ХИМИЯ

УДК 541.64; 547.458.82

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕДКОСШИТОЙ ПОЛИАКРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И НАТРИЕВОЙ СОЛИ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ С КСИМЕДОНОМ (1-(β-ОКСИЭТИЛ)-4,6-ДИМЕТИЛ-1,2-ДИГИДРО-2-ОКСОПИРИМИДИНОМ) В ВОДНОЙ СРЕДЕ

© 2011 г.
Н.Б. Мельникова [1], Д.А. Пантелеев [1], О.Е. Жильцова [1], А.А. Волков [1], М.В. Гуленова [2], Т.В. Саликова [1]

[1] Нижегородская государственная медицинская академия
[2] Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского

melnikow@rol.ru

Поступила в редакцию 14.04.2011

Установлена экстремальная зависимость *p*H, удельной электропроводности, вязкости в водных растворах смеси натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы с производным пиримидинового основания – ксимедоном от концентрации ксимедона.

По данным ^{13}C ЯМР-спектров, ксимедон в водной среде взаимодействует с полиакриловой кислотой, связывая протоны, образующиеся при диссоциации полиакриловой кислоты, что приводит к повышению *p*H, уменьшению удельной электропроводности и подтверждается данными ЯМР-спектров. Показано, что взаимодействие ксимедона с полиакриловой кислотой аналогично поглощению биополимером лигандов и может быть описано в приближении теории Скетчарда.

Ключевые слова: ксимедон, пиримидин, гель, редкосшитая полиакриловая кислота, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, комплексообразование ксимедона с биополимерами.

В литературе имеются обширные сведения об использовании полиэлектролитов в лекарственных средствах [1–4]. Они проявляют функции связующих и структурирующих компонентов в растворах, жидких и твердых гелях, являются носителями и матрицами для лекарственных веществ (ЛВ), стабилизаторами липосомальных лекарственных форм.

Известно, что наиболее часто используемые в настоящее время полиэлектролиты, такие как редкосшитая полиакриловая кислота (ПАК) и растворимая Na-карбоксиметилцеллюлоза (Na-КМЦ), способны взаимодействовать с ЛВ основного характера по различным механизмам: комплексообразования, физической абсорбции, химического связывания с макромолекулами и др. [5–7].

Характер взаимодействия макромолекул с ЛВ, а также кооперативные взаимодействия полиионов и неионизованных фрагментов полимеров в присутствии ЛВ в значительной степени будут зависеть от природы ЛВ и определять свойства растворов, дисперсий и гелей медицинского назначения.

В настоящей работе изучено взаимодействие редкосшитой ПАК и Na-КМЦ с иммуностимулирующим репарантом-регенерантом – 1-(β-оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксопиримидином (ксимедоном) в водной среде.

Можно предположить, что ксимедон, как и другие амины (этилендиамин, триэтаноламин, морфолин и др.) будет взаимодействовать с карбоксильными группами полимеров, в том числе с образованием комплексных соединений [2, 5, 7].

Экспериментальная часть

Материалы и реактивы. Na-карбоксиметилцеллюлоза – марки 7HOF, фирмы «*Hercules*», Франция; синтетический полимер – редко-сшитая полиакриловая кислота марки *Carbopol-Ultrez* 10 фирмы «Эльф Косметик»; ксимедон (1-(β-оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксопиримидин) предоставлен ОАО «Кристалл», г. Дзержинск Нижегородской области.

Растворы смесей полимеров и ксимедона готовили смешением растворов отдельных компонентов в дистиллированной воде. Концентрационные границы гелеобразования, т.е. минимальные концентрации полимера и ксимедона, при которых происходит образование геля,

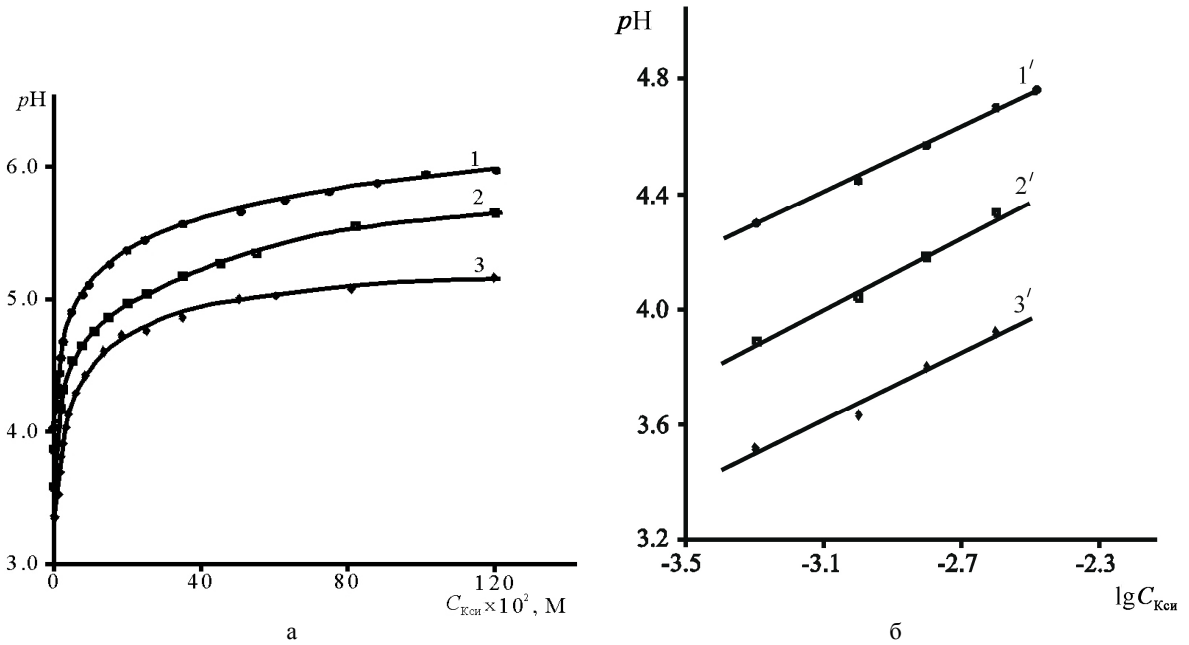


Рис. 1. Зависимость *p*H растворов ПАК от концентрации ксимедона: а) в координатах *p*H = *f*($C_{Кси}$) во всей изучаемой области концентраций ксимедона; б) в координатах *p*H = *f*(lg$C_{Кси}$) в области малых концентраций ксимедона: 1,1′– $m_{ПАК}$ = 0.063%; 2,2′ – $m_{ПАК}$ = 0.125%; 3,3′– $m_{ПАК}$ = 0.250%

фиксировали визуально по потере текучести раствора под действием собственного веса.

ИК-спектры были получены на инфракрасном спектрофотометре с преобразованием Фурье «*IRPrestige*-21», фирма *Shimadzu*, Япония. Диапазон измерений 4000–400 см$^{-1}$. Образец сравнения KBr. Анализировались пленки полимеров и реакционных смесей ксимедона и ПАК в виде тонких пленок ксимедона, высушенных при пониженном давлении.

Квантовохимические расчеты были выполнены с использованием программы *HyperChem* (версия 7.52). В качестве силового поля молекулярной механики (потенциальная функция расчетов) было выбрано поле MM+. Для оптимизации геометрии и минимизации энергии системы был выбран алгоритм *Polak-Ribiere* [8]. Для расчета плотности зарядов был использован DFT-метод (B3-LYP).

^{13}C ЯМР-спектры регистрировали на спектрометре «*Bruker Avance* DPX-200».

Потенциометрическое титрование водных растворов гелей проводили на иономере лабораторном типа «И-130», СССР.

Кондуктометрические измерения проводили на кондуктометре «*Dist* 3», серия «*The Dist Family*» фирмы «*Hanna instruments*», Португалия.

Результаты и их обсуждение

Потенциометрическое титрование водных растворов ПАК с массовыми концентрациями 0.063, 0.125 и 0.250% 0.5 М водным раствором ксимедона (Кси) показало, что зависимости *p*H – состав аналогичны изотермам ленгмюровского типа (рис. 1а). Конечные значения плато *p*H увеличиваются с уменьшением концентрации ПАК в растворе. В области относительно малых концентраций ксимедона зависимость *p*H = *f*($C_{Кси}$) становится линейной (рис. 1б).

Снижение кислотности среды при увеличении концентрации Кси может происходить за счет связывания Кси-протонов, образующихся при диссоциации карбоксильных групп ПАК в исходном растворе:

$$R\text{–}COOH \rightleftharpoons R\text{–}COO^- + H^+, \quad (1)$$

$$H^+ + Kcu \rightleftharpoons KcuH^+. \quad (2)$$

Это предположение подтверждается изменением удельной электропроводности æ водных растворов ПАК различной концентрации под действием Кси: æ уменьшается в области малых концентраций Кси, а затем возрастает при увеличении концентрации последнего (рис. 2). На кривых æ = *f* ($C_{Кси}$) отмечается перегиб, разделяющий эти две области изотермы и характеризующий, вероятно, различные процессы.

Для сопоставления можно привести значения удельной электропроводности в исходных растворах ПАК и в конечной системе ПАК–Кси:

$æ_{исх}$, мСм/м	$æ_{кон}$, мСм/м
23 (0.063%)	25 (0.063%)
30 (0.125%)	42 (0.125%)
58 (0.250%)	68 (0.250%)

Протонирование ксимедона, вероятно, происходит по карбонильной группе. Квантово-

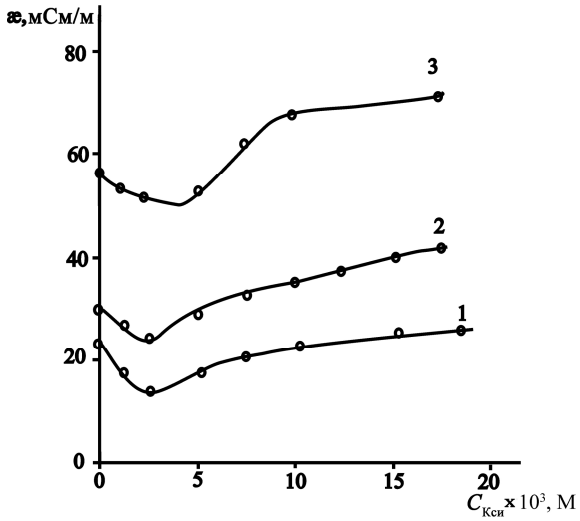
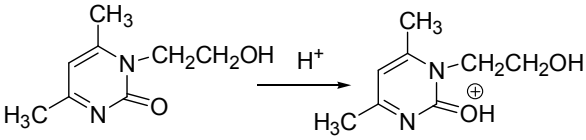


Рис. 2. Зависимость электропроводности растворов ПАК от концентрации добавляемого Кси æ = f ($C_{Кси}$): $m_{ПАК}$ = 0.063% (1), 0.125% (2), 0.250% (3)

химические расчеты показали, что максимальный отрицательный заряд, равный –0.470, сосредоточен на карбонильном атоме кислорода, тогда как на азоте он составляет –0.359.



I (Кси) **II (КсиН$^+$)**

В пользу структуры **II** свидетельствуют данные ^{13}C ЯМР-спектров ксимедона, смеси ксимедона и ПАК, а также протонированного ксимедона в виде его гидрохлорида в дейтерированной воде. В спектрах ЯМР смеси Кси и ПАК наибольшие изменения происходят в карбонильной группе C=O (химический сдвиг Кси δ 175.5 м.д.; δ(КсиН$^+$) 149.0 м.д.). Эти результаты совпадают с анализом ЯМР-спектров ксимедона и протонированного ксимедона в виде его гидрохлорида. Различия химических сдвигов остальных групп менее значительны (δ (CH_3(6)): 20.1 м.д. для Кси и 19.4 м.д. для КсиН$^+$; δ (CH_3(5)): 23.1 м.д. для Кси и 21.7 м.д. для КсиН$^+$; δ (N–CH_2(1)): 47.9 м.д. для Кси и 49.4 м.д. для КсиН$^+$; δ (C=C(4)): 160.6 м.д. для Кси и 172.1 м.д. для КсиН$^+$; δ (C=C(6)): 157.9 м.д. для Кси и 168.5 м.д. для КсиН$^+$.

Другим процессом, происходящим в системе ПАК–Кси, является взаимодействие Кси и КсиН$^+$ с активными центрами макромолекулярных глобул ПАК, аналогично ассоциации биополимеров (P) со специфическими лигандами (L):

$$P + L \rightleftharpoons PL. \qquad (3)$$

Кривые поглощения ксимедона ПАК pH = f ($C_{Кси}$) аналогичны зависимостям «свойство системы – концентрация лиганда, связанного полимером», характерным для насыщения биополимера лигандами [9]. Количественной характеристикой процесса насыщения, взаимосвязи концентрации биополимера и лигандов в гомогенной среде является константа ассоциации $K_а$:

$$K_а = \frac{[PL]}{[P]\cdot[L]}. \qquad (4)$$

На основании теории ассоциации биополимеров с лигандами, взаимодействие Кси с ПАК можно выразить как:

$$ПАК + Кси \rightleftharpoons ПАК{\cdot}Кси, \qquad (5)$$

$$K_а = \frac{[ПАК\cdot Кси]}{[ПАК]\cdot[Кси]}. \qquad (6)$$

Обозначив концентрации ксимедона $[Кси]_{связ}$ и $[Кси]_{своб}$ как лигандов, связанного в комплекс и свободного соответственно, концентрацию комплекса можно представить в виде:

$$[ПАК{\cdot}Кси] = [Кси]_{связ},$$

а полную концентрацию ПАК в данный момент $[ПАК]_τ$ – как

$$[ПАК]_τ = [ПАК] + [Кси]_{связ}.$$

Таким образом,

$$K_а = \frac{[Кси]_{связ}}{([ПАК]_τ - [Кси]_{связ})\cdot[Кси]_{своб}}. \qquad (7)$$

Выражение (7) можно преобразовать к виду, близкому к уравнению Скетчарда [9], где в квадратных скобках представлены равновесные концентрации компонентов изучаемой системы:

$$\frac{[Кси]_{связ}}{[Кси]_{своб}} = K_а\cdot[ПАК]_τ - K_а\cdot[Кси]_{связ}. \qquad (8)$$

При значительном избытке ксимедона как лиганда уравнение Скетчарда имеет следующий вид:

$$[Кси]_{связ} = \frac{[ПАК]_τ\cdot K_а\cdot Кси_0}{1 + K_а\cdot Кси_0} \qquad (9)$$

Взаимодействие биополимеров с лигандами оценивают по химическому ответу системы R, регистрируя величину, отражающую это взаимодействие. В первом приближении ответ системы R пропорционален количеству образовавшегося комплекса и, следовательно, изменению pH в системе.

Образование комплекса Кси с ионизованными и неионизованными карбоксильными группами ПАК подтверждается сдвигом реперной полосы в ИК-спектрах исходной ПАК с 1713 см$^{-1}$ до 1735 см$^{-1}$ (–C=O в -COOH-группе) в реакционной смеси. Следовательно, ответ системы R отражает комплексообразование и его можно выразить как относительную степень насыщения реакционных центров ПАК ксимедоном, сопровождающуюся связыванием протона:

$$R = \frac{pH_х - pH_{нач}}{pH_{кон} - pH_{нач}}, \qquad (10)$$

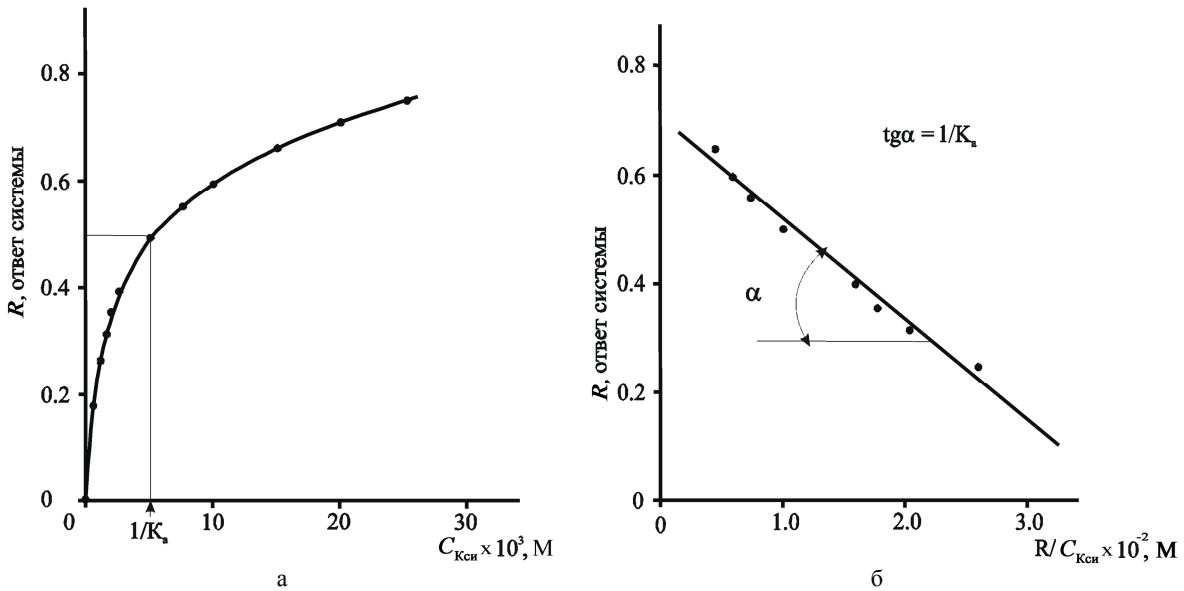


Рис. 3. Графическая иллюстрация решения уравнения Скетчарда: а – в координатах $R = f(C)$; б – $R = f(R/C^0_{\text{Кси}})$

а ассоциацию представить уравнением (11):

$$R = \frac{R_{\max} \cdot K_{\text{а}} \cdot C^0_{\text{Кси}}}{1 + K_{\text{а}} \cdot C^0_{\text{Кси}}}. \qquad (11)$$

Зависимость ответа системы (степени насыщения активных центров ПАК ксимедоном) от концентрации Кси представлена на рис. 3а. Обработка полученных данных в виде линейной анаморфозы [уравнение (12)]

$$R = R_{\max} - \frac{1}{K_{\text{а}}} \cdot \frac{R}{C^0_{\text{Кси}}} \qquad (12)$$

в координатах $R - \frac{R}{C^0_{\text{Кси}}}$ позволяет установить величину $K_{\text{а}}$ (рис. 3б).

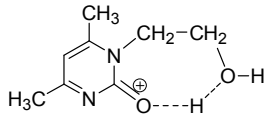
$K_{\text{а}}$ также приближенно можно оценить как концентрацию Кси, соответствующую $R = 0.5$.

Рассчитанная величина $K_{\text{а}}$, равная 550 моль/л, подтверждает комплексообразование Кси с ПАК. При этом константа ассоциации $K_{\text{а}}$ Кси с реакционными центрами будет близка к $K_{\text{а}}$ ассоциации биополимерами лигандов [9].

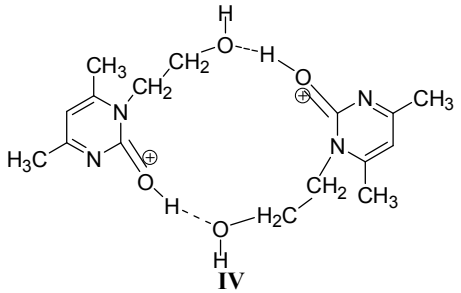
Изменение вязкости $\eta_{\text{отн}}$ 0.38%-ного раствора ПАК при добавлении в водный раствор Кси незначительно в области концентраций до $4 \cdot 10^{-2}$ М. В области более концентрированных растворов Кси отмечается экстремальное увеличение вязкости раствора (рис. 4).

В рамках высказанной аналогии процессов взаимодействия Кси с ПАК и насыщения биополимера специфическими лигандами можно предположить, что в области насыщения активных центров ПАК ксимедоном начинается процесс структурирования дисперсной системы. При концентрациях ПАК более 0.38% и высоких концентрациях Кси коллоидные растворы переходят в гелевое состояние.

С другой стороны, при накоплении избыточного количества ксимедона, как свободного лиганда, возможно образование циклических структур за счет водородных (внутри- и межмолекулярных) связей типа:



III



IV

В водных и биологических средах, включающих полисахариды, такие как Na-КМЦ, доминируют нековалентные взаимодействия, а именно, электростатическое притяжение разноименно заряженных групп; образование водородных связей (водородных мостиков) между полярными группами и донорами неподеленной пары электронов; ван-дер-ваальсовы взаимодействия, обусловленные притяжением постоянных или наведенных диполей.

С другой стороны, нековалентные взаимодействия являются исключительной особенностью оксопиримидиновых производных (в силу специфичности их электронной структуры), вследствие чего образуются нековалентные стопочные (стекинг) ассоциаты, обусловленные взаимодействием кето-групп пиримидинов с остатками ароматических аминокислот «периферических анионных пунктов» [5]. Следовательно, можно ожидать, что и комплексообра-

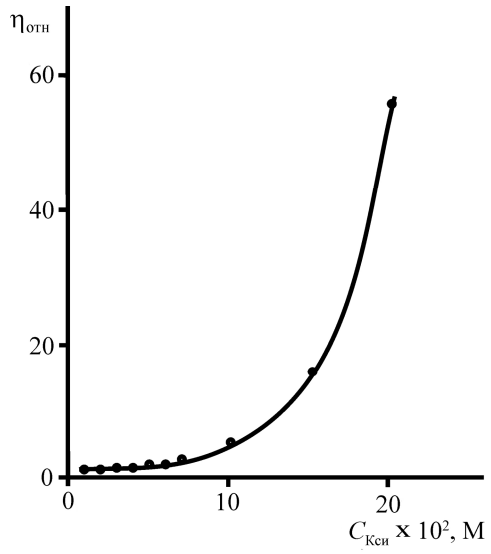


Рис. 4. Зависимость относительной вязкости от концентрации добавленного ксимедона в водный 0.38%-ный раствор ПАК

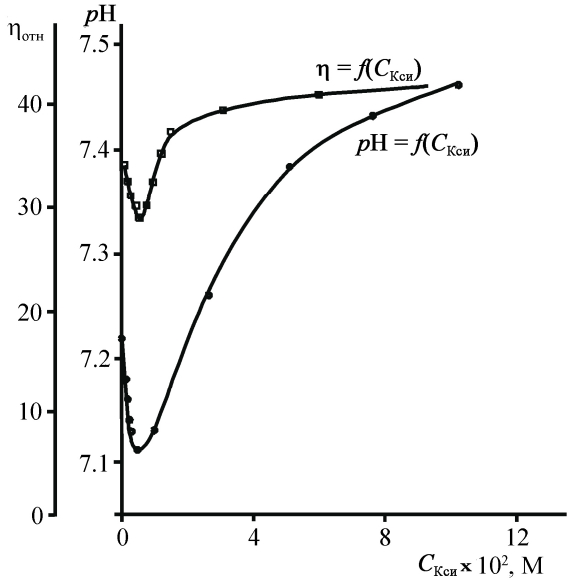


Рис. 5. Зависимость *p*H и $\eta_{отн}$ от концентрации ксимедона в 1%-ном водном растворе Na-КМЦ

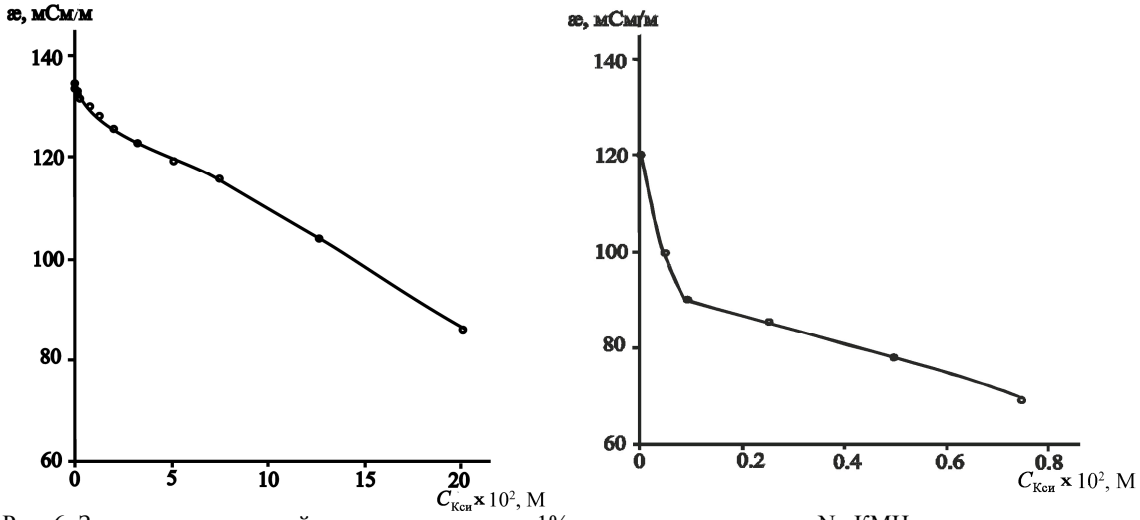


Рис. 6. Зависимость удельной электропроводности 1%-ного водного раствора Na-КМЦ от концентрации ксимедона в системе

зование кето-формы ксимедона с Na-КМЦ, имеющей анионную карбоксильную и карбоксилатную группы, происходит за счет нековалентных взаимодействий по механизму стопочного ассоциирования. Вероятно, вклад этого механизма реализуется при взаимодействии ксимедона и ПАК.

Критерием образования водородных связей, вклада электростатического взаимодействия при комплексообразовании является характер изменения кислотности, удельной электропроводности и относительной вязкости в системе (рис. 5, 6).

На первой стадии процесса в области разбавленных растворов полимера отмечается снижение *p*H в системе, что, вероятно, обусловлено связыванием ксимедона с Na-КМЦ в диссоциирующий комплекс:

$$\text{Н-КМЦ} + \text{Na-КМЦ} + \text{Кси} \rightarrow \text{КсиН}^{+}\cdot\text{КМЦ} + \text{Кси}\cdot\text{Na}^{+}\cdot\text{КМЦ}$$

$$\text{Н-КМЦ}\cdot\text{Кси} \rightarrow \text{Кси}\cdot\text{КМЦ} + \text{Н}^{+}.$$

Одновременное высвобождение протона приводит к снижению вязкости раствора и уменьшению удельной электропроводности (рис. 6).

Кривые зависимостей $pH = f(C_{Кси})$, $æ = f(C_{Кси})$ и $\eta = f(C_{Кси})$ имеют экстремум (или перегиб) в области малых концентраций ксимедона, что может характеризовать образование комплексов ксимедона с макромолекулами Na-КМЦ.

В области больших концентраций, вероятно, происходит сорбция ксимедона на развернутых цепях Na-КМЦ. В процессе сорбции осуществляется связывание протонов в Na-КМЦ ксимедоном, приводящее к повышению *p*H в системе.

Таким образом, на основании изучения зависимостей *p*H, удельной электропроводности и относительной вязкости растворов редкосшитой ПАК и Na-КМЦ от концентрации ксимедона в водной среде можно констатировать, что взаимодействие Кси с ВМС на начальном этапе протекает по различным механизмам.

На первой стадии взаимодействия ПАК с ксимедоном происходит связывание ксимедоном протонов, образующихся при диссоциации ПАК, что подтверждается сравнительным анализом ^{13}C ЯМР-спектров реакционной смеси и протонированной формы КсиН$^{+}$ в виде его гидрохлорида. Вторая стадия формально может быть описана в соответствии с теорией Скетчарда для поглощения лигандов биополимером.

При взаимодействии Na-КМЦ с Кси кривые зависимостей $pH = f(C_{Кси})$, $æ = f(C_{Кси})$, $\eta = f(C_{Кси})$ имеют экстремум (или перегиб) в области малых концентраций Кси, связанный, вероятно, с комплексообразованием, обусловленным нековалентными взаимодействиями (электростатическим, водородными связями и гидрофобными силами).

Список литературы

1. Штильман М.И. Полимеры медико-биологического назначения. М.: ИКЦ «Академ-книга», 2006. С. 115, 248.
2. Алюшин М.Т., Ли В.Н., Алексеев К.В. и др. Полимеры в фармации / Под ред. А.И. Тенцовой, М.Т. Алюшина. М.: Медицина, 1985. С. 254.
3. Галаев И.Ю. // Усп. химии. 1995. Т. 64. № 5. С. 505–524.
4. Лопатин В.В., Аскадский А.А. Полиакриламидные гели в медицине. М.: Научный мир, 2004. 264 с.
5. Филиппова О.Е. // Высокомолек. соед. Сер. С. 2000. Т. 42. № 12. С. 2328–2352.
6. Macromolecular Complexes in Chemistry and Biology / P.I. Drebin, J. Bock, R.M. Davies, D.N. Shuls, C. Thies (Eds.). Berlin: Springer–Verlag, 1994.
7. Kabanov V.A. // In: Macromolecular Complexes in Chemistry and Biology / P.L. Drebin, J. Bock, R. M. Davies, D. N. Shultz, C. Thies (Eds.). Berlin: Springer–Verlag, 1994. P. 151.
8. Соловьев М.Е., Соловьев М.М. Компьютерная химия. М.: СОЛОН-Пресс, 2005. 207 с.
9. Мецлер Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке. М.: Мир, 1980. Т. 1. 407 с.
10. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия: Учеб. для хим., биол., мед. спец. Вузов. М.: Высш. шк., 2002. С. 118–120.

INTERACTION OF CROSS-LINKED POLYACRYLIC ACID AND CARBOXYMETHYLCELLULOSE SODIUM SALT WITH XYMEDONE (1-(β-OXYETHYL)-4,6-DIMETHYL-1,2-DIHYDRO-2-OXOPYRIMIDINE) IN AN AQUEOUS MEDIUM

N.B. Melnikova, D.A. Panteleev, O.E. Zhil'tsova, A.A. Volkov, M.V. Gulenova, T.V.Salikova

An extreme dependence of pH, specific electrical conductivity, viscosity of carboxymethylcellulose sodium salt with xymedone (1-(β-oxyethyl)-4,6-dimethyl-1,2-dihydro-2-oxopyrimidine) in an aqueous medium on xymedone concentration has been found.

According to ^{13}C NMR spectra, xymedone reacts in an aqueous medium with polyacrylic acid and binds the protons resulting from the dissociation of polyacrylic acid, which leads to an increase in pH and a decrease in specific conductivity. It is shown that the interaction of xymedone with polyacrylic acid is similar to the ligand absorption by biopolymers and may be described in the approximation of the Scatchard theory.

Keywords: xymedone, pyrimidine, gel, cross-linked polyacrylic acid, carboxymethylcellulose sodium salt, complex formation of xymedone with biopolymers.