

**Модифицированные углеродные сорбенты медицинского назначения: разработка, синтез и исследование свойств**

**Дроздецкая М.С.**

аспирант

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем переработки углеводов Сибирского отделения Российской академии наук (ИППУ СО РАН)*

**АННОТАЦИЯ**

Разработаны методики синтеза углеродных сорбентов, модифицированных олигомерами гидроксикислот. Проведен обоснованный выбор модифицирующих кислот. С помощью метода  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии определены условия проведения поликонденсации гидроксикислот без сорбента. Синтез включают два основных этапа: пропитку углеродного сорбента водными растворами гидроксикислот различной концентрации и последующую многостадийную термообработку. Модифицированные гранулированные углеродные сорбенты содержат олигомеры гидроксикислот в количестве не менее 10-50 %, характеризуется мезопористой структурой и удельной площадью поверхности не более  $250 \text{ м}^2/\text{г}$  и общим объемом пор не более  $0,5 \text{ см}^3/\text{г}$ . В статье представлены основные результаты физико-химических исследований полученных углеродных материалов (текстурные характеристики, рельеф и морфология, качественный состав функциональных групп и др.). Проведены стендовые медико-биологические испытания модифицированных сорбентов и установлено, что они обладают высокими антибактериальными и антимикотическими свойствами по отношению к антибиотикорезистентным патогенным микроорганизмам и их смесям (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. Coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Candida albicans*, *Candida krusei* и др.). Показано, что разработанные модифицированные углеродные сорбенты представляют интерес в качестве аппликационных материалов.

*Ключевые слова:* углеродный сорбент, гликолевая кислота, молочная кислота, модифицирование, поликонденсация, физико-химические свойства, антибактериальные свойства, противогрибковые свойства.

**ВВЕДЕНИЕ**

Доминирующую роль в возникновении и развитии гнойно-воспалительных заболеваний и осложнений в хирургии, акушерстве, гинекологии играет грамположительная и грамотрицательная микрофлора (стафилококки, стрептококки, энтеробактерии), грибковые микроорганизмы (дрожжеподобные грибы). При этом большинство патогенных микроорганизмов проявляют полирезистентность к применяемым в лечении антибиотикам, антимикотикам (противогрибковым препаратам). Установлено, что видовой состав возбудителей и их свойства, антибиотикорезистентность, высокий уровень антилизоцимной активности обуславливают разнообразие клинических форм инфекционных заболеваний, затяжной характер гнойно-воспалительных процессов [1]. Несмотря на совершенствование

технологий и методов лечения, применение многообразных антибактериальных средств, профилактика и лечение гнойных ран имеет высокую социально-экономическую значимость. Нерациональное назначение антибиотиков без достаточного контроля за видовым составом возбудителей, их различной чувствительности к антибактериальным препаратам является причиной возникновения полирезистентности микроорганизмов [2]. Все это стимулирует поиск новых антибактериальных и противогрибковых средств, отличающихся по механизму действия от антибиотиков и обладающих биоспецифическими свойствами.

Известно, что роль сорбционных материалов в медицине значительна. Благодаря своей развитой пористой структуре углеродные материалы эффективно применяются для детоксикации организма и используются при гемо-, энтеросорбции и аппликации. Они связывают на своей поверхности токсические вещества и выводят их из организма естественным путем, через раневое отделяемое и др. [3-5]. Однако использование неселективных сорбентов значительно осложняет их прогнозируемое применение и может привести к негативным последствиям, в частности, из-за неспецифической сорбции полезных для организма веществ - гормонов, витаминов, ферментов. Поэтому актуальным направлением в развитии методов сорбционной терапии стали разработка и использование селективных и биоспецифических сорбентов.

В ИППУ СО РАН многие годы активно развивается данное направление, связанное с разработкой модифицированных углеродных сорбентов с антибактериальными, антимикотическими, противовоспалительными свойствами и др. [3, 4, 6, 7]. В качестве модификаторов используют биологически активные вещества с биоспецифическими свойствами. Органические  $\alpha$ -гидроксикислоты (гликолевая, молочная кислоты) и их производные отвечают всем требованиям медицины. Данные гидроксикислоты характеризуются небольшим размером молекул с молекулярной массой менее 100 г/моль (гликолевая кислота - 76,05 г/моль,  $5,3 \text{ \AA} \times 3,1 \text{ \AA}$ ; молочная кислота - 90,08 г/моль,  $5,2 \text{ \AA} \times 3,8 \text{ \AA}$ ). Они играют важную роль во многих биохимических процессах организма, легко проникают в клетки и ткани, обеспечивает оптимальную кислотность биологических сред [8]. Молочная кислота зарегистрирована в Агенстве охраны окружающей среды (США) как антимикробное и биохимическое соединение [9], имеет статус «безвредна», может использоваться как пищевая добавка в качестве консерванта E270. Гликолевая (ГК) и молочная (МК) кислоты образуют алифатические биоразлагаемые полиэфиры путем реакции поликонденсации за счет карбоксильной и гидроксильной групп в их составе [10, 11]. Преимущества данных соединений – регулируемые физико-химические и механические свойства, биосовместимость,

нетоксичность, способность к биоразложению в биологических средах [11-14].  $\alpha$ -Гидроксикислоты и их полиэфиры представляют класс соединений, который широко используется для микроинкапсулирования (доставки) лекарственных средств, в составе имплантов, шовных хирургических нитей, раневых покрытий, в косметических, дерматологических, фармацевтических целях [9-11, 14-16]. Гликолевая и молочная кислоты обладают антибактериальными, противовоспалительными, противовирусными свойствами. L-изомер молочной кислоты является биологически значимой формой для человека и животных. Известно, что молочная кислота обладает антибактериальным действием при концентрации не менее 0,5%, что обеспечивает низкое значение pH среды на уровне 2,7-4,5. Поддержание кислой среды ( $\text{pH} \leq 4$ ) - важнейший контролирующий фактор, сдерживающий колонизацию возбудителей, так как кислая среда благоприятна для жизнедеятельности нормальной микрофлоры организма (желудка, влагалища), но губительна для патогенных микроорганизмов [12, 13].

*Цель работы* – разработка, синтез и исследование физико-химических, медико-биологических свойств углеродных сорбентов, модифицированных полимерами гидроксикислот и перспективных для аппликационной медицины.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### *Материалы*

В качестве исходного материала был взят углеродный сорбент с развитой мезопористой структурой, удельной площадью поверхности 300-400 м<sup>2</sup>/г, высокой химической чистотой (зольность не более 0,15%, содержание углерода 99,5 мас. %) (ТУ 2162 – 006 – 71069834 - 2008, ИППУ СО РАН, г. Омск). В качестве модификатора использованы 80% раствор молочной кислоты, Китай и 99 мас. % гликолевая кислота производства «Merk Schuchardt OHG», Германия.

### *Методы исследования.*

Физико-химические свойства исследуемых образцов были изучены на основе приборной базы ИППУ СО РАН и Омского регионального центра коллективного пользования СО РАН (ОмЦКП СО РАН).

Анализ исходных органических гидроксикислот, синтезированных продуктов их поликонденсации без сорбента проводили методом ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H на ЯМР спектрометре «Avance-400», Bruker, США.

Методом термического анализа (ТГ-ДТГ-ДТА) на приборе DTG-60H (SHIMADZU, Япония) непосредственно контролировали процесс модифицирования углеродного сорбента гликолевой, молочной кислотой, их смесью с последующей поликонденсацией.

Метод регистрирует температуры выделения тепловых эффектов и массы удаляемых модификаторов при окислении [17]. Точность определения температуры составляла - 1°C, а изменения веса 0,1%. Съёмки проводились в атмосфере воздуха, в интервале температур от комнатной до 600°C, навеска образца составляла 10 мг, скорость подъёма температуры 10°C/мин. Для исследуемых образцов получены термограммы, определен температурный интервал разложения полимеров гидроксикислот.

Текстурные характеристики исследуемых образцов углеродного сорбента (удельная площадь поверхности; суммарный объем пор; объем микро-, мезопор) определяли методом низкотемпературной адсорбции азота на анализаторе Gemini 2380 (Micromeritics, США). Определение  $S_{\text{ВЕТ}}$  проводили из изотерм адсорбции в области относительных равновесных давлений паров азота  $P/P_0=0,05-0,3$ , определение удельного объема пор - при  $P/P_0=0,96$ . Предварительно образцы термотренировали в вакууме при температуре 300°C (исходный образец) и 25°C (модифицированные образцы) в течение 6-8 часов.

Методом растровой электронной микроскопии с использованием электронного микроскопа JSM-6460LV «JEOL» была изучена морфология и рельеф поверхности исследуемых образцов. Методика пробоподготовки заключается в вакуумном напылении на образец золотой пленки толщиной 10 – 15 нм. Для исследования были взяты 6-10 гранул образцов сорбента. Для получения контрастных электронных микроизображений поверхности съёмку проводили при напряжении 15-20 кВт и силе тока 10-30 мА [18].

Элементный CHNOS анализ выполняли на анализаторе Vario EL Cube (Elementar, Германия). Содержание углерода, водорода и серы находили путем сжигания навески материала в струе кислорода с последующим определением продуктов окисления (воды, углекислого газа, диоксида серы). Компоненты газовой смеси разделяли на адсорбционных колонках с последующим детектированием на катарометре (детекторе по теплопроводности). В режиме измерения кислорода разложение образцов происходит в кварцевой трубке, заполненной сажой. Анализируемое вещество разлагается в восстановительной газовой среде. Образующийся монооксид углерода адсорбируется на адсорбционной колонке и после десорбции детектируется катарометром.

Качественный состав функциональных групп на поверхности исследуемых образцов изучали методом инфракрасной спектроскопии. ИК спектры регистрировали на спектрометре NICOLET-5700 (Thermo Fisher Scientific, США) и обрабатывали в программном пакете «ORIGIN» для коррекции базовой линии и сглаживания фона.

Исследование десорбции (миграции) нанесенного олигомера молочной кислоты после контакта модифицированного сорбента с физиологическим раствором (0,9% водный

раствор NaCl) проводили по методике с использованием методов рН-метрии и ЯМР спектроскопии [19].

Стендовые медико-биологические испытания исходного и модифицированных сорбентов «in vitro» проводили в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ (ОмГМУ) в Центральной научно-исследовательской лаборатории и на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии.

Антибактериальные свойства исследуемых сорбентов изучали по отношению к микроорганизмам грамположительных, грамотрицательных патогенных бактерий и к смеси этих культур, предварительно исследованных на устойчивость к антибиотикам. Антимикотические свойства сорбентов оценивали по отношению к патогенным дрожжеподобным грибам. Согласно полученным результатам все используемые микроорганизмы были антибиотикорезистентны.

В микробиологических исследованиях использовали следующие микроорганизмы: грамположительные бактерии (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* и др.); грамотрицательные бактерии (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*); дрожжеподобные грибковые культуры рода *Candida* (*Candida albicans* и *Candida krusei*); смеси бактериальных культур (*St.aureus*+*Ps.aeruginosae*; *St.aureus*+*Kl.pneumoniae*; *St.aureus*+*Kl.pneumoniae*+*Ps.aeruginosae* + *Es.coli* и др.); бактериально-грибковую ассоциацию культур (*S. aureus* + *C. albicans*).

Идентификацию микроорганизмов проводили на тест-системах производства PLIVA -Lachema Diagnostica (Чехия) в компьютерной программе «МИКРОБ Автомат».

Все исследуемые смеси испытуемых культур готовили смешением равных объемов приготовленных рабочих концентраций микробных клеток с перемешиванием. Перемешивание смеси культур осуществляли на вортекс-встряхивателе (ELMI, Латвия).

Для оценки антибактериальных и антимикотических свойств углеродных сорбентов использовали метод прямого посева на питательные среды [20], а также диско-диффузионный метод (агар-диффузионный метод) по разработанным методикам [21]. Чтобы оценить эффективность исследуемых углеродных сорбентов, в каждом случае измеряли диаметр зоны задержки (подавления) роста микроорганизмов. В случаях, если диаметр зоны задержки роста микробов составлял от 10 до 15 мм, считают, что сорбент проявляет слабое антибактериальное, антимикотическое действие. Если диаметр зоны подавления роста составлял от 15 до 20 мм, то сорбент обладает умеренно выраженным действием. При диаметре зоны подавления роста более 20 мм считают, что сорбент

проявляет сильно выраженные биоспецифические свойства. Отсутствие зоны задержки роста микробов вокруг дисков свидетельствовало об отсутствии у сорбентов антибактериальных или антимикотических свойств.

Рабочее разведение для опыта методом прямого посева: бактериальные клетки  $\sim 10^3$  КОЕ (колоний образующих единиц) в 1 мл, культуры рода *Candida* – 280-360 КОЕ в 1 мл. Контролем служили посеvy рабочих разведений испытуемых культур. Рабочее разведение для опыта агар-диффузионным методом: бактериальные клетки - 0,5 по McFarland  $1,5 \cdot 10^8$  КОЕ в 1 мл; культуры рода *Candida* -  $500 \times 10^6$  КОЕ/мл.

Концентрацию микробных клеток устанавливали на приборе для определения мутности суспензий Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema, Италия).

Стерилизацию сорбентов перед проведением стендовых медико-биологических испытаний проводили насыщенным паром при избыточном давлении  $0,11 \pm 0,02$  МПа и температуре  $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$  в автоклаве.

Проводили по три параллельных испытания и за результат испытаний принимали среднее значение.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### *Разработка методик модифицирования углеродных сорбентов, модифицированных полимерами гликолевой, молочной кислот либо их сополимером.*

Изучив известные способы получения полимеров гидроксикислот [15, 22-25], предварительно отработаны условия проведения поликонденсации гидроксикислот в расплаве (без сорбента). Варьировалась температура термообработки ( $130$ - $230^\circ\text{C}$ ) и продолжительность синтеза (2-20 ч.), соотношение гликолевой и молочной кислот в случае синтеза сополимера (50/50 мас. %, 70/30 мас. %). Контроль процессов поликонденсации проведен с использованием методов ЯМР спектроскопии и термического анализа [24]. По результатам  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии установлено, что в оптимальных условиях синтеза получают олигомеры гидроксикислот (молекулярная масса  $\sim 500$ - $1000$  г/моль) без примесей исходных мономеров, ди- и тримеров.

В качестве примера приведены полученные  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектры синтезированного олигомера молочной кислоты в оптимальных условиях, растворенного в ацетоне (рис. 1). Условия синтеза олигомера МК: 80% раствор МК нагревали при температуре  $125$ - $135^\circ\text{C}$  в течение 2 ч. (1 стадия термообработки), затем повышали температуру до  $145$ - $155^\circ\text{C}$  и проводили поликонденсацию в течение 4 ч. (2 стадия термообработки). Образованный продукт переносили в трубчатую печь и осуществляли термообработку при температуре  $165$ - $175^\circ\text{C}$  в течение 20 ч. (3 стадия термообработки) в токе инертного газа (аргона) со скоростью 2,4 мл/мин в присутствии цеолита типа CaX для предотвращения осмоления

реакционной смеси, удаления низкомолекулярных продуктов, образующихся в процессе поликонденсации, очистки синтезированного олигомера от летучих примесей. По данным ЯМР спектроскопии было также установлено, что снижение температуры на 3 стадии термообработки до 145-155°C и сокращение ее продолжительности до 7-14 ч. не позволяет получить олигомеры МК, т.к. образуется смесь ди- и тримеров с примесью исходного мономера МК и циклического олигомера.

$^{13}\text{C}$  ЯМР спектр имеет сигнал с химическим сдвигом 29,6 м.д., который относится к линейным олигомерам молочной кислоты (рис. 1). Полученные сигналы в области 204,9 м.д., согласно литературным данным, соответствуют карбонатным карбоксилам и карбоксилам олигомолочной кислоты [26]. Анализ данных показал, что образцы олигомеров МК не содержат исходной молочной кислоты и ее низкомолекулярных производных (димеров, тримеров). Согласно расчетным спектрам ЯМР установлено, что среднее количество мономерных звеньев  $\geq 10$  (М.М. образованного продукта МК  $\geq 700$  г/моль).

Таким образом, при установленных параметрах термообработки проведена поликонденсация гидроксикислот на углеродном сорбенте. Разработаны методики модифицирования углеродного сорбента олигомерами гидроксикислот без использования катализаторов и органических растворителей. Синтез включают два основных процесса: пропитку углеродного сорбента водными растворами гидроксикислот различной концентрации и последующую многостадийную термообработку.

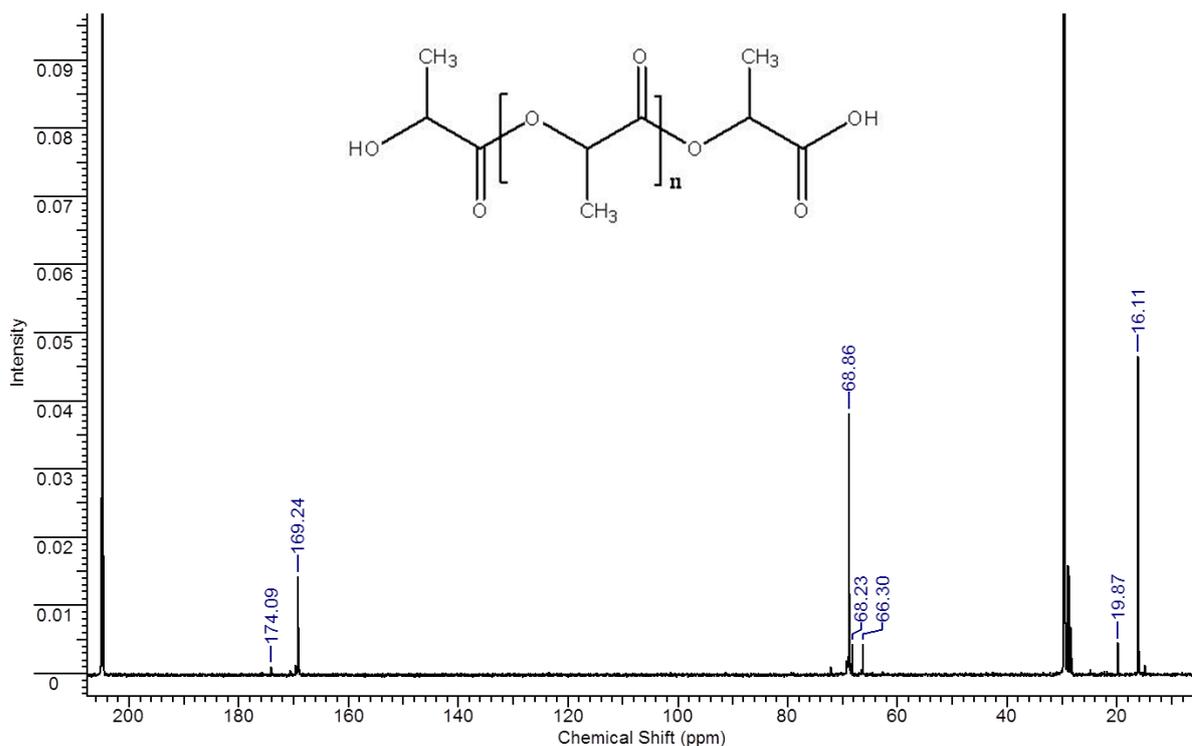


Рис. 1.  $^{13}\text{C}$  спектр ЯМР полученных продуктов поликонденсации молочной кислоты.

*Разработанная методика модифицирования углеродного сорбента олигомером гликолевой кислоты включает 3 этапа (способ 1):*

- пропитка гранул углеродного сорбента 50% водным раствором гликолевой кислоты в статических условиях в течение 8 часов при комнатной температуре и соотношении сорбент / раствор ГК=1/2 (по массе);
- сушка в течение часа при температуре  $105\pm 2^\circ\text{C}$ ;
- термообработка углеродного сорбента, пропитанного раствором гликолевой кислоты, при температуре  $195\pm 5^\circ\text{C}$  в течение 1 часа и при температуре  $225\pm 5^\circ\text{C}$  не менее 5 часов.

*Разработанная методика модифицирования углеродного сорбента олигомером молочной кислоты (способ 2) состоит из двух этапов:*

- 1) пропитка углеродного сорбента водным раствором молочной кислоты с концентрацией 50% при комнатной температуре в течение 24 ч. при соотношении сорбент / раствор МК = 1 / 2 (по массе) в статических условиях;
- 2) продолжительная термообработка сорбента на воздухе на песчаной бане при температуре  $125-135^\circ\text{C}$  в течение 2 ч. и при температуре  $145-155^\circ\text{C}$  в течение 4 ч. с последующим нагревом в трубчатой печи при температуре  $165-175^\circ\text{C}$  в течение 20 ч. в токе аргона в присутствии цеолита СаХ в качестве осушителя.

*Разработанная методика модифицирования углеродного сорбента сополимером гликолевой и молочной кислот (способ 3) состоит из трех этапов:*

- 1) пропитка углеродного сорбента водным раствором гидроксикислот с соотношением ГК/МК = 70/30 мас. % в течение 24 ч. при соотношении сорбент / раствор гидроксикислот = 1 / 2 (по массе) и комнатной температуре;
- 2) сушка сорбента на масляной бане в течение 1 ч. при температуре  $103-107^\circ\text{C}$ ;
- 3) продолжительная термообработка сорбента на масляной бане в присутствии цеолита СаХ в качестве осушителя при температуре  $160-170^\circ\text{C}$  не менее 13 ч. с последующим нагревом в трубчатой печи при температуре  $170-180^\circ\text{C}$  в токе аргона не менее 6 ч.

Согласно выбранным параметрам и условиям синтеза получены образцы углеродного сорбента (образец УС), модифицированные олигомером гликолевой кислоты (образец ГТ), олигомером молочной кислоты (образец МТ), сополимером гликолевой и молочной кислот (образец ГМТ).

*Исследование влияния процессов поликонденсации гидроксикислот на углеродном сорбенте на его физико-химические свойства*

Модифицирование углеродного сорбента по предлагаемому способу выбранными модификаторами с их последующей поликонденсацией, приводит к значительному снижению удельной площади поверхности и суммарного объема пор, увеличению

содержания кислорода в элементном составе, изменению качественного состава функциональных групп сорбента. Стадии пропитки и продолжительной термообработки главным образом влияют на изменение физико-химических свойств исходного сорбента.

Методом термического анализа (ТГ-ДТГ-ДТА) получены соответствующие термограммы исследуемых сорбентов (рис. 2). Установлено, что на кривой дифференциально-термического анализа (ДТА) исходного образца УС в интервале температур 25-650°C экзотермические и эндотермические пики (тепловые эффекты) не наблюдаются. Это связано с тем, что данный образец представляет собой прочный углерод-углеродный композиционный материал, который на воздухе начинает медленно окисляться с потерей массы лишь при температурах выше 650°C [3]. Окислительная деструкция нанесенного олигомера гликолевой кислоты (образец ГТ) наблюдается в области температур 290-300°C (потеря массы 12%), олигомера молочной кислоты (образец МТ) - при температуре 350-400°C (потеря массы 45%), сополимера гликолевой и молочной кислот (образец ГМТ) - в области температур 340-370°C (потеря массы 31%). Наблюдаемые экзотермические пики достаточно равномерны, одной формы. Это может свидетельствовать о том, что продукты поликонденсации гидроксикислот для всех образцов однородны, не содержат низкомолекулярных примесей. Полученные результаты согласуются с литературными данными о свойствах сополимера ГК и МК, олигомеров ГК, МК [25, 27]. Метод термического анализа подтверждает полноту протекания процесса модифицирования углеродного сорбента олигомерами гидроксикислот.

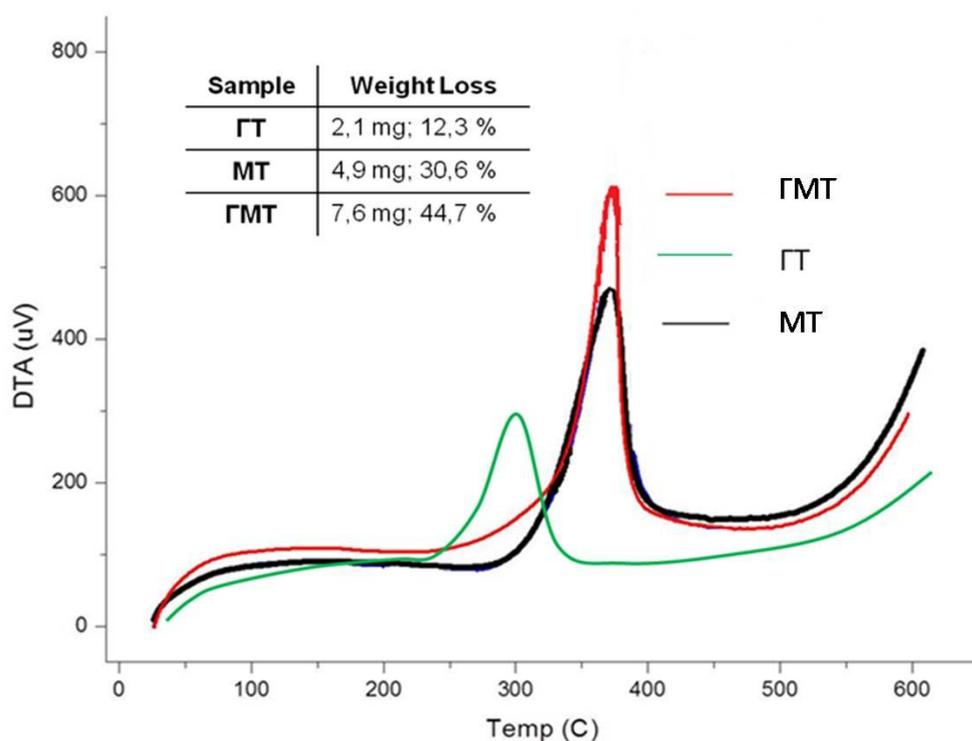


Рис. 2 Термограммы образцов модифицированного сорбента.

Результаты, характеризующие изменения параметров пористой структуры и химического состава образцов модифицированного углеродного сорбента, полученных по соответствующим методикам, приведены в таблице 1 и 2. При модифицировании углеродного сорбента по разработанным методикам (способы 1-3) за счет увеличения содержания нанесенных олигомеров/сополимера гидроксикислот закономерно снижается удельная площадь поверхности от 377 м<sup>2</sup>/г до 8 м<sup>2</sup>/г, суммарный объем пор от 0,624 до 0,029 см<sup>3</sup>/г; содержание углерода от 98,46 до 73,46 мас. %; заметно увеличивается содержание кислорода от 0,96 до 24,47 мас. %. При этом характер мезопористой структуры сорбента сохраняется. Полученные данные подтверждают образование олигомеров гидроксикислот на образцах модифицированного углеродного сорбента.

Таблица 1. Текстуальные характеристики исследуемых образцов

Образец	Удельная площадь поверхности, м <sup>2</sup> /г	Суммарный объем пор, см <sup>3</sup> /г	Объем мезопор, см <sup>3</sup> /г
УС	377	0,624	0,616
ГТ	186	0,411	0,411
МТ	29	0,116	0,116
ГМТ	8	0,029	0,028

Таблица 2. Физико-химические характеристики исследуемых образцов углеродного сорбента

Образец	Среднее содержание элемента, мас. %				рН NaCl после контакта с образцом
	С	Н	S	О	
УС	98,46±0,26	0,28±0,08	0,22±0,08	<b>0,96±0,07</b>	6,4±0,3
ГТ	88,96±0,32	0,70±0,02	0,09±0,03	<b>8,2±0,20</b>	2,7±0,5
МТ	82,32±0,08	1,90±0,02	0,08±0,02	<b>15,31±0,11</b>	1,9±0,3
ГМТ	73,46 ± 0,45	1,97±0,05	0,10 ± 0,11	<b>24,47 ± 0,39</b>	3,6±0,6

Модифицирование углеродного сорбента олигомерами/сополимером гидроксикислот приводит к появлению интенсивных п.п. в ИК спектрах (рис. 3). По сравнению с исходным образцом частота колебаний связи -C=O, -C-O- сложноэфирной группы модифицированных образцов смещается в высокочастотную область (1743-1748

см<sup>-1</sup>), что свидетельствует об образовании олигомеров/сополимера гидроксикислот на сорбенте [27].

Также при модифицировании происходит изменение морфологии и рельефа исходного сорбента: модификаторы экранируют углеродную поверхность в виде полимерной пленки, состоящей из мелких частиц размером менее 1 мкм, расположенных преимущественно в дефектах поверхности (рис. 4).

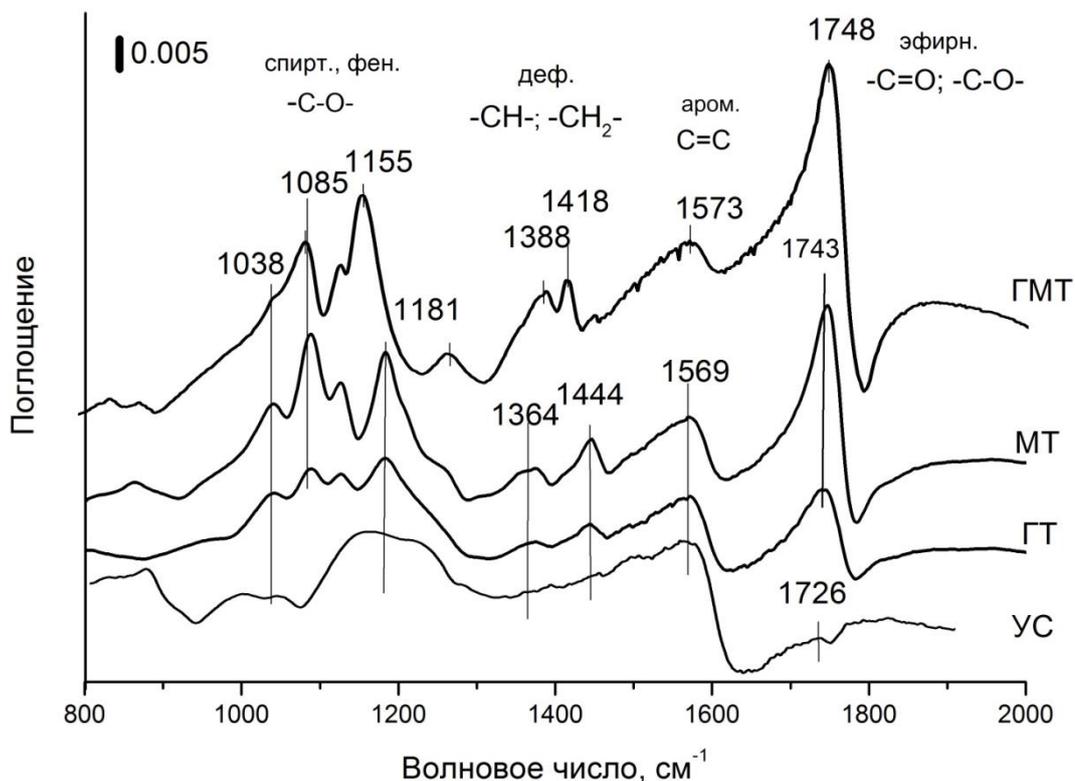
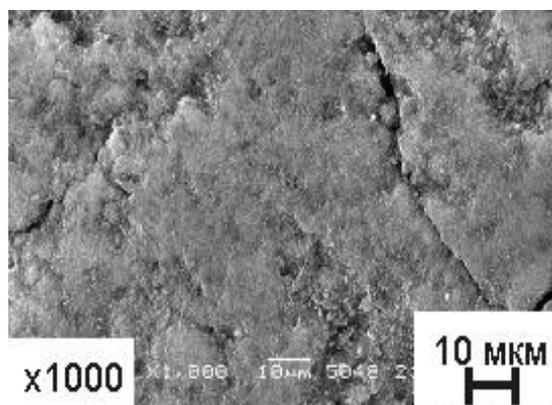
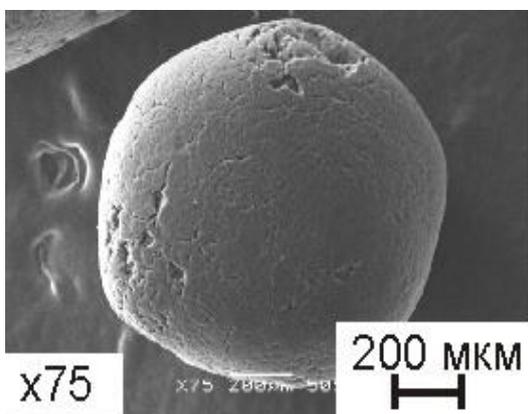
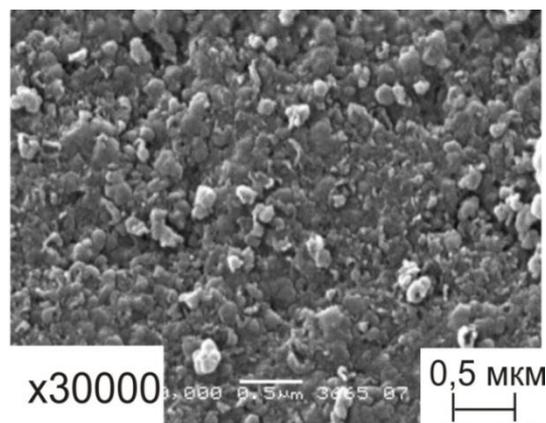
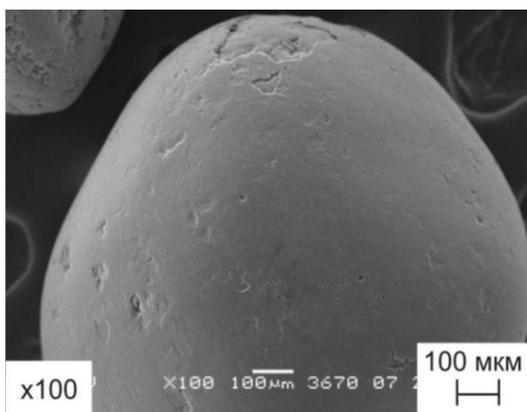


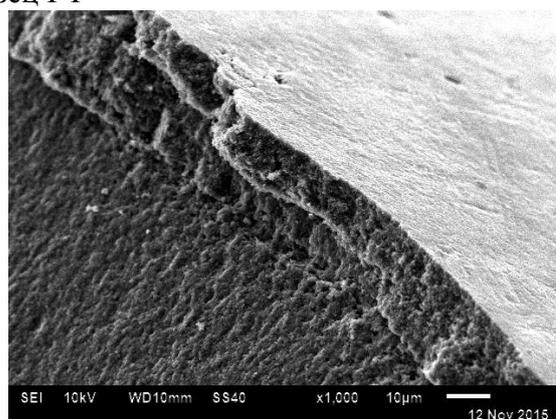
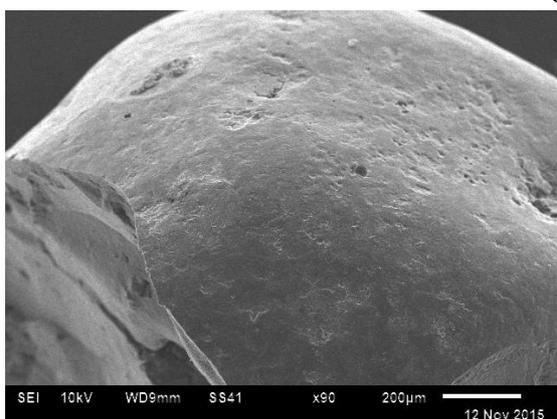
Рис. 3 ИК спектры исследуемых образцов: образец УС – углеродный сорбент до модифицирования; образец ГТ – углеродный сорбент, пропитанный 50% раствором ГК с последующей поликонденсацией; образец МТ – углеродный сорбент, пропитанный 50% раствором МК с последующей поликонденсацией; образец ГМТ – углеродный сорбент, пропитанный смесью ГК и МК 70/30 мас. % с последующей поликонденсацией.



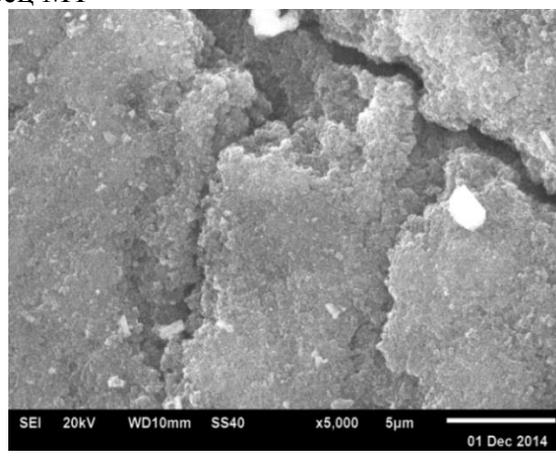
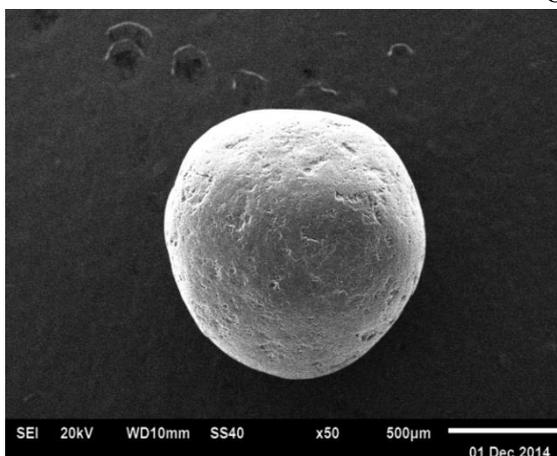
а)  
Образец УС



б)  
Образец ГТ



в)  
Образец МТ



г)  
Образец ГМТ

Рис. 4 Электронно-микроскопические снимки гранул и поверхности исследуемых образцов при различном увеличении: а) образец УС; б) углеродный сорбент, модифицированный олигомером гликолевой кислоты (образец ГТ); в) углеродный сорбент, модифицированный олигомером молочной кислоты (образец МТ); г) – углеродный сорбент, модифицированный сополимером гидроксикислот (образец ГМТ).

Изучена возможность десорбции (миграции) олигомеров гидроксикислот с поверхности модифицированного сорбента при контакте модифицированного сорбента с физиологическим 0,9% раствором NaCl ( $pH_{исх}=6,3-6,5$ ) в течение 30 суток методом  $^1H$

ЯМР спектроскопии. Исследование показало, что для образца углеродного сорбента, модифицированного олигомером гликолевой кислоты, после контакта с NaCl в течение 30 суток в раствор переходит до 3-4% ГК и уровень pH снижается до 2,7. Установлено, что для образца углеродного сорбента, модифицированного сополимером гликолевой и молочной кислот, в течение 30 суток в раствор переходит около 0,9% ГК и 0,1% МК (на рис. 5 сигналы невысокой интенсивности при 1-2 и 4 м.д. соответствуют гидроксикислотам; широкие пики в области 4-6 м.д. относятся к сигналу воды). Также зарегистрированы сигналы димеров в количестве менее 0,5%, являющиеся продуктами гидролиза сополимера ГК и МК (рис. 5). Уровень pH снижается до 3,5-3,6. Изучение десорбции олигомеров молочной кислоты с модифицированных образцов проводили при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  (модельные условия) [19]. Для образцов углеродного сорбента, модифицированных олигомером молочной кислоты, после контакта с NaCl в течение 30 суток в раствор переходит до 10% МК с примесью димера, тримера. Уровень pH снижается до 1,7-1,9 (табл. 2).

Таким образом, методами pH-метрии и ЯМР спектроскопии установлено, при контакте модифицированных сорбентов с физиологическим раствором происходит постепенное снижение pH раствора от 6,4 до 1,8: полимерные цепи расщепляются путем гидролиза сложноэфирных связей до мономерных звеньев, происходит постепенная десорбция модификатора в виде моно-, ди- и тримеров с поверхности сорбента (продолжительное действие материала).

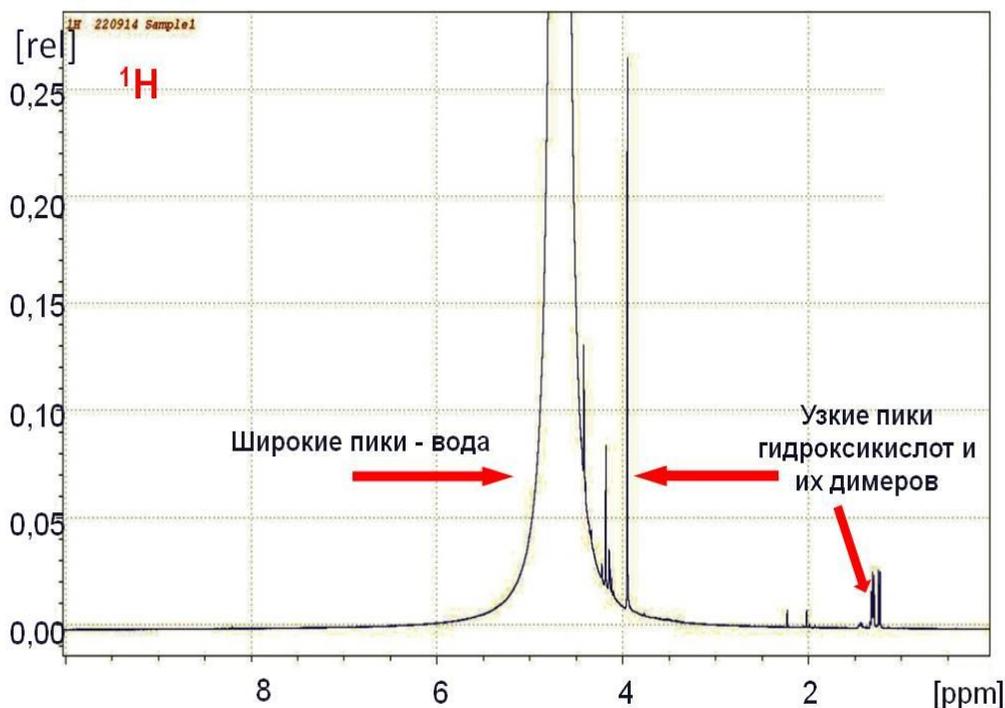


Рис. 5.  $^1\text{H}$  ЯМР спектр водного раствора после контакта с сорбентом, модифицированным сополимером гидроксикислот (образцом ГМТ), в течение 28 суток.

По результатам проведенных медико-биологических испытаний методом прямого посева на питательные среды установлено, что исходный углеродный сорбент проявляет слабое антибактериальное действие только по отношению к грамположительным бактериям (*St. aureus*, *Str. pyogenes*) при времени контакта не менее 24 ч. Сорбент, модифицированный олигомером гликолевой кислоты (способ 1, образец ГТ), обладает антибактериальным действием по отношению к грамположительным и грамотрицательным монокультурам *St. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *Kl. pneumonia*, *E. coli* и их смесям (бактерии чувствительны при времени контакта не менее 3 часов). Установлено, что модифицированный сорбент ГТ проявляет также антимикотические свойства по отношению к патогенным дрожжеподобным грибам *C. albicans* и *C. krusei* при времени контакта не менее 1 и 3 часов соответственно (рис.6).

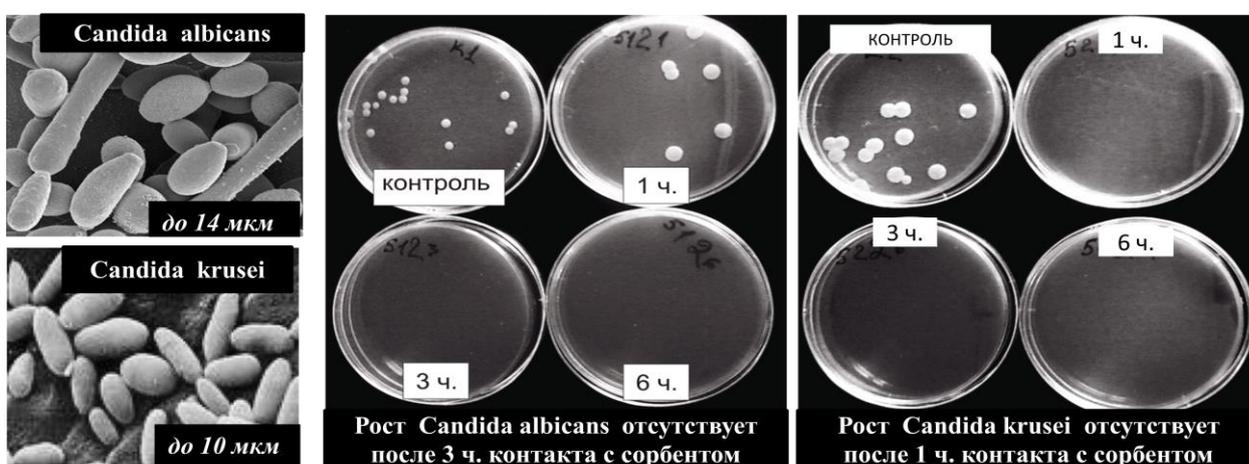


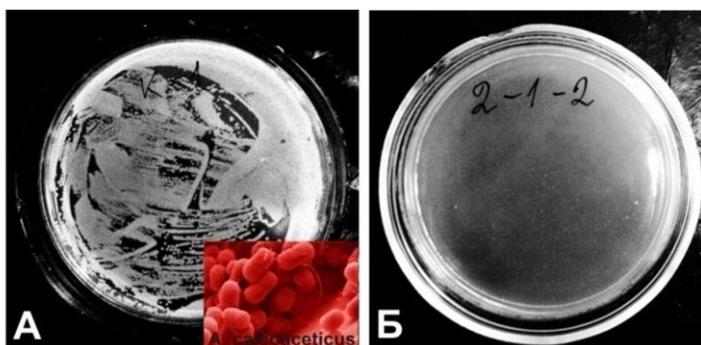
Рис. 6 Результаты оценки антимикотических свойств углеродного сорбента, модифицированного олигомером гликолевой кислоты (образец ГТ).

Полученные результаты исследований диско-диффузионным методом свидетельствуют о том, что образец ГТ проявляет умеренную биоспецифическую активность по отношению к патогенным микроорганизмам (диаметр зоны задержки роста культуры 15-20 мм).

Образцы углеродного сорбента, модифицированного олигомером молочной кислоты (способ 2, образец МТ), проявляют умеренно выраженную антибактериальную активность по отношению к микроорганизмам *St. aureus*, *St. epidermidis*, *St.pyogenes*, *Str.agalactiae*, *E. faecalis*, *Ps. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*. Образцы обладают сильно выраженным антимикотическим действием по отношению к культурам дрожжеподобных грибов *C. albicans* (чувствительны при времени контакта не менее 1 ч.). Установлено, что исследуемые образцы модифицированного сорбента обладают выраженными антимикробными свойствами по отношению к бактериально-грибковой ассоциации культур *St.aureus+C.albicans* (при времени контакта не менее 1 ч.). Полученные результаты исследований диско-диффузионным методом свидетельствуют о том, что образец МТ

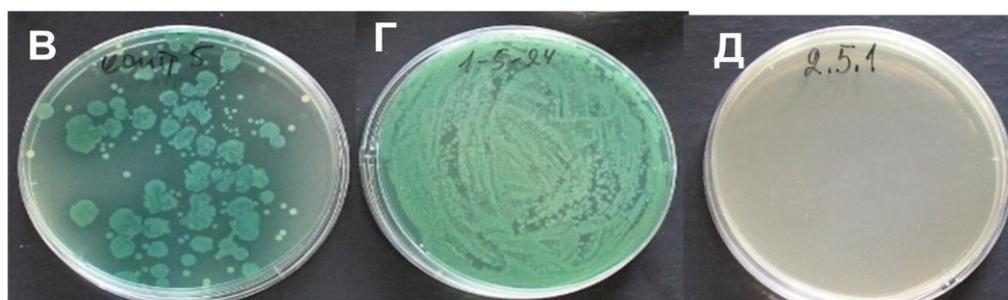
проявляет сильно выраженную биоспецифическую активность по отношению к патогенным микроорганизмам, бактериально-грибковым ассоциациям (диаметр зоны задержки роста культуры более 20 мм).

Образец, модифицированный сополимером гликолевой и молочной кислот (способ 3, образец ГМТ), проявляет антибактериальную активность по отношению к патогенным монокультурам *St. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *Kl. pneumoniae* и их смесям. Кроме того установлено, что модифицированный сорбент активен по отношению к антибиотикорезистентной грамотрицательной бактерии *Ac. calcoaceticus* (возбудитель тяжелых инфекционных заболеваний, включая менингит, бактериальный эндокардит, пневмонию, сепсис и т.д.) и в отношении антибиотикорезистентных дрожжеподобных грибов рода *C. krusei* (возбудитель внутрибольничных инфекций, кандидоза, кандидозного перитонита и др.). Антибактериальное и антимикотическое действие данного образца отмечается уже после первого часа контакта с микроорганизмами (рис. 7).



**А**  
**Acinetobacter  
calcoaceticus  
(контроль)**

**Б**  
**после 1ч. контакта  
с образцом ГМТ**



**В**  
**Смесь *S. Aureus*,  
*P. Aeruginosa*  
(контроль)**

**Г**  
**после 24 ч. контакта  
с образцом УС**

**Д**  
**после 1ч. контакта  
с образцом УС-ГМТ**

Рис. 7. Результаты оценки антибактериальных свойств углеродного сорбента, модифицированного сополимером гидроксикислот (образец ГМТ), по отношению к грамотрицательной бактерии *Acinetobacter calcoaceticus* (А, Б), а также по отношению к смеси бактериальных культур *S. aureus*, *P. aeruginosa* (В-Д).

Полученные результаты исследований диско-диффузионным методом свидетельствуют о том, что образец ГМТ проявляет сильно выраженную биоспецифическую активность по отношению к патогенным микроорганизмам (диаметр зоны задержки роста культуры более 20 мм).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено влияние условий модифицирования на физико-химические характеристики исследуемых образцов. Данные способы модифицирования позволяют нанести на поверхность углеродного сорбента 10-50% олигомеров гидроксикислот. Таким образом, синтезируемые материалы обладают регулируемыми характеристиками: количество нанесенного модификатора, удельная площадь поверхности, объем пор углеродного сорбента, элементный состав сорбента. Отличительными особенностями предложенных способов является: проведение процессов без применения катализаторов или растворителей, проявляющих токсичность; образование полимеров непосредственно в порах углеродного материала «in situ».

Высокие антибактериальные и антимикотические свойства модифицированных образцов углеродного сорбента по сравнению с исходным сорбентом объясняются кислотно-основными свойствами нанесенного олигомера гидроксикислоты: при контакте олигомера с биологической средой снижается рН. Результаты проведенных исследований методами рН-метрии и ЯМР спектроскопии свидетельствуют о том, что при взаимодействии модифицированных сорбентов с физиологическим раствором происходит постепенная миграция нанесенных олигомеров ГК, МК и ГМК в виде моно-, ди- и тримеров (гидролиз сложных эфиров гидроксикислот). Происходит локальное «закисление» среды, что является губительным фактором для жизнедеятельности патогенных микроорганизмов. Предполагаемые механизмы биоспецифического действия разработанных материалов заключаются в особенностях нанесенных модификаторов и образуемых ими полимерных соединений.

Известно, что гликолевая и молочная кислоты, благодаря гидрофильным свойствам и небольшому размеру, способны проникать через клеточную мембрану бактериальной клетки и изменять ее кислотно-основной баланс [9, 13, 28]. Чем тоньше мембрана бактериальной клетки, тем она чувствительнее к изменениям рН. В литературе рассматриваются несколько возможных процессов, протекающих в бактериальной клетке при проникновении в нее молекул кислот, которые могут привести к разрушению и гибели бактериальной клетки. Нарушение кислотно-основного баланса внутренней среды клетки за счет резкого снижения рН приводит к возникновению «кислотного стресса» или

«оксидативного стресса». Жизнедеятельность клетки снижается за счет потери энергии, которая тратится на восстановление рН ее внутренней среды или нормализацию функционирования внутренней электронной транспортной цепи. В первом случае, энергия клетки затрачивается: на процесс удаления во внешнюю среду собственных кислот, продуцируемых в результате жизнедеятельности; на синтез метаболитов с основными группами. В случае «оксидативного стресса» энергия клетки расходуется на синтез свободных радикалов для восстановления клеточных механизмов (метаболизма окислительных реакций, электронно-транспортной системы).

Таким образом, разработанные углеродные сорбенты являются перспективными материалами для медицины, в том числе ветеринарной, так как расширяют возможности сорбционной терапии в клинической практике. Модифицированные сорбенты, как антимикробные, детоксицирующие лекарственные средства, могут быть рекомендованы для лечения желудочно-кишечных, акушерско-гинекологических заболеваний и хирургической патологии.

#### *Благодарности.*

Авторы выражают благодарность руководителю Омского регионального центра коллективного пользования СО РАН, заведующему лаборатории физико-химических методов исследований ИППУ СО РАН к.х.н. Дроздову В.А. и его сотрудникам.

За проведение медико-биологических исследований в ОмГМУ авторы выражают благодарность д.м.н., профессору Долгих Т.И. и д.м.н., профессору Чесноковой М.Г.

#### *Список литературы:*

1. Фролова, А.В. Раневая инфекция. Состояние проблемы / А. В. Фролова, А. Н. Косинец, В. К. Окулич // Вестник ВГМУ. – 2014. – Т.13, №2. – С.62-69.
2. Sara Reardon Bacterial arms race revs up, от 28.05.2015, Nature, Vol 521, P.402- 403 [Электронный ресурс: <http://www.nature.com/news/antibiotic-alternatives-rev-up-bacterial-arms-race-1.17621>]
3. Суровикин, В. Ф. Новые гемо- и энтеросорбенты на основе нанодисперсных углерод-углеродных материалов / В. Ф. Суровикин, Л. Г. Пьянова, Л. С. Лузянина // Российский химический журнал. - 2007. -Т.LI, №5. - С.159-165.
4. Баринов, С.В. Разработка углеродных сорбентов и перспективы их применения в акушерской практике: монография / С.В. Баринов, Л.К. Герунова, Ю. И. Тирская, Л. Г. Пьянова, О. Н. Бакланова, В. А Лихолобов. – Омск : Изд-во ИП Макшеевой Е.А., 2015. - 132 с.: ил.

5. Рачковская, Л.Н. Углеродминеральные сорбенты для медицины / Л. Н. Рачковская. – Новосибирск, 1996. – 234 с.
6. Пьянова, Л. Г. Разработка углеродных модифицированных сорбентов медицинского назначения / Л. Г. Пьянова, О. Н. Бакланова, В.А. Дроздов, В.А. Лихолобов, А.В. Седанова, М. С. Дроздецкая // Химия в интересах устойчивого развития. - 2014. - Т.22, № 6. - С. 633-641.
7. Пьянова, Л.Г. Разработка способа модифицирования углеродных сорбентов полимером гликолевой кислоты с целью создания новых углеродных материалов медицинского назначения / Л. Г. Пьянова, О. Н. Бакланова, В. А. Лихолобов, В. А. Дроздов, А. В. Седанова, М. С. Дроздецкая // Физикохимия поверхности и защита материалов. - 2015. - Т. 51, №3. - С.293-301.
8. Никифорова, Т. А. Применение молочной кислоты / Т. А. Никифорова, В. В. Евелева, А. П. Бочкова // Пищевая промышленность. - 1999. - № 1. - С. 30-31.
9. Boomsma, B. L-Lactic Acid – A Safe Antimicrobial for Home- and Personal Care Formulations / B. Boomsma, E. Bikker, E. Lansdaal, P. Stuu // Sofw Journal. 2015. - V.141, № 10. – P.2-5
10. Kornhauser, Andrija Applications of hydroxy acids: classification, mechanisms, and photoactivity / Andrija Kornhauser, Sergio G Coelho, Vincent J Hearing // Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology. - 2010. - №3. – С.135–142.
11. Кедик, С. А. Полимеры для систем доставки лекарственных веществ пролонгированного действия (обзор). Полимеры и сополимеры молочной и гликолевой кислот / С. А. Кедик [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. - 2013. - № 2 (3). - С.18-35.
12. Кира Е.Ф. Биологическая роль кислотности влагалища. Механизмы стабильности и методы коррекции // Акушерство и гинекология. 2013. № 3. С.102-106.
13. Wang C., Chang T., Yang H., Cui M. Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of Salmonella Enteritidis, Escherichia coli and Listeria monocytogenes // Food Control. 2015. № 47. P. 231-236.
14. Ozdil, D., Aydin, H.M. Polymers for medical and tissue engineering applications / D. Ozdil, H. M. Aydin // J. Chem. Technol. Biotechnol. - 2014. - № 89. - P.1793-1810.
15. Lasprilla, Astrid J.R. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices / Lasprilla Astrid J.R. [et al.] // Biotechnology Advances. - 2012. - № 30. - P. 321–328.
16. Полимеры в биологии и медицине / Коллектив авторов / Под ред. Майка Дженкинса // Пер. с англ. О.И. Киселева; науч. ред. Н. Л. Клячко. – М. : Научный мир, 2011. – 256 с.

17. Шостак, Я. В. Теория термического анализа / Я. В. Шостак. – Москва, Мир. - 1987. - 447 С.
18. Васильева, В. И. Микроскопический анализ морфологии поверхности ионообменных мембран / В. И. Васильева, Л. А. Битюцкая, Н. А. Зайченко // Сорбционные и хроматографические процессы. Вып. 2. - 2008. - Т.8. - С. 260.
19. Gorrasi, G., Pantani, R. Effect of PLA grades and morphologies on hydrolytic degradation at composting temperature: assessment of structural modification and kinetic parameters / G.Gorrasi, R. Pantani // Polymer degradation and Stability. - 2013. - V. 98. - P. 1006-1014.
20. Пат. 2541103 Российская Федерация, МПК А61К31/191, А61К33/44, А61К31/04, А61К31/10. Углеродный сорбент с антибактериальными и антимикотическими свойствами и способ его получения / Пьянова Л. Г. , Бакланова О. А. , Лихолобов В. А. , Седанова А. В. , Дроздецкая М. С. , Долгих Т. И. ; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем переработки углеводов Сибирского отделения Российской академии наук (ИППУ СО РАН). - № 2014110419/15 ; заявл. 18.03.2014; опубл. 10.02.2015.
21. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [Электронный ресурс: <http://www.eucast.org>].
22. Пат. 2467029 Российская Федерация, МПК С08G63/06, С08G63/60, С08G63/78, С08G63/901. Способ получения биоразлагаемых полиэфиров / Потапов А. Г., Мозгунова Н. В. ; патентообладатель Российская Федерация, от имени которой выступает Министерство промышленности и торговли Российской Федерации. - № 2011142892/04 ; заявл. 25.10.2011; опубл. 20.11.2012.
23. Шкарин, А. А. Выбор условий для получения олигомеров молочной кислоты / А. А. Шкарин, А. В. Яркова, Ю. Е. Похарукова, В. Т. Новиков // Вестник ТГУ. - 2014. - №385. - С. 224-226.
24. Yin, Huihui Synthesis and Structure Control of L-Lactic Acid–Glycolic Acid Copolymer by Homo-Copolymerization / Huihui Yin [et al.]// Journal of Applied Polymer Science. - 2015. - P. 1-6.
25. Garlotta, D. A Literature Review of Poly(Lactic Acid) / D. Garlotta // Journal of Polymers and the Environment. - 2001 (2002). - V. 9, N. 2. - P.64-65.
26. Пат. 2527471 Российская Федерация, МПК С08G63/02, С08G63/64, С08G64/02. Полиэфирполикарбонаты олигомолочной кислоты/ Фомина Е. В. , Завражнов С. А. , Фомин В. А. , Кобякова Н. К. ; патентообладатель Федеральное государственное унитарное предприятие "Научно-исследовательский институт химии и

технологии полимеров имени академика В.А. Каргина с опытным заводом" (ФГУП "НИИ полимеров"). - № 2013118372/04 ; заявл. 19.04.2013; опубл. 27.08.2014.

27. Wang, N. Syntheses, characterization, biodegradation and drug delivery application of biodegradable lactic/glycolic acid polymers / N. Wang [et al.] // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. - 2000. - V. 11, №3. - P. 301-318

28. Mols, Maarten Comparative analysis of transcriptional and physiological responses of *Bacillus cereus* to organic and inorganic acid shocks / Maarten Mols [et al.] // International Journal of Food Microbiology. – 2010. – V.137. – P.13-21.