

УДК 577.114.083 (047.31)

А.В. Фролов, В.Н. Беляев, Н.В. Бычин

**ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДИАЛЬДЕГИДДЕКСТРАНА
И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО СВОЙСТВ**

Одним из приоритетных направлений развития современной фармакологии является получение сложных лекарственных композиций, содержащих биологически активные вещества, в том числе изготовленные на основе технологии иммобилизации. Под иммобилизацией понимается химическое связывание, включая конъюгирование, биологически активного вещества со вспомогательными компонентами, например, полимерным носителем или органическим соединением. В результате конъюгирования лекарственного препарата с природным биологически значимым полимером возникают такие эффекты как увеличение активности, повышение избирательности и пролонгированности действия, снижение токсичности и минимизация побочных эффектов. Совокупный результат выражается в повышении эффективности и безопасности лечения.

Одним из биологически значимых полимеров является декстран - полисахарид микробного происхождения, растворы которого составляют основу современных кровезаменителей. Декстран и большинство его производных не токсичны, не антигенны и способны к биодegradации. Иммобилизация лекарственных субстанций на производных декстрана позволяет конструировать пролекарства пролонгированного действия с необходимым балансом липофильно-гидрофильных свойств.

Разработкой активных производных декстранов и исследованием процессов их применения в биотехнологиях проводилось рядом ведущих научных центров России. Способность декстранов изменять свойства лекарственных веществ изучалась в научном центре клинической и экспериментальной медицины, под руководством Шкурупия В.А. Полученный конъюгат противотуберкулезного препарата - изониазида с декстраном обладает способностью селективно восстанавливать инфицированные *Mycobacterium tuberculosis* фагоциты. Для придания изониазиду селективной фаготропности его конъюгируют с полисахаридной матрицей – декстраном. Проведенные исследования данного конъюгата *in vitro* и *in vivo* показали не только его высокую антимикобактериальную активность, но и значительное снижение токсичности, относительно исходного изониазида.

Для обеспечения эффективного связывания физиологически активных веществ с декстранами необходимо перевести этот полисахарид в химически активную альдегидную форму [1]. Исследования показали, что альдегидные группы способны в мягких условиях образовывать азометино-

вую связь с первичными аминогруппами большинства биологически активных веществ [2], что делает их перспективными в технологиях иммобилизации.

Получение диальдегидной ($C_6H_8O_5$) - химически активной формы декстрана ($C_6H_{10}O_5$) возможно при его селективном окислении. Объектом окислительного воздействия становятся концевые редуцирующие группы декстрана. Поскольку реакции окисления полисахаридов, как правило, протекают в кислой среде, то они могут сопровождаться частичной гидролитической деструкцией полимера. Если проводить процесс окисления декстрана в жестких условиях, вначале на образуется смесь альдегидных, кетонных и карбоксильных групп в структуре полимерной цепи. В последующем произойдет деструкция пиранозных звеньев с разрывом в цикле кислородной или C-C связей и образованием так называемых урановых кислот - глюкоурановой или альдоновых.

Для получения диальдегиддекстранов окисление проводят в разбавленных растворах с применением в качестве окислителей пероксида водорода в условиях радиационно-химического активирования окислительной реакции, а также солей йодной кислоты или перманганата калия.

Соединения йода не полностью удаляются из окисленных декстранов, что делает его токсичным и снижает потенциал использования. Радиационно-химический способ окисления декстрана обладает преимуществами перед периодатным – он технологичен, не использует токсичных компонентов, однако окисленные декстраны, полученные данным способом нестабильны при хранении. В этой связи актуальна разработка промышленного способа окисления декстрана, в результате реализации которого будет выпускаться продукт, отличающийся высокой биосовместимостью и низкой цитотоксичностью.

В настоящее время в ОАО «ФНПЦ «Алтай» в рамках государственного контракта № 16.522.12.2001 министерства образования и науки РФ ведутся работы по созданию опытно-промышленного производства окисленных декстранов. При отработке промышленного способа получения, возникает задача постоянного контроля показателей качества получаемого продукта. С этой целью необходимо выявить основные физико-химические свойства диальдегиддекстрана и методы их определения.

Исследование термических свойств диальдегиддекстрана (ДАД) и исходного сырья – реополлиглокина и декстрана-40 проведены на термо-

Таблица 1. Термические свойства декстранов и диальдегиддекстранов

Образец	Потеря массы, % В интервале температур		
	25-140 °C	140-240 °C	240-400 °C
Декстран 40	8,4	0	70,2
Декстран 70	6,7	0	75,5
Реополиглокин	9,1	0	68,3
ДАД-ОР-1	11,3	0	63,6
ДАД-ОР-2	10,0	0	62,9
ДАД-ОР-3	8,9	0	62,0
ДАД-ОР-4	7,4	0	60,1
ДАД-ОД-40-1	7,5	0	66,5

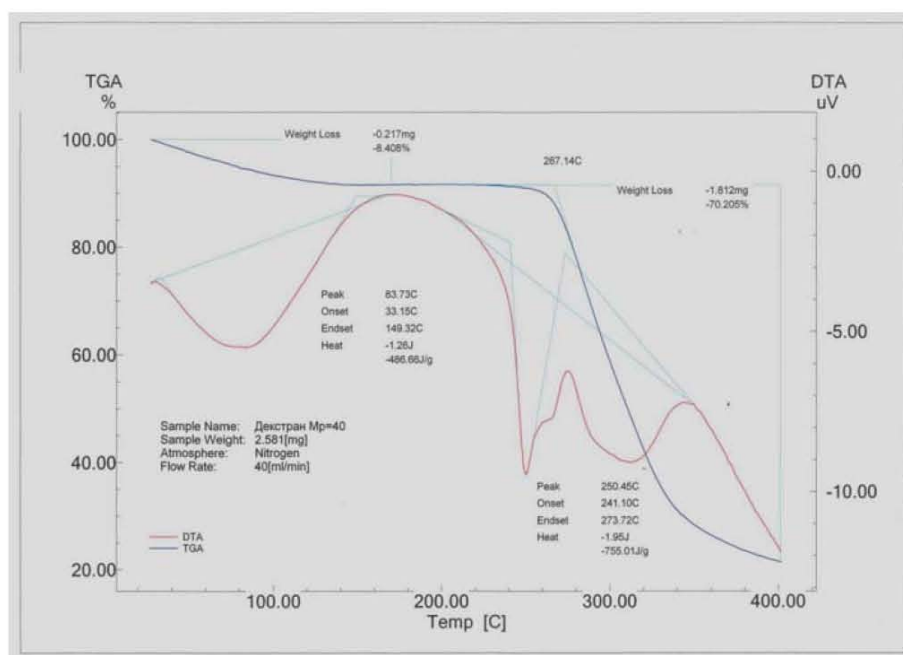


Рис.1. Характерные кривые для образца Декстрана-40

гравиметрическом анализаторе DTG-60. При отработке методики анализа были подобраны условия оптимальные для получения воспроизводимых результатов.

Исследовались: сырье – Декстран 40, Декстран 70 (производство КНР), Реополиглокин (сухой остаток, выделенный из раствора) и 5 образцов ДАД, полученные при отработке режимов технологического процесса на реополиглокине (маркировка ДАД-ОР) и декстране-40 (ДАД-ОД, соответственно). Образцы отличались технологическими режимами синтеза.

Термограммы (DTA- и DTG- кривые) декстрана и диальдегиддекстрана представлены на рисунках 1,2. DTG-кривые свидетельствуют об идентичности термограмм декстрана и диальдегиддекстрана. Проведенный анализ кривых показал, что существует три интервала температур, характерные для терморазложения декстрансодержащих материалов (табл. 1).

В низкотемпературной области в интервале 20

до 140⁰С происходит эндотермический процесс разложения и удаления легколетучих компонентов – воды и продуктов окисления.

В интервале температур 140 – 240⁰С не наблюдается видимых изменений массы и тепловых эффектов, что свидетельствует от термостойкости структуры материалов – это интервал термостабильности декстранов и их производных.

Начиная с 240⁰С и до 400⁰С наблюдается резкое уменьшение массы образцов, сопровождаемое поглощением тепла. В зависимости от структуры образца на кривой DTA фиксируется один или серия (от двух до четырёх) эндотермических пиков. Особенностью процесса разложения декстрана и его производных является образование вспененной, пористой углеродной капли в качестве промежуточного продукта. Поэтому кривая тепловых эффектов отражает наложение двух процессов, протекающих параллельно-последовательно - это плавление биополимера и его терморазложение. Разложение пористой кап-

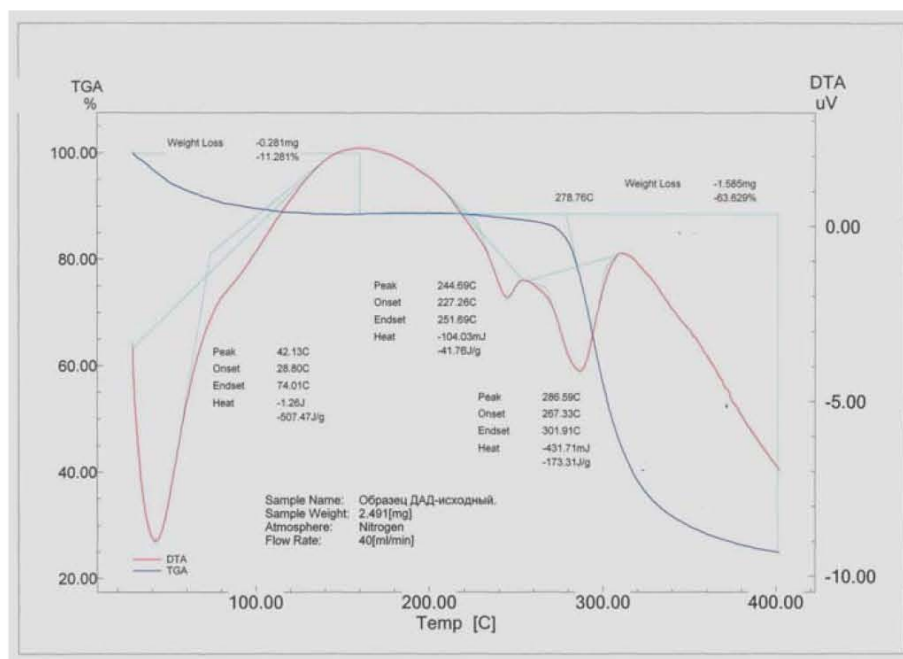


Рис.2. Характерные кривые для образца Дiallyдегиддекстрана

Таблица 2. Составы зольных остатков экспериментальных образцов

Образец/элемент*	S	Ca	K	Fe	Mn
Декстран 40	36	37	18	0,5	8
ДАД – ОД- 40-1	48	49	0,2	0	7,5

*- интегральная интенсивность проявления

ли происходит с образованием газообразных продуктов и зольного остатка коричнево-желтого цвета.

Элементный анализ зольного остатка образцов Декстрана-40 и ДАД – ОД-40-1 (таблица 2) показал наличие серы, кальция, калия, железа и марганца.

Для проведения исследований биологических свойств экспериментальных образцов использовались тест-штаммы IV группы патогенности *Bacillus cereus* ATCC 10702 – пищевой токсикоинфекции, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P – пищевой токсикоинфекции, септицемии, пневмонии. Исследованию процессов развития патогенных микроорганизмов подвергались декстраны исходные и прошедшие окисление в лабораторных условиях.

Отбор навесок и приготовления исходного разведения проводили согласно ГОСТ 26669. Навеску вещества 1г растворяли в 9 см³ физиологического раствора, приготовленного по ГОСТ 10444.1. 1г (см³). Полученный раствор смешивали с расплавленной питательной средой № 1 ГРМ (для выращивания бактерий), приготовленную по ГОСТ 10444.1. На скошенную поверхность среды в 24 параллельные пробирки бактериологической петлей высевали тест-штаммы *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P. Культивирование микроорганизмов вели по ГОСТ 26670. Посевы инкубировали 24 часа при темпе-

ратурах – 24⁰С, 30⁰С, 37⁰С, 44⁰С. По завершению инкубирования на агаризованных средах отслеживали рост характерных колоний.

Для доказательства анаэробной ферментации глюкозы культуры со скошенного агара, высевали уколом в питательную среду с индикатором бромкрезоловым пурпуровым и глюкозой, приготовленную по ГОСТ 10444.8. Посевы инкубировали при температуре 30⁰С в течение 24 час.

Для определения способности *B. cereus* ферментировать манит, культуры со скошенного агара пересеяли на питательную среду с индикатором бромкрезоловым пурпуровым и маннитом, приготовленную по ГОСТ 10444.8. Посевы термостатировали при температуре 30⁰С в течение 24 час.

В результате исследований биологических свойств было определено, что исходные декстраны, как и продукт их окисления – дiallyдегиддекстран обладают антимикробной активностью, что подтверждается примененной последовательностью стандартных методов испытаний данных образцов, согласно ГОСТ 10444.2 и ГОСТ 10444.8.

Таким образом, в результате проведенной работы можно сделать следующие выводы:

1) термогравиметрический метод анализа декстранов и их производных полезен в качестве экспресс – метода характеризации сырья при его входном контроле и метода аттестации готового дiallyдегиддекстрана;

2) оценка на соответствие материалов требованиям паспорта качества и технологического регламента может производиться по следующим показателям:

- температуре разложения материала, которая зависит от молекулярной массы декстрана и доли в нем зольных примесей;

- потере образцом массы в интервале температур 20 – 140⁰С, что характеризует долю летучих компонентов и воды в его составе – эти данные необходимы для корректировки массы навески исходного материала в технологическом процессе получения диальдегиддекстрана. Учет доли летучих при расчете материальных потоков технологического процесса обеспечит повышение техно-

логического выхода целевого продукта;

3) при увеличении температуры эксперимента до 600⁰С можно осуществлять экспресс- контроль доли зольных примесей в исходных материалах;

4) биологические исследования свойств диальдегиддекстрана показали сохранение антимикробной активности продукта после окисления перманганатом калия;

5) биологически активная матрица диальдегиддекстрана в перспективе может обеспечить получение широкой серии отечественных препаратов нового поколения, обладающих мембранотропными свойствами и пролонгированным действием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Козинер, В.Б.*, Механизм действия полиглюкина./ В.Б. Козинер, Н.А. Федоров. – М.: Изд. «Медицина», 1974. – 192 с.

2. Влияние типа химической связи между производными декстрана и антибиотиком на бактериостатическую активность полимерного соединения / Снежко В. А. [и др.] //Антибиотики.- 1972.- Т. 17.- №1.- С.48-52.

□ Авторы статьи:

Фролов
Александр Валерьевич,
канд.техн.наук., старший науч-
ный сотрудник (ОАО «ФНПЦ
«Алтай»). Тел. (3854)305861

Беляев
Вячеслав Николаевич,
канд.техн.наук, доцент, началь-
ник лаборатории ((ОАО «ФНПЦ
«Алтай») Тел. (3854)305861

Бычин
Николай Валерьевич,
руководитель группы (ОАО
«ФНПЦ «Алтай»
Email:
lab.nanodiamond@rambler.ru.