

УДК 543.429.23:615.038

Ю. Г. Чернецкая, начальник лаборатории (РУП «Белмедпрепараты»);
С. А. Ламоткин, кандидат химических наук, доцент (БГТУ);
Т. В. Трухачева, заместитель генерального директора (РУП «Белмедпрепараты»)

ПРИМЕНЕНИЕ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ СТАБИЛЬНОСТИ ГИДРОГЕЛЕВЫХ МАТРИЦ МЕТОДОМ «СТРЕССОВОГО» ТЕСТИРОВАНИЯ

В статье представлены результаты исследования стабильности гидрогелевых матриц с использованием метода ЯМР-спектроскопии. Исследовано влияние ионизирующего излучения на вспомогательные и действующие вещества гидрогелевых полимерных матриц. Доказано, что при воздействии ускоренных электронов поглощенной дозой 25–35 кГр происходит формирование трехмерной полимерной структуры матрицы. Установлено, что входящие в состав гидрогелей активные субстанции мирамистин и гентамицин сохраняют стабильность при поглощенных дозах облучения в диапазоне от 5 до 35 кГр.

The article summarises results of a stability testing performed for hydrogel matrixes by means of nuclear magnetic resonance-spectroscopy. Effects of the ionizing radiation on auxiliary substances and active ingredients of hydrogel polymeric matrixes were studied. It was proved that under the influence of accelerated electrons on absorbed doses 25–35 kGy the formation of a three-dimensional polymeric structure of the matrix occurs. It was shown, that active ingredients of hydrogels miramistin and gentamycin are stable under irradiation with ionizing radiation at doses of 5–35 kGy.

Введение. Гидрогелевые матрицы представляют собой радиационно-сшитые биологически совместимые полимеры медицинского назначения (поливинилпирролидон (ПВП), полиэтиленоксид (ПЭО) и агар) и используются в качестве средств для местной терапии ран и ожогов. Радиационная обработка обеспечивает формирование трехмерной полимерной структуры и стерильность готовой лекарственной формы. Для придания противомикробных свойств в состав ранозаживляющих средств в форме гидрогелевых пластин включены антибиотик гентамицин и антисептик мирамистин [1, 2]. Гидрогелевые матрицы обладают эластичностью, механической прочностью, воздухопроницаемостью, сорбционными свойствами по отношению к раневому экссудату, препятствуют вторичному инфицированию, нормализуют обменные и стимулируют репаративные процессы в ране. Применяют гидрогелевые пластины для лечения свежих травматических, гранулирующих (инфицированных и неинфицированных) ран, пролежней, трофических язв, рожистого воспаления, термических ожогов 2–3а и 3б–4 степени в фазе регенерации [3, 4].

Цель настоящей работы – исследование стабильности гидрогелевых матриц и входящих в их состав лекарственных веществ при воздействии ионизирующего излучения.

Основная часть. С использованием ЯМР-спектроскопии проводился анализ структуры исходных соединений, входящих в состав гидрогелевых полимерных матриц, а также продуктов их распада.

Запись спектров ЯМР проводили на спектрометре AVANCE-500 с рабочей частотой 500 МГц для ядер ^1H и 125 МГц для ядер ^{13}C . Анализировали растворы соединений в D_2O с добавлением CD_3COCD_3 в качестве внутреннего стандарта. Химические сдвиги сигналов протонов соединений определяли по сигналу примесей ацетона ($\text{CHD}_2\text{COCD}_3$, $\delta = 2,05$ м. д. в спектре ^1H) и метильной группы CD_3 стандарта $\delta = 30,2$ м. д. Запись спектров проводили с учетом релаксации протонов всех соединений. Были записаны и проанализированы спектры ЯМР ^1H и ^{13}C поливинилпирролидона, полиэтиленоксида, агара, мирамистина, гентамицина, а также гидрогелевых матриц, содержащих мирамистин и гентамицин. Активные субстанции и растворы полимеров подвергали воздействию ионизирующего излучения на ускорителе электронов УЭЛВ-10-10 ГНУ «ОИЭиЯИ-Сосны» НАН Беларуси в диапазоне поглощенной дозы от 5 до 35 кГр.

Воздействие ионизирующего излучения на полимеры происходит опосредованно, через продукты радиолиза воды ($\text{H}_2\text{O} \rightarrow e^-_{\text{aq}}, \text{H}\cdot, \text{OH}, \text{H}_2, \text{O}, \text{H}_2\text{O}_2, \text{H}^+_{\text{aq}}, \text{OH}^-_{\text{aq}}$), т. е. радиолитические превращения растворенных веществ в водных растворах осуществляются по механизму косвенного действия ионизирующего излучения [4]. Гидроксильные радикалы ($\cdot\text{OH}$) отрывают атомы водорода от структурных единиц ПВП и ПЭО с образованием макрорадикалов. Макро-радикалы, вступая в реакции рекомбинации, образуют новые внутри- и межмолекулярные ковалентные связи (сшивки), в результате образуется гидрогелевая матрица, представляю-

щая собой трехмерную полимерную сетку. Агар не сшивается с ПВП и ПЭО, а играет роль наполнителя. Полученные гидрогели не растворяются в воде, не плавятся при нагревании, приобретают эластичность и механическую прочность.

В ^1H ЯМР спектре гидрогеля можно идентифицировать сигналы ПЭО в области 3,56–3,58 м. д. Наибольшее количество сигналов в спектре принадлежит основному компоненту – ПВП. Это подтверждается сравнением спектра исходного ПВП с его расчетной моделью и спектром гидрогелевой матрицы. В спектре гидрогеля для ПВП наиболее характеристичными являются сигналы в области 1,45–2,32 и 3,18–3,67 м. д.

При рассмотрении ^1H ЯМР спектров гидрогеля, облученного дозами 25 и 35 кГр (рис. 1), видно, что практически полностью исчезают сигналы ПВП (остаточное количество составляет 3 и 1,5% соответственно). На наш взгляд, это связано с процессом образования трехмерной полимерной структуры гидрогелевой матрицы. Были записаны спектры лекарственных веществ с целью идентификации структуры и изучения стабильности.

Антисептик мирамистин представляет собой соль четвертичного аммониевого соединения – миристамидопропилдиметилбензиламмония хлорид моногидрат.

Полученные данные химических сдвигов соответствуют приведенной формуле (рис. 2) ^1H δ , м. д.: 1 – 2,9; 2 – 1,95; 3 – 3,11; 2' – 1,95; 3' – 1,29; 4' – 13' – 1,05 – 1,25; 14' – 0,82; 2'' – 6'' – 7,38; 3'' – 5'' – 7,27; 4'' – 7,22; 2'' – 4,35 и 8'' – 9'' – 2,89. Экспериментально полученные спектры хорошо согласуются с расчетными.

Анализ субстанции мирамистина после радиационной обработки показал, что в ^1H ЯМР спектре его водного раствора появляются дополнительные, незначительной интенсивности сигналы различной мультиплетности δ , м. д.: 1,43; 1,75; 2,17; 2,39; 2,59; 2,76; 5,21; 7,01; 7,09; 7,26; 7,81 – которые принадлежат продуктам распада, образующимся при облучении. Сравнивая интегральные интенсивности исходного соединения и образовавшихся продуктов можно утверждать, что общая степень деструкции составляет 0,3–0,5%.

Гентамицин – водорастворимый антибиотик группы аминогликозидов. Основными компонентами гентамицинового комплекса являются гентамицины группы С – гентамицины C_1 , C_{1a} , C_2 , C_{2a} , C_{2b} .

В ЯМР-спектре гентамицина сульфата присутствует значительное количество сигналов, являющихся суперпозицией сигналов различной интенсивности. В связи с этим отнесение отдельных сигналов к той или иной структуре является весьма сложной задачей. Кроме того, как показали дальнейшие исследования, радиационная обработка субстанции гентамицина сульфата практически не затрагивает скелет изомеров (появляются очень слабые сигналы в области 3,61–3,67 м. д.).

Следует отметить, что в спектрах облученной субстанции наряду с сигналом воды совместно с гидроксильными и аминными группами гентамицина и серной кислоты, обменивающимися протонами ($\delta = 4,64$ м. д.), появляются широкие сигналы кислотного характера ($\delta = 7,00$ и $8,00$ м. д.), что по-видимому, связано с разрушением соли и появлением свободной серной кислоты, не обменивающейся протонами с водой.

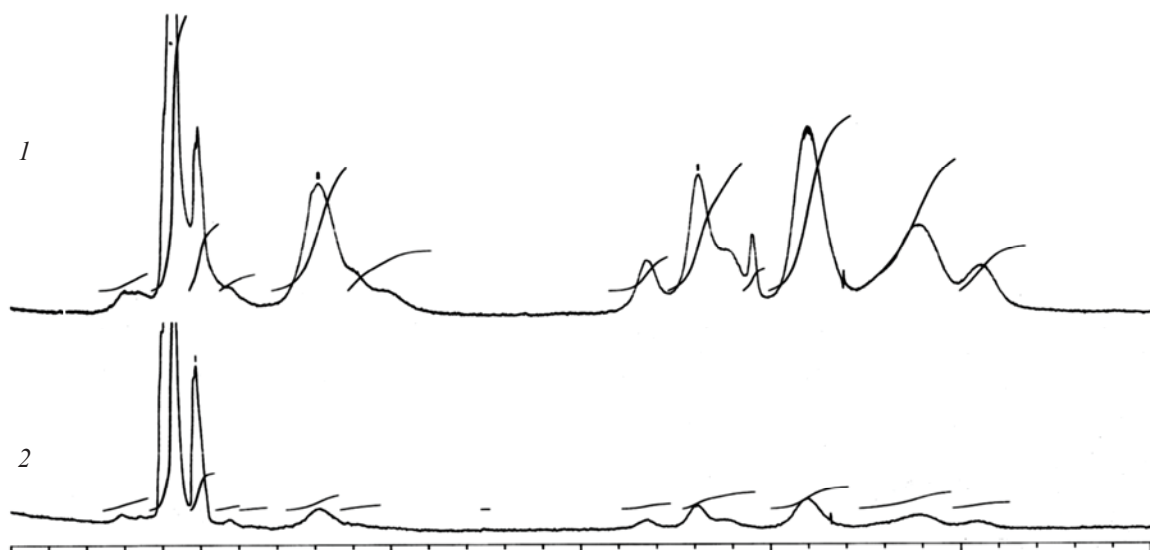
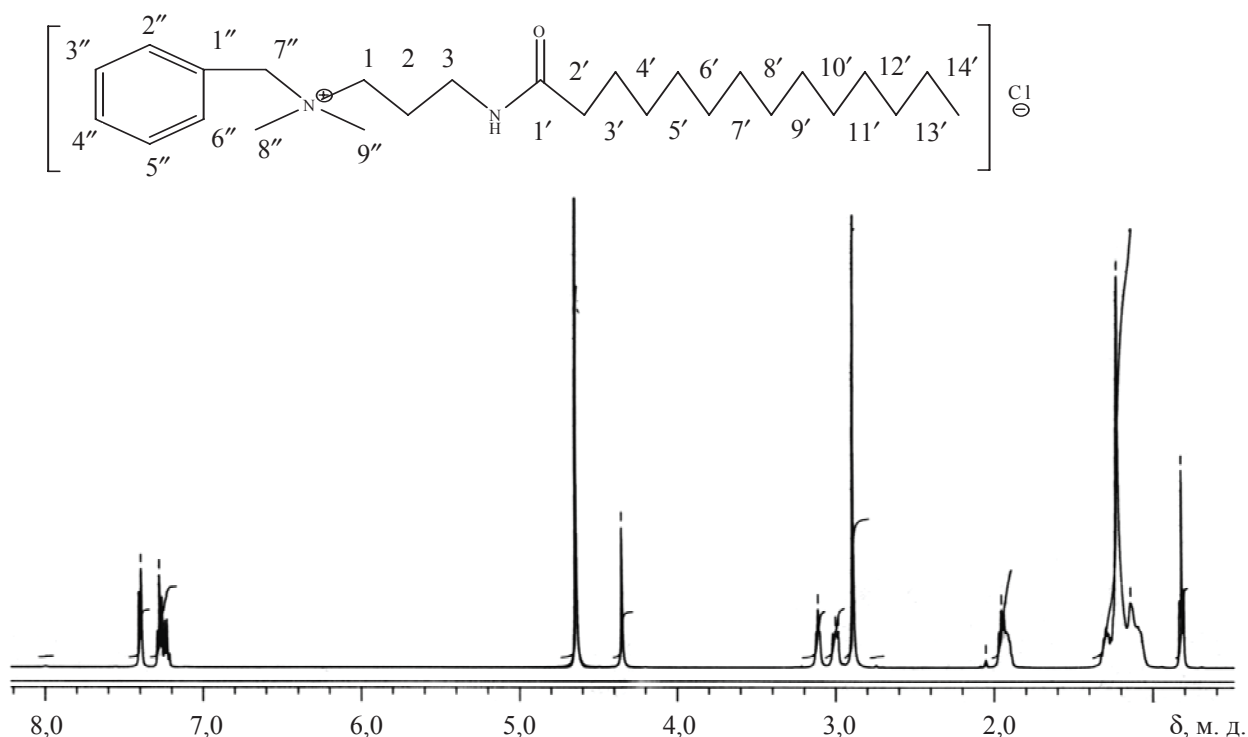


Рис. 1. Спектры ^1H ЯМР гидрогелей:
1 – до облучения; 2 – после облучения дозой 25 кГр

Рис. 2. Спектры ^1H ЯМР мирамистина после облучения

Сравнение интегральных интенсивностей в исходном спектре и спектре после облучения позволяет утверждать, что общая степень деструкции составляет около 1%.

Исследовано влияние ионизирующего излучения на мирамистин и гентамицин в составе гидрогелевых полимерных матриц. Установлено, что при воздействии ускоренных электронов на гидрогели поглощенной дозой 5–35 кГр мирамистин и гентамицин сохраняют структуру и степень их деструкции не превышает степени деструкции субстанций, облученных в сухом виде (менее 1%).

Заключение. В результате проведенных исследований с использованием ЯМР-спектроскопии полностью подтверждена структура компонентов гидрогелевой матрицы и активных субстанций. Изучено влияние ионизирующего излучения поглощенными дозами в диапазоне от 5 до 35 кГр на стабильность гидрогелей, мирамистина и гентамицина. Сравнение спектров гидрогелей до и после облучения позволило оценить степень сшивки полимеров (около 98%) при облучении дозой 25–35 кГр. Установлено, что при облучении мирамистина и гентамицина различными дозами происходит их незначительная деструкция, как правило, менее 1%.

Записаны ^1H и ^{13}C спектры ЯМР гидрогелевых матриц, содержащих мирамистин и гентамицин, и проведено отнесение резонансных

сигналов. Доказано сохранение структуры исследованных фармацевтических субстанций в составе гидрогелевых полимерных матриц после воздействия ионизирующего излучения поглощенной дозой от 5 до 35 кГр.

Литература

1. Противомикробное и ранозаживляющее средство на основе гидрогелевой полимерной матрицы: пат. 11060 Респ. Беларусь, МПК (2006) А 61L 15/16 / П. Т. Петров [и др.]; заявитель и патентообладатель РУП «Белмедпрепараты»; заявл. 21.10.05; опубл. 30.06.07 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2008. – № 4 (63). – С. 62.
2. Бенько, А. Н. Новые технологии лечения травматических дефектов мягких тканей конечностей с использованием лекарственных форм на основе гидрогеля: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.22 / А. Н. Бенько; Респ. науч.-практ. центр травматологии и ортопедии. – Минск, 2008. – 27 с.
3. Карман, А. Д. Обоснование комплексного метода лечения рожистого воспаления: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / А. Д. Карман; Бел. гос. мед. ун-т. – Минск, 2008. – 20 с.
4. Пикаев, А. К. Современная радиационная химия. Радиолит газы и жидкости / А. К. Пикаев. – М.: Наука, 1986. – 440 с.

Поступила 16.03.2012