УДК 661.728:546.284-14

СТРУКТУРА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПОЗИТОВ ГИДРОКСИЭТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ /БЕНТОНИТ

[1]Гарасько Е.В., [2]Родионова А.Н., [2]Алексеева О.В., [2]Багровская Н.А., [2]Агафонов А.В.

[1]ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, Иваново, e-mail: garasko@mail.ru;

[2]ФГБУ «Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук», Иваново, e-mail: ova@isc-ras.ru

Проведена иммобилизация частиц алюмосиликата в матрицу гидрооксиэтилцеллюлозы, получены полимерные пленочные материалы. Изучена их структура и воздействие на поведенческие реакции клеток популяций микроорганизмов Escherichia coli, Staphylococcus aureus и Candida albicans. Выявлено влияние концентрации алюмосиликата на структуру гибридных композитов. Обнаружено фунгистатическое действие полученных композитов по отношению к грибам рода Candida. Композиты на основе бентонита и гидрооксиэтилцеллюлозы обладают биологической активностью и могут быть рекомендованы для дальнейших исследований в качестве их возможного использования в пленочных материалах медицинского назначения.

Ключевые слова: гидроксиэтилцеллюлоза, алюмосиликат, композит, структура, биологическая активность

STRUCTURE AND BIOLOGY ACTIVITY OF COMPOSITES HYDROXYETIL CELLULOSA/BENTONITE

[1]Garasko E.V., [2]Rodionova A.N., [2]Alekseeva O.V., [2]Bagrovskaya N.A., [2]Agafonov A.V.

[1]Ministry of Public Health of the Russian Federation Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, e-mail: garasko@mail.ru;

[2]G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, e-mail: ova@isc-ras.ru

Immobilization of aluminosilicate particles in a matrix hydroxyethylcellulose has been carried out by mechanical dispersion and of polymer film materials obtained. Examine their impact on the structure and behavioral responses of cells populations of microorganisms Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Candida albicans. The effect of concentration of the inorganic filler on the structure of hybrid composites. Fungistasis found the composites against fungi genus Candida. Composites based on bentonite and hydroxyethylcellulose have biological activity, and can be recommended for further research as to their possible use in the film of medical supplies.

Keywords: hydrooxyethilcellulose, aluminosilicate, composite, structure, biological activity

В настоящее время интенсивное развитие получила область химии высокомолекулярных соединений, связанная с получением и исследованием гибридных полимерных материалов медико-биологического назначения. Это обусловлено возможностью их практического применения в медицине при получении различных лекарственных форм, имплантов, трансдермальных систем, мембран. Для создания таких композитов могут быть использованы биосовместимые и биодеградируемые природные полимеры, модифицированные неорганическими наполнителями. Одним из таких полимеров является гидроксиэтилцеллюлоза-неионогенный, водорастворимый эфир целлюлозы, обладающий хорошими пленкообразующими свойствами и способностью к биоразложению [3, 17]. В литературе последних лет представлены сведения об использовании в качестве неорганических наполнителей монтмориллонитовых и бентонитовых пород глин [14, 16]. Они обладают анизометрией, способны при определенных условиях расслаиваться на отдельные пластины толщиной около 1 нм и диаметром – 20–250 нм. Введение этих алюмосиликатов в полимерную матрицу позволяет изменить вязкость растворов полимеров, а также улучшить термическую стабильность, механические, барьерные свойства формируемых композитов [1, 12, 15]. Известно, что глины способны проявлять биологическую активность, поэтому биополимеры, модифицированные бентонитом, могут быть основой для создания антимикробных препаратов и матриц для доставки лекарственных средств. Кроме того, такие полимерные композиты могут воздействовать на биологические объекты, в том числе на организм человека, регулируя их жизнедеятельность. Однако сведения о биологической активности композитов на основе эфиров целлюлозы и алюмосиликатов весьма ограничены. Одним из инновационных научных направлений кафедры микробиологии ИвГМА является исследование воздействия новых

композиционных материалов, полученных в ИХР РАН, на поведенческие реакции клеток популяций микроорганизмов [6, 7, 8].

Цель исследования

Изучить структуру и биологическую активность новых композитов полимерных материалов, полученных на основе гидроксиэтилцеллюлозы и бентонита.

Материалы и методы исследования

Композиционные полимерные материалы, получали в лаборатории «Химия гибридных наноматериалов и супрамолекулярных систем» ИХР РАН. В качестве матрицы для получения композита была выбрана гидроксиэтилцеллюлоза (ГОЭЦ) $\{C_6H_7O_2(OH)_{3-x}[(OCH_2CH_2)_yOH]_x\}_n$ марки «Klucel», США, с молекулярной массой 250000. Наполнителем служил бентонит марки «Sigma-Aldrich», США.

Образцы глины были проанализированы методом сканирующей электронной микроскопии (SEM) на микроскопе HITACHI TM-1000, оснащенном EDX детектором.

Удельную поверхность порошка бентонита определяли методом низкотемпературной (77К) адсорбции и десорбции паров азота на высокоскоростном газовом сорбционном анализаторе NOVA 1200e. Площадь поверхности вычисляли по уравнению БЭТ из изотерм адсорбции [11].

Водные 2%-е растворы ГОЭЦ и полимерные системы с бентонитом готовили гравиметрически с последующим перемешиванием на магнитной мешалке. Концентрацию алюмосиликатов варьировали от 0,5 до 5 мас.%. Пленки получали методом полива исходных и модифицированных полимерных растворов на тефлоновую подложку с последующим высушиванием, до полного удаления растворителя при 293 К. Толщина пленок составила 30 мкм.

Структуру исходных и композиционных ГОЭЦ пленок исследовали методом дифракции рентгеновских лучей в диапазоне углов $2\theta = 2–34$ град на дифрактометре ДРОН-2 (излучение CuK_α, $\lambda = 0{,}154$ нм).

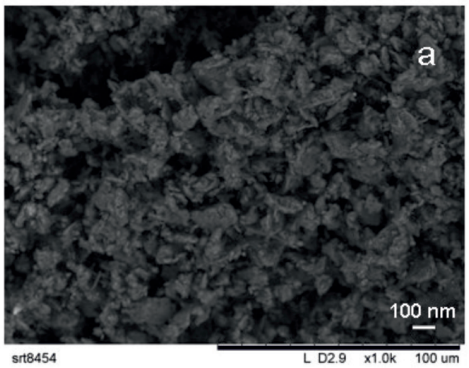
ИК-спектры поверхности бентонита в виде таблеток с KBr и полимерных пленок регистрировали на спектрометре Avatar 360 FT-IR ESP с фурье-преобразованием методом многократно нарушенного полного внутреннего отражения (МНПВО) в диапазоне волновых чисел 4000–500 см$^{-1}$.

Биологическую активность исходных и модифицированных полимерных пленок изучали на прокариотах – фирмикутных грамположительных бактериях рода *Staphylococcus* и грациликутных грамотрицательных бактериях рода *Escherichia,* а также на эукариотах – дрожжеподобных грибах рода *Candida.* В качестве тест-микробов использовали: типовой вид рода *Staphylococcus – S. aureus* (ассоциированный с кожными покровами и слизистыми оболочками и способный вызывать оппортунистические инфекции*)*, типовой вид рода *Escherichia – E. coli* (представитель нормальной микрофлоры кишечника, вызывающий инфекции при попадании в нетипичные места обитания) и типовой вид рода *Candida – C. albicans* (обитатель слизистых оболочек и кожи, способный вызывать кандидоз). Исследование антимикробной активности образцов проводили по общепринятой методике на плотных (посев «газоном» в чашки Петри) и жидких питательных средах (в пробирках). В чашки Петри с плотной питательной средой вносили 1,0 мл (1000 клеток) тест-культуры. Для культивирования *S. aureus* применяли желточно-солевой агар, для *E. coli* – среду Эндо, для грибов *C. albicans* – среду Сабуро. Культуру равномерно распределяли по всей поверхности чашки, подсушивали в термостате в течение 20 минут, сверху накладывали исследуемые образцы и инкубировали 24 часа в термостате при 37°С. Об антимикробной активности образцов судили по степени угнетения роста микроорганизмов [5, 9, 10].

Результаты исследования и их обсуждение

При сканирующей электронной микроскопии получено изображение поверхности бентонита. Из микрофотографии (рис. 1, а) видно, что микрочастицы бентонита представляют собой агрегаты частиц различной морфологии.

На основании данных энергодисперсионного анализа определено содержание химических элементов в наполнителе (рис. 1, б).



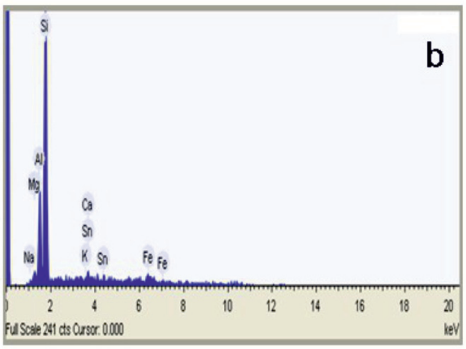


Рис. 1. Распределение частиц бентонита по размерам (а) и содержание химических элементов в наполнителе (б)

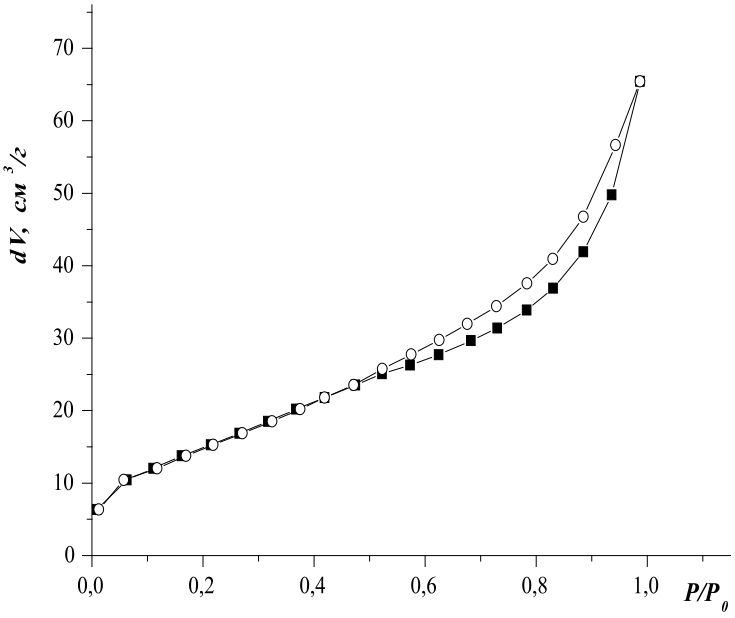


Рис. 2. Изотермы низкотемпературной адсорбции и десорбции паров азота на бентоните

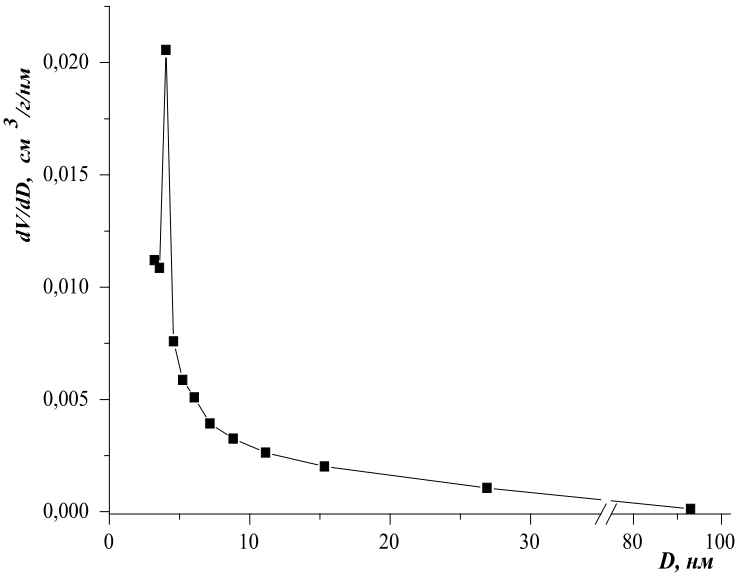


Рис. 3. Дифференциальная кривая распределения объема пор бентонита по размерам

Для определения структурно-сорбционных характеристик бентонита были получены изотермы адсорбции и десорбции азота при 77 К. Изотерма адсорбции азота для бентонита относится к IV типу по классификации IUPAC (рис. 2). Такой вид изотерм обычно свойственен твердым телам, имеющим мезопоры по классификации Дубинина. На изотерме (рис. 2) при P/P_0, близком к 1, наблюдается резкий подъем сорбционной кривой, указывающий на наличие в образце крупных пор. Это подтверждает унимодальный характер кривой распределения пор по размерам. Для исследуемого бентонита были получены следующие сорбционные характеристики: площадь удельной поверхности $S_{уд}$ = 58 м²/г, средний поперечный размер пор $D_{пор}$ = 6,98 нм, наиболее вероятный размер пор $D_{вер}$ = 4,031 нм, суммарный объем пор $\Sigma V_{пор}$ = 0,1012 см³/г. В соответствии с данными низкотемпературной адсорбции-десорбции азота исследуемый образец бен-

тонита можно отнести к мезопористым телам с малым вкладом микропор и имеющим высокоразвитую поверхность.

Рентгенофазовый анализ позволяет получить информацию о структурных изменениях, происходящих в материале в процессе формирования полимерных композитов. Известно, что в нативном состоянии бентонит представляет собой частицы, состоящие из пакета алюмосиликатных плоскостей [4].

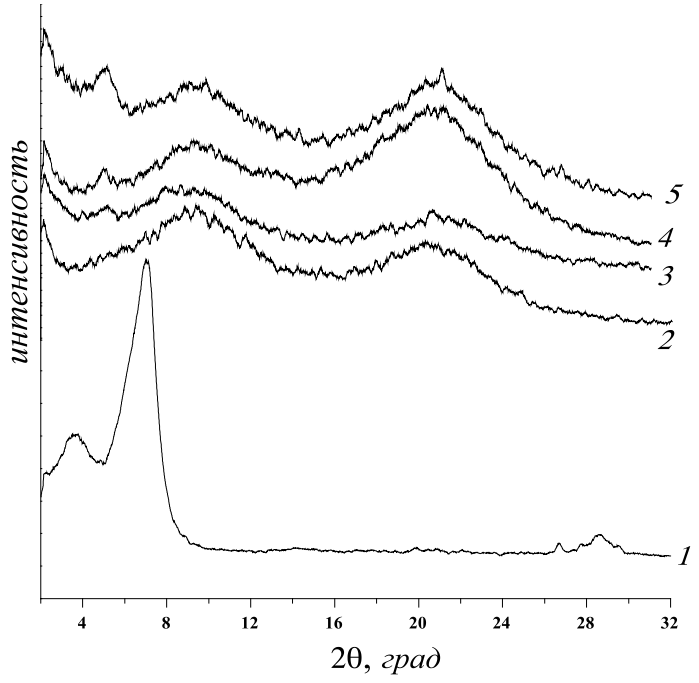


Рис. 4. Дифрактограммы бентонита (1) и пленок ГОЭЦ (2), ГОЭЦ с добавкой бентонита: 0,5 мас.% (3); 1 мас.% (4); 5 мас.% (5)

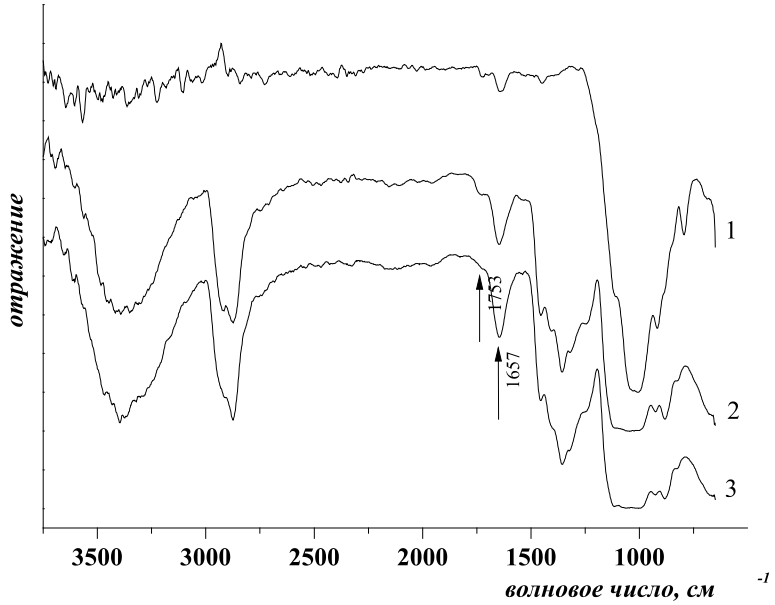


Рис. 5. ИК-спектры МНПВО образцов: бентонита (1), пленки ГОЭЦ (2), композита с содержанием наполнителя 5 мас.% (3)

На рис. 4 приведены дифрактограммы глины, а также пленок исходной и допированной бентонитом ГОЭЦ. Рефлексы при 2θ = 9–10 ° и 20 ° на дифрактограмме эфира целлюлозы характерны для данного полимера. Рентгенограмма слоистого силиката имеет четко выраженный рефлекс при 2θ = 7 °, отвечающий за базальное расстояние между слоями алюмосиликата, равное 1,26 нм. Отсутствие рефлекса ГОЭЦ в области углов, меньших 8 °, позволяет регистрировать структурные изменения бентонита в композиционной пленке. Введение глины в матрицу ГОЭЦ приводит к смещению рефлекса алюмосиликата в область углов 2θ ≈ 5 ° независимо от состава композита (рис. 4). Следует отметить, что интенсивность этих рефлексов возрастает по мере повышения концентрации наполнителя до 5 мас. %. Это означает, что часть введенного в полимерную пленку алюмосиликата находится в интеркалированном состоянии. Отсутствие пика на дифрактограмме при содержании бентонита в композите 0,5–0,1 мас. % свидетельствует о расслоении слоистого силиката и эксфолиировании элементарных пакетов (рис. 4, кривая 2) [13].

На основании анализа рентгеноструктурных данных выявлено, что при получении гибридных композитов происходит увеличение межслоевого расстояния в бентоните от 1,26 до 1,75 нм, вследствие вхождения молекул полимера в полости глины.

Информацию о взаимодействии компонентов в композите можно получить при анализе ИК-спектров бентонита и пленок. В ИК-спектре бентонита (рис. 5, спектр 1) в области 3600–3200 см$^{-1}$ присутствуют полосы поглощения свободной и ассоциированной формы Si–OH, полоса при 1650 см$^{-1}$ относится к деформационным колебаниям адсорбированных молекул H_2O. Полосы при 1041 и 802 см$^{-1}$ соответствуют валентным колебаниям группы Si–O–Si и колебаниям колец из SiO_4 тетраэдров соответственно [2].

В ИК-спектре исходной пленки ГОЭЦ (рис. 5, спектр 2) наблюдаются полосы валентных колебаний O-H групп, включенных в водородные связи (3600–3000 см$^{-1}$), и групп CH_2 и CH (3000–2700 см$^{-1}$). Деформационные плоскостные колебания связей C-H и O-H находятся в области 1550–1200 см$^{-1}$ (максимум при 1358 см$^{-1}$). Валентные колебания C-OH, C-C проявляются широкой полосой в интервале 1200–950 см$^{-1}$. Полоса поглощения при 1647 см$^{-1}$ относится к кристаллизационной воде. Слабая полоса при 1750 см$^{-1}$ свидетельствует о небольшом количестве карбонильных групп C=O в молекуле полимера. В ИК-спектре композита (рис. 5, спектр 3) по сравнению со спектром ГОЭЦ наблюдаются изменения: уширение полос в области 3600–3000 см$^{-1}$ и 1550–1200 см$^{-1}$, изменение контура полосы при 3000–2700 см$^{-1}$, исчезновение полосы связи C=O при 1750 см$^{-1}$. В спектре композита полосы поглощения при 1647 см$^{-1}$ и 1358 см$^{-1}$ смещаются на 2 см$^{-1}$ в низкочастотную область. Совокупность таких изменений в спектре модифицированной ГОЭЦ обусловлена образованием водородных связей между кислородсодержащими группами полимера и функциональными центрами бентонита Si–OH.

В результате испытаний биоактивности исходных и модифицированных пленок не зафиксирована гибель *S. aureus и E. coli* под образцами исходных пленок и пленок ГОЭЦ, содержащих частицы глины. В отношении грибов *C. albicans* установлено отсутствие роста грибов в зоне наложения образцов пленок ГОЭЦ, содержащих 3 и 5 % глины, и наличие роста под образцами исходных пленок и пленок ГОЭЦ, содержащих 1 % глины. Следует отметить, что антимикробная активность композитов зависит от концентрации наполнителя. Увеличение содержания бентонита в матрице ГОЭЦ от 1 до 5 мас. % усиливает антимикробный эффект, что находит отражение в росте зоны задержки роста грибов вокруг образцов пленок от 8 до 15 мм. Испытания исходных и модифицированных эфироцеллюлозных пленок на фунгицидные свойства в жидкой питательной среде подтвердили полученные результаты. Установлено, что пленочные материалы на основе модифицированной ГОЭЦ подавляют рост тест-культуры *C. albicans* до 6–25 КОЕ/мл при росте 1000 КОЕ/мл (посевная доза) на плотной среде после высева из жидкой питательной в контроле (без образцов).

Заключение

Методом механического диспергирования проведена иммобилизация частиц бентонита в матрице ГОЭЦ и получены пленочные материалы. Структура гибридных органо-неорганических композитов была исследована методом дифракции рентгеновских лучей. Установлено увеличение межплоскостного расстояния в бентоните при введении алюмосиликата в полимер. Показано, что композиты на основе бен-

тонита и ГОЭЦ обладают биологической активностью и могут быть рекомендованы для дальнейших исследований в качестве их возможного использования в материалах медицинского назначения.

Список литературы

1. Алексеева О.В., Родионова А.Н., Багровская Н.А. и др. // Жидкие кристаллы и их практическое использование. – 2012. Вып. 3 (41). – С. 24–30.

2. Байклза Н. и Сегала Л. Целлюлоза и ее производные. Т. 1. – М.: Мир, 1974. – 504 с.

3. Бочек А.М., Забивалова Н.М., Гофман И.В. и др. // ЖПХ. – 2011. – Т. 84, Вып. 7. – С. 1191–1195.

4. Ваганов Г.В., Юдин В.Е., Елоховский В.Ю. и др. // ЖПХ. – 2011. – Т. 84, Вып. 8. – С. 1343–1349.

5. Вольф Л.А., Меос А.И. Волокна специального назначения. – М.: Химия. 1971. – 223 с.

6. Гарасько Е.В., Тесакова М.В., Чуловская С.А. и др. Применение наноразмерных медьсодержащих порошков в качестве эффективных биоцидных препаратов // Изв. Вузов. Химия и хим. Технология. – 2008. – Т. 51. – С. 116–119.

7. Гарасько Е.В., Шиляев Р.Р., Чуловская С.А. и др. Применение наноразмерных частиц серебра в медицине // Вестн. Ивановской медицинской академии. – 2008. – № 3–4. – С. 30–34.

8. Гарасько Е.В., Шиляев Р.Р., Алексеева О.В. и др. Антибактериальные свойства полимерных композитов с наноразмерными частицами меди // Вестн. Ивановской медицинской академии. – 2009. – Т. 14, № 2. – С. 21–25.

9. Гарасько Е.В. Антимикробные свойства специальной ткани // Журн. Микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. – 1973. – № 8. – С. 54–56.

10. Гарасько Е.В., Шиляев Р.Р., Чуловская С.А. и др. Применение наноразмерных медьсодержащих порошков для придания устойчивых фунгицидных свойств полипропиленовым материалам // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований // 2011. № 5. С. 93.6. Лаврентьева Е.К., Стародубцев С.Г., Хохлов А.Р. и др. // Коллоидный журнал. – 2008. – Т. 70, № 5. – С. 650–655.

11. Грег С., Синг К. Адсорбция, удельная поверхность, пористость: Пер. с англ. 2-е изд. – М.: Мир, 1984. – 306 с.

12. Лаврентьева Е.К., Стародубцев С.Г., Хохлов А.Р. и др. // Коллоидный журнал. – 2008. – Т. 70, № 5. – С. 650–655.

13. Хаширова С.Ю., Мусаев Ю.И., Микитаев А.К. и др.// ВМС. Серия А. – 2009. – Т. 51, № 9. – С. 1–6.

14. Bergaya F. // Handbook of Clay Science. Elsevier Ltd. – 2006. – Vol. 1. – P. 393–421.

15. Chang J.H., Kim S.J., Joo Y.L. // S. Im. Polymer. – 2003. – Vol. 44. – P. 5655–5661.

16. Gil A., Korili S.A. and Vicente M.A. // Catalysis Reviews. – 2008. – Vol. 50, № 2. – P. 153–221.

17. Sibel Tunç, Osman Duman // Applied Clay Science. – 2010. – Vol. 48. – P. 414–424.