковки, прочно удерживать внутри себя низкомолекулярные соединения (в нашем случае йода) и можно объяснить высокую стабильность соединений йода в смешанном полиэлектролитном комплексе «хитозан – геллановая камедь – йод».

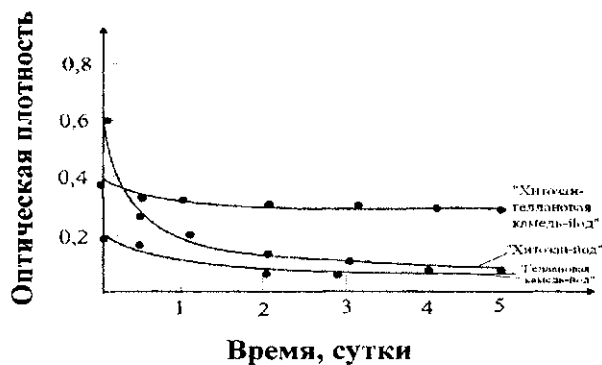
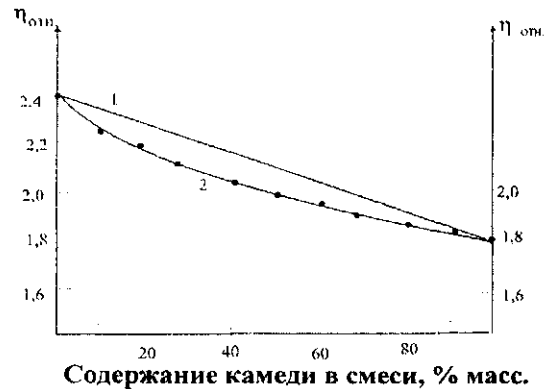


Рисунок 7 – Кинетики выхода ионов полийодид ионов при длине волны 510 нм для комплексов «геллановая камедь – йод», «хитозан – йод» и смешанного комплекса «хитозан – геллановая камедь – йод»



1 – аддитивная линия,
2 – экспериментальная линия

Рисунок 8 – Зависимость относительной вязкости раствора смеси олимеров (хитозана (0,5 г/100 см³) и геллановой камеди (0,05 г/100 см³) от содержания камеди в смеси

Заключение

Фиолетовый комплекс «хитозан – йод» является неустойчивым и разрушается при обычных условиях по мере старения [2]. Присутствие в системе камеди способствует стабилизации комплекса. Установлено, что комплекс «хитозан – йод» формирует агрегат с двухслойной цилиндрической структурой, составленной из внутренней полийодидной цепи, окруженной ансамблем кристаллоподобных протяженных хитозановых цепочек, соединенных сетью межмолекулярных водородных связей. Похожая структурная особенность комплекса «хитозан – йод» наблюдается в соединениях поливинилового спирта с йодом и отличается от амилозо-йодного комплекса, в котором молекулы йода/йодида включены в шестикратную левовращающую винтовую V-амилозу. При температуре выше 30 °С комплекс «хитозан – йод» начинает разрушаться, что сопровождается разрывом межмолекулярных водородных связей между хитозаном и связанным йодом/йодидом, и преобразуется с ростом температуры из цилиндрической структуры в компактный эллипсоид или сферическую структуру из свободных хитозановых цепей.

Литература

- 1 Ильина, А.В. Формирование наночастиц – один из способов модификации хитозана / Рыбпром. - № 2. – 2010. – С. 70–75.
- 2 Мударисова, Р.Х. Образование фиолетового комплекса при взаимодействии хитозана с йодом / Р.Х. Мударисова, Н.Р. Ершова, Е.И. Кулиш, С.В. Колесов // Вестник Башкирского университета. - Т. 15, № 3. – 2010. – С.585–586.
- 3 Handa T., Yajima H. // Biopolymers. – 1981. – V. 20. – P. 2051.

Поступила в редакцию 9.12.2011