

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ И ХЛОРИСТОВОДОРОДНОЙ КИСЛОТЫ НА СТРОЕНИЕ ГИДРАТНОГО ПОКРОВА ПАНКРЕАТИНА

Л.П. Морозова¹, А.П. Угнивенко¹, Т.В. Крупская¹, И.С. Чекман², В.В. Туров¹

¹Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины, ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, v_turov@ukr.net

²Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца, 01601, Киев, бульвар Тараса Шевченко, 13

Методом низкотемпературной ¹H ЯМР-спектроскопии изучено влияние органических веществ и хлористоводородной кислоты на состояние воды, адсорбированной порошком панкреатина, содержащего фиксированное количество (50 мг/г) остаточной воды. Показано, что вода, адсорбированная частицами твердого панкреатина, присутствует в виде системы кластеров, различающихся по степени ассоциированности и прочности связывания воды. Слабополярная среда хлороформа стабилизирует адсорбированную воду в виде кластеров с химическими сдвигами $\delta_H = 3,5$ и $4,5$ м.д., средний радиус которых составляет 15 и 6 нм, соответственно. В присутствии HCl появляются кластеры раствора H₂O–HCl ($\delta_H = 8$ м.д.), из которых вода вымерзает при относительно высокой температуре в виде кристаллов со средним радиусом 2 и 20 нм. В смесях органических растворителей CDCl₃–CD₃CN и CDCl₃–ДМСО присутствие полярных веществ слабо влияет на химический сдвиг основного сигнала адсорбированной воды, что свидетельствует о плохой растворимости этих веществ в кластерах (доменах) сильноассоциированной воды.

Введение

Ферментные препараты используют для лечения заболеваний или нарушений, вызванных дефицитом пищеварительных ферментов. Пищеварительное ферментное средство Креон восполняет дефицит ферментов поджелудочной железы, оказывает протеолитическое, амилалитическое и липолитическое действие [1–3]. Входящие в его состав панкреатические ферменты (липаза, альфа-амилаза, трипсин, химотрипсин) способствуют расщеплению белков до аминокислот, жиров – до глицерина и жирных кислот, крахмала – до декстринов и моносахаридов, улучшают функциональное состояние желудочно-кишечного тракта, нормализуют процессы пищеварения. При этом трипсин подавляет стимулированную секрецию поджелудочной железы, оказывая анальгезирующее действие. Панкреатические ферменты высвобождаются из лекарственной формы в слабощелочной среде тонкого кишечника, т.к. защищены от действия желудочного сока желатиновой оболочкой. Максимальная ферментативная активность препарата отмечается через 30–45 мин после перорального приема.

Процессы гидролитического расщепления компонентов пищи проходят в сложной смеси биополимерных и низкомолекулярных органических веществ, в которых может также находиться определенное количество хлористоводородной кислоты. Поскольку концентрация пищеварительных ферментов на несколько порядков ниже концентрации других веществ, присутствующих в желудочно-кишечном тракте, изучать процессы молекулярных взаимодействий с участием пищеварительных ферментов и компонентов пищи крайне сложно. Первым шагом в этом направлении может стать исследование процесса гидратации панкреатина и влияния на связанную с ним воду добавок некоторых типов органических веществ и хлористоводородной кислоты. Предполагается, что такой подход может моделировать взаимодействие активных центров молекул ферментов с различными участками

молекулярных комплексов компонентов пищи, имеющих разную химическую природу, в результате чего в зазоре между ними для межфазной воды создаются разные типы локального органического окружения.

Одним из немногих методов, позволяющих изучать строение гидратной оболочки биополимеров и твердых высокодисперсных веществ, является метод низкотемпературной ^1H ЯМР спектроскопии [4–7]. Количество связанной воды может быть определено по интенсивности сигнала ЯМР воды при температурах ниже 273 К, поскольку понижение температуры замерзания воды определяется адсорбционными взаимодействиями с молекулами биополимеров (высокодисперсных веществ) и формированием гидратных структур вокруг растворенных в среде низкомолекулярных молекул [7]. При этом различают сильно- и слабосвязанную воду (SBW и WBW, соответственно). Согласно [4–7] сильносвязанной можно считать ту часть незамерзающей воды, которая может переходить в твердое состояние при $T < 260$ К (понижение свободной энергии Гиббса $\Delta G < -0,5$ кДж/моль). Строение гидратных комплексов определяется средним числом протонов, участвующих в формировании водородных связей с соседними молекулами (n). В жидкой воде $n = 1,3-1,5$ [7], что отвечает химическому сдвигу протонов $\delta_{\text{H}} = 4,5-5$ м.д. Если $n = 1$, то $\delta_{\text{H}} = 2,5-3,5$ м.д., в зависимости от прочности образуемых водородных связей. Для $n = 2$ (лёд), $\delta_{\text{H}} = 7$ м.д. [8]. Сильноассоциированной водой (SAW) можно считать воду, для которой $n \geq 1$. При $n < 1$ вода является слабоассоциированной (WAW) или неассоциированной. Следует отметить, что даже неассоциированная вода может формировать на границе раздела фаз ассоциаты или полиассоциаты по механизму гидрофобной гидратации (за счет вандерваальсовых взаимодействий).

Экспериментальная часть

Исследовали микрогранулы Креона 10000 (без защитной желатиновой оболочки), в которых содержалось 150 мг активного вещества панкреатина, что соответствует 10000 ЕД Евр.Ф. липазы, 8000 ЕД Евр.Ф. амилазы, 600 ЕД Евр.Ф. протеазы. Вспомогательные вещества, входящие в состав микрогранул: макрогол 4000 (ПЭГ 4000) – 37,50 мг, метилгидроксипропилцеллюлозы фталат – 56,34 мг, диметикон (полидиметилсилоксан) 1000 – 1,35 мг, цетиловый спирт ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{OH}$) – 1,18 мг, триэтилцитрат – 3,13 мг.

Микрофотографирование порошков и эмульсий проводили с помощью микроскопа Primo Star (Carl Zeiss, Германия) при увеличении $\times 1000$ с использованием иммерсии.

ЯМР-спектроскопия: Спектры ЯМР снимали на ЯМР-спектрометре высокого разрешения Varian “Mercury” с рабочей частотой 400 МГц. Использовали 90° зондирующий импульс длительностью 3 мкс и шириной полосы 20 кГц. Температура в датчике регулировалась термоприставкой Bruker VT-1000 с точностью ± 1 град. Интенсивности сигналов определялись путем измерения площади пиков с использованием процедуры разложения сигнала на его составляющие в предположении гауссовской формы сигнала и оптимизации нулевой линии и фазы с точностью, которая для хорошо разрешенных сигналов была не ниже 5 %, а для перекрывающихся сигналов – ± 10 %. Для предотвращения переохлаждения воды в исследуемых объектах, измерения концентрации незамерзающей воды проводили при нагревании образцов, предварительно охлажденных до температуры 210 К. Методика ЯМР-измерений и определения термодинамических характеристик и радиуса кластеров межфазной воды подробно описаны в [4–7].

Для определения геометрических размеров кластеров адсорбированной воды использовали уравнение Гиббса–Томсона, связывающее радиус сферического или

цилиндрического водного кластера или домена (R) с величиной депрессии температуры замерзания [7, 9, 10]:

$$\Delta T_m = T_m(R) - T_{m,\infty} = \frac{2\sigma_{sl}T_{m,\infty}}{\Delta H_f \rho R}, \quad (1)$$

где $T_m(R)$ – температура плавления льда, локализованного в порах радиуса R , $T_{m,\infty}$ – температура плавления объемного льда, ρ – плотность твердой фазы, σ_{sl} – энергия взаимодействия твердого тела с жидкостью и ΔH_f – объемная энтальпия плавления. Для практического использования ур. (1) можно применять в виде $\Delta T_m = (k/R)$, в котором константа k для многих гетерогенных систем, содержащих воду, близка к 50 К нм [9].

Если предполагать, что влияние поверхности границы раздела фаз распространяется на несколько молекулярных слоев вглубь жидкой фазы, то процесс замерзания (размерзания) межфазной воды, локализованной в твердой пористой матрице, проходит в соответствии с изменениями свободной энергии Гиббса, обусловленными влиянием поверхности. Оно тем меньше, чем дальше от поверхности изучаемый слой воды. При $T = 273$ К замерзает вода, свойства которой не отличаются от объемных, а по мере понижения температуры (без учета эффекта переохлаждения) замерзают ближе расположенные к поверхности слои воды, причем для изменения свободной энергии межфазной воды справедливо соотношение:

$$\Delta G_{ice} = -0,036(273,15 - T), \quad (2)$$

где численный коэффициент представляет собой параметр, связанный с температурным коэффициентом изменения свободной энергии Гиббса для льда [11]. Определяя по величине интенсивности сигнала температурную зависимость концентрации незамерзающей воды $C_{uw}(T)$ в соответствии с методикой, подробно описанной в [4–7], можно рассчитать количества сильно- и слабосвязанной воды, а также термодинамические характеристики этих слоев.

Межфазная энергия воды на границе с твердыми частицами или в ее водных растворах определялась как модуль суммарного понижения свободной энергии воды, обусловленного наличием границы раздела фаз [4–7] по формуле:

$$\gamma_s = -K \int_0^{C_{uw}^{\max}} \Delta G(C_{uw}) dC_{uw}, \quad (3)$$

где C_{uw}^{\max} – общее количество незамерзающей воды при $T = 273$ К.

Термогравиметрические исследования проводили на дериватографе MOM Pauliak and Pauliak (Венгрия) в температурном интервале 293 – 1293 К. Скорость нагрева составляла 10 град/мин. Измерения проводились в воздушной среде.

Результаты и обсуждение

Микрофотографии порошка панкреатина (*a*) и его водной суспензии (*b*) приведены на рис. 1. Частицы панкреатина имеют размер 1–5 мкм. В водной среде они плохо растворяются и сохраняют свой внешний вид в течении нескольких часов.

Термограммы, полученные в процессе нагрева микрокапсул панкреатина, приведены на рис. 2. На кривой потери массы наблюдается несколько изломов, характеризующихся пиками на кривой ДТГ. Первый пик, расположенный при температуре вблизи 390 К, может быть отнесен к испарению с поверхности физически связанной воды. Общее количество десорбированной воды отвечает 50 мг/г. Второй пик на кривой ДТГ может отвечать десорбции низкомолекулярных веществ (цетиловый

спирт) и полимеров, таких как полиэтиленгликоль и полидиметилсилоксан. При более высоких температурах происходит термодеструкция биополимеров с образованием углерода (который может превращаться в окись и двуокись углерода), а также минеральных остатков. Зольность продуктов термолиза панкреатина оказалась достаточно высокой и составляла около 40 % от массы навески исходного образца. Кривая ДТА имеет выпуклый вид, характерный для эндотермических процессов испарения низкомолекулярных и термодеструкции высокомолекулярных биополимерных веществ.

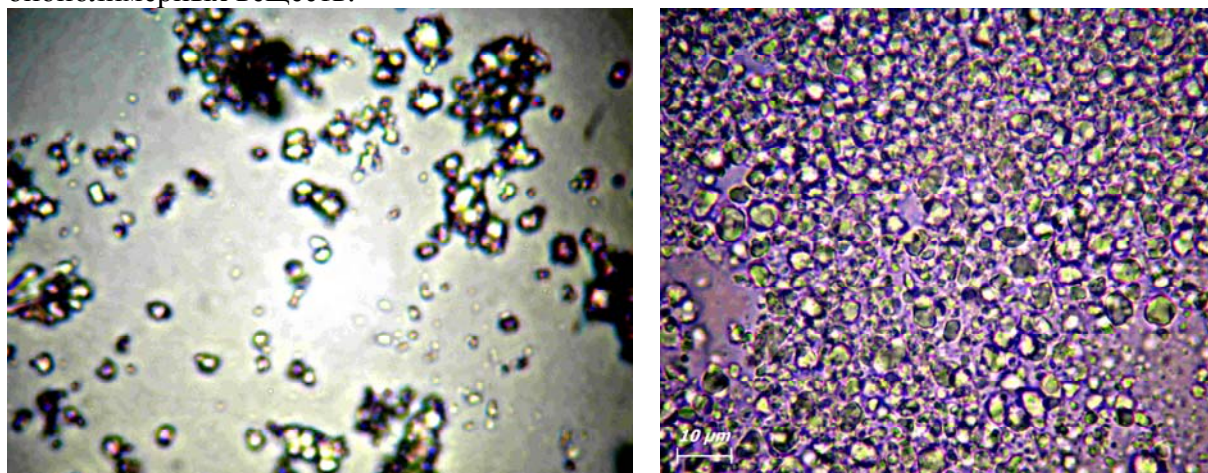


Рис. 1. Микрофотографии порошка панкреатина (а) и его водной суспензии (б) при увеличении $\times 1000$ с использованием иммерсии.

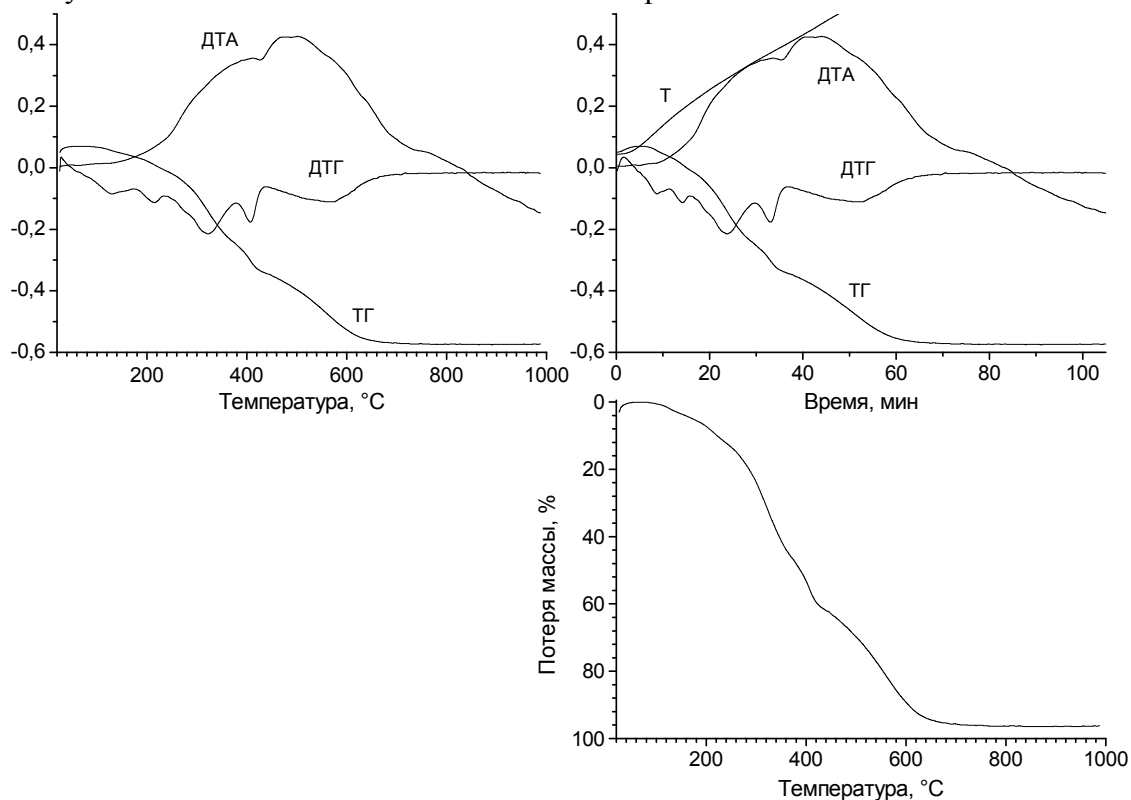


Рис. 2. Термограммы деструкции микрогранул панкреатина в воздушной среде.

Полученные при разной температуре ^1H ЯМР спектры панкреатина, содержащего 50 мг/г адсорбированной воды, снятые в разных средах, приведены на рис. 3. На воздухе в спектрах регистрируются два широких сигнала (рис. 3 а),

слабоинтенсивный сигнал 1 с химическим сдвигом $\delta_H = 0-1$ м.д. и интенсивный сигнал 2 с химическим сдвигом $\delta_H = 4-6$ м.д. В соответствии с составом микрогранул за сигнал в сильных магнитных полях (сигнал 1) могут быть ответственны метильные группы полидиметилсилоксана и метиленовые группы макрогола. Кроме того в этой спектральной области обычно наблюдается сигнал, отвечающий слабоассоциированным формам воды.

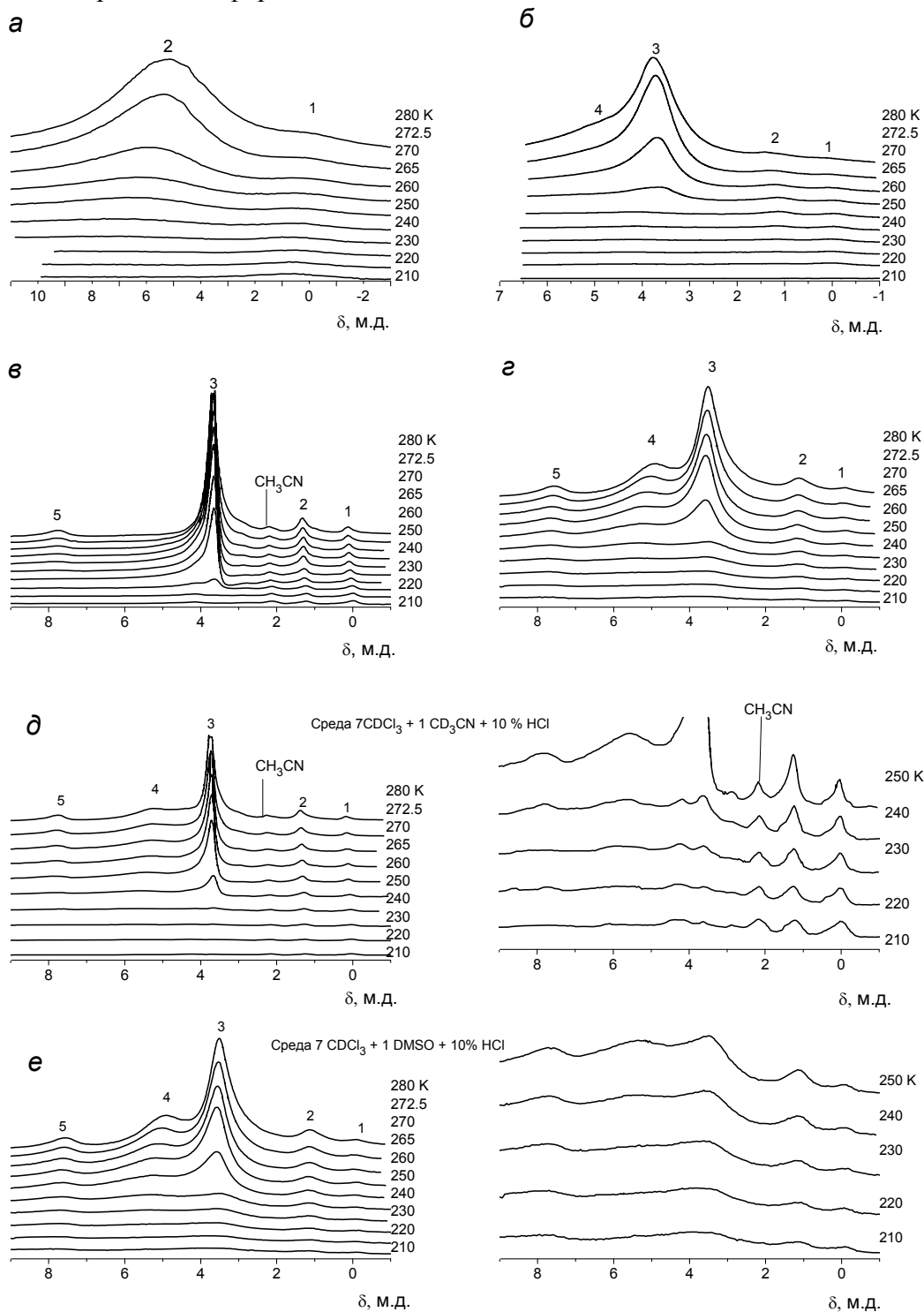
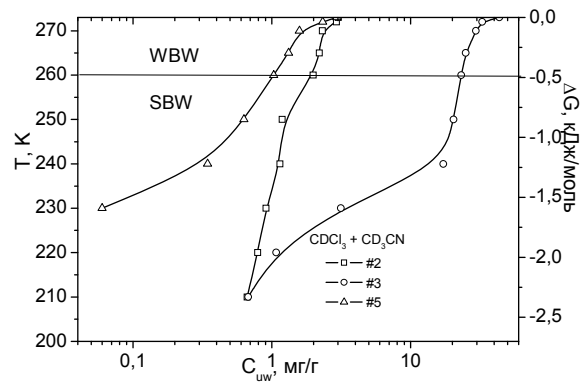
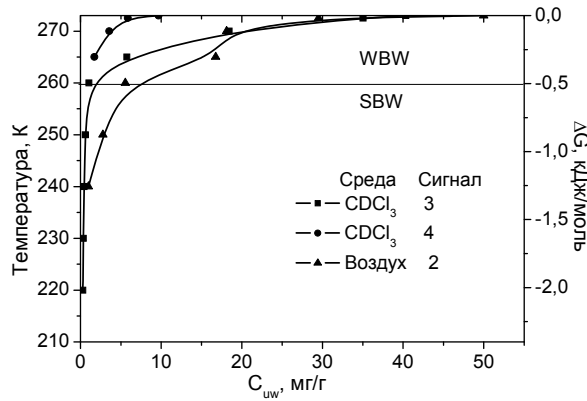
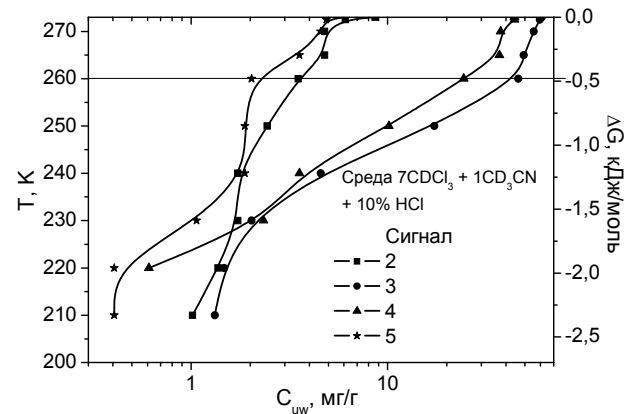
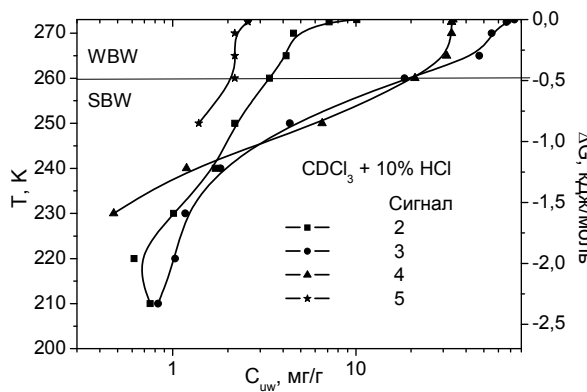


Рис. 3. Снятые при разных температурах спектры ^1H ЯМР микрогранул панкреатина, содержащего 50 мг/г адсорбированной воды на воздухе (а), в среде хлороформа (б), смесях хлороформа с ацетонитрилом (в – д), ДМСО (е) с добавками хлористоводородной кислоты (з – е).

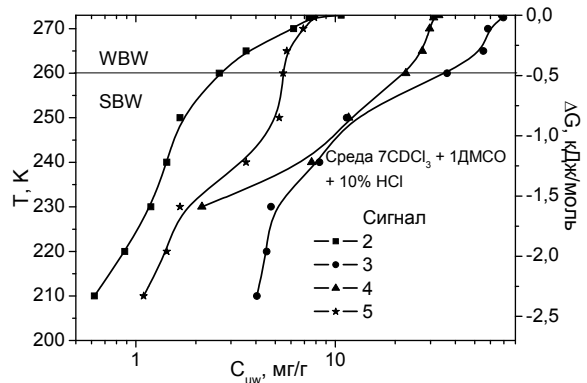


a



в

г



д

Рис. 4. Зависимости концентрации незамерзающей воды от температуры для твердого панкреатина в воздушной и органической средах: (а) – на воздухе и в среде CDCl_3 ; (б) – смеси 7:1 $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{CN}$; (в) – среде CDCl_3 с добавкой 100 мг/г 36% HCl ; (г) смеси 7:1 $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{CN}$ с добавкой 100 мг/г 36% HCl ; (д) смеси 7:1 $\text{CDCl}_3 + \text{DMCO}$ с добавкой 100 мг/г 36% HCl .

В среде дейтерохлороформа (рис. 3 б) ширина сигналов уменьшается, что дает возможность регистрировать четыре сигнала (сигналы 1–4), из которых первые два отвечают сигналам метильных ($\delta_{\text{H}} = 0$ м.д.) и метиленовых групп ($\delta_{\text{H}} = 1$ м.д.) органических добавок (сигнал 2 может также содержать вклад от слабоассоциированной воды) и два сигнала сильноассоциированной воды (сигналы 3–

4, $\delta_H = 3,8$ и 5 м.д., соответственно) с разной степенью ассоциированности (разное значение параметра n , большее для сигнала 4).

В смеси 7:1 дейтерохлороформа с дейтероацетонитрилом в спектрах появляется сигнал метильных групп CD_3CN ($\delta_H = 2,2$ м.д., рис. 3 в). Сигнал 4 исчезает, а взамен него появляется сигнал 5, с химическим сдвигом $\delta_H = 8$ м.д. При добавлении к хлороформу 100 мг/г хлористоводородной кислоты (по отношению к массе микрогранул панкреатина) в спектрах фиксируются все пять сигналов (рис. 3 з), причем интенсивность сигнала 5 ($\delta_H = 8$ м.д.) несколько выше, чем в среде $7CDCl_3 + 1CN_3CN$ (рис. 3 в). Поскольку концентрация хлористоводородной кислоты вдвое превышает концентрацию воды в микрогранулах панкреатина (рис. 2), а ее химический сдвиг соответствует 8 – 10 м.д. [12], при быстром молекулярном обмене воды, входящей в состав разных гидратных структур, можно было ожидать существенного смещения в присутствии HCl сигналов воды в область слабых магнитных полей (высоких значений химического сдвига). Тем не менее, этого не происходит. Из всех присутствующих в спектре сигналов только химический сдвиг сигнала 5 отвечает химическому сдвигу гидратированных молекул HCl. Вероятно, растворение HCl в гидратной воде не происходит, а значительная часть кислоты, взаимодействуя с основными центрами панкреатина, формирует солеобразные аддукты, которые не проявляются в спектрах ввиду малого времени поперечной релаксации в твердых телах.

В смешанных средах ($7CDCl_3 + 1CD_3CN$ и $7CDCl_3 + 1DMCO$, рис. 3 д, е) вид спектров остается близким к полученному в среде хлороформа (рис. 3 з). Различия наблюдаются только в области низких температур и при высокой чувствительности спектрометра (спектры, расположенные в правой части рис. 3 д, е). Как видно из этого рисунка, при низких температурах сильноассоциированная вода может наблюдаться в виде одного - трех сигналов с разными значениями химического сдвига, интенсивности которых по-разному изменяются с температурой.

Зависимости концентрации незамерзающей воды от температуры и изменения свободной энергии Гиббса, рассчитанные по данным рис. 3 в соответствии с ур. (2) в координатах $C_{uw}(T, \Delta G)$ приведены на рис. 4 а-д (номера сигналов на рис. 4 отвечают спектрам на рис. 3). Расчеты проводились для тех сигналов, которые можно было идентифицировать и измерить интегральные интенсивности в достаточно широком диапазоне температур. На рис. 4 а приведена зависимость изменения концентрации сильноассоциированной воды от температуры на воздухе ($\delta_H = 5$ м.д.). Часть воды, которая замерзает при $T < 260$ К, является сильносвязанной. Термодинамические характеристики слоев связанной воды и значения межфазной энергии, рассчитанные в соответствии с ур. 3, приведены в табл. 1. Поскольку сигнал 1 на рис. 3 а может относиться не только к воде (WAW), но и к протонам метильных и метиленовых групп добавок, присутствующих в панкреатине, расчеты проводились в предположении, что воде отвечает только сигнал 2. На этом же рисунке приведены зависимости $C_{uw}(T, \Delta G)$ для сигналов 3 и 4 SAW в среде $CDCl_3$. Сигнал 4 обусловлен только слабосвязанной водой, в то время как около 5 % воды, отвечающей за сигнал 3, является сильносвязанной. В воздушной среде доля сильносвязанной воды увеличивается до 15 %. Интенсивность сигнала 2 ($\delta_H = 1,2$ м.д.) с температурой изменяется слабо. Вероятно, большая часть интенсивности этого сигнала обусловлена метиленовыми группами ПЭГ.

Таким образом, слабополярная органическая среда уменьшает связывание воды с поверхностью твердых частиц панкреатина. Аналогичный эффект наблюдался ранее для разных типов твердых адсорбентов [6, 7]. Он обусловлен преимущественным формированием вандерваальсовых комплексов слабополярных (неполярных) веществ в наноразмерных клиновидных зазорах, образованных кластерами (доменов)

сильноассоциированной воды и поверхностью, в результате чего связывание SAW с поверхностью уменьшается [7].

В смешанной органической среде $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ (рис. 3 з и 4 в) количество сильносвязанной воды (SAW, сигнал 3) становится еще большим, достигая 40 % от общего количества связанной воды. Кроме нее в спектрах присутствуют сигналы 2 и 5. Интенсивность сигнала 5 ($\delta_{\text{H}} = 7,5$ м.д.) с температурой изменяется значительно больше, что позволяет идентифицировать этот сигнал как одну из форм воды. По величине химического сдвига можно предположить, что вода, ответственная за этот сигнал, входит в состав прочных водородносвязанных комплексов либо кластеров, содержащих молекулы кислоты.

При добавлении хлористоводородной кислоты к образцу панкреатина в среде CDCl_3 (рис. 3 з и рис. 4 в) концентрации сильносвязанной воды (за которую ответственны сигналы 3, 4) существенно возрастает и становится близкой к концентрации SBW в образце, содержащей смесь $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ (рис. 4 б). Сигнал 5 (с химическим сдвигом $\delta_{\text{H}} \approx 8$ м.д.) может быть вызван молекулами HCl , сольватированными водой. Для образцов панкреатина в смешанных органических средах на основе дейтерохлороформа и ацетонитрила (ДМСО), содержащих добавку 10 % мас. (по отношению к массе панкреатина) хлористоводородной кислоты (рис. 3 д, е и рис. 4 з, д), в спектрах фиксируются те же сигналы, что и на рис. 3 з. Однако количество воды, ответственное за сигнал 5 становится существенно большим. Для образца в смеси $7\text{CDCl}_3 : 1\text{ДМСО}$ оно достигает 8 мг/г. В зависимости от среды несколько изменяется также и соотношение концентраций воды, ответственной за сигналы 3 и 4. Поскольку снижение температуры замерзания определяется размерами кластеров адсорбированной воды [7, 10], наиболее вероятной причиной изменения хода зависимостей $C_{\text{ув}}(T)$ есть изменение размеров кластеров адсорбированной панкреатином воды при изменении состава среды. Соответствующие распределения по размерам кластеров (РКР) приведены на рис. 4.

В исходном образце с 50 мг/г остаточной воды она представлена распределением по радиусам кластеров с максимумами при $R = 1,5$ и 50 нм (рис 5 а). Среда дейтерохлороформа стабилизирует кластеры, радиус которых составляет $R = 10 - 20$ нм (сигнал 3, рис. 3 в), а также кластеры с радиусами $R = 6 - 50$ нм (сигнал 4). В смешанном растворителе $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ основной сигнал (сигнал 3, рис. 3 б) обусловлен кластерами с $R = 1, 6$ и 50 нм (рис. 4 б). При этом для сигналов 2 и 4 максимумы распределений отвечают $R = 2$ и 20 нм. В среде CDCl_3 с добавкой HCl основная часть воды (сигналы 3, 4, рис. 3 з) представлена кластерами с $R = 2 - 3$ нм (рис. 5 в). Для сигнала 3 наблюдаются максимумы РКР при $R = 20$ нм, а для сигнала 5 (рис. 2 з) при $R \approx 2$ и 20 нм. Добавление к смеси $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ хлористоводородной кислоты для сигнала 3 увеличивает вклад от кластеров с $R \approx 20$ нм и уменьшает вклад от кластеров большего размера. Одновременно возрастает вклад от кластеров с $R \approx 2$ и 20 нм, представленных в спектрах сигналом 4 (рис. 3 д). В смешанной среде $7\text{CDCl}_3 + 1\text{ДМСО}$ с добавкой HCl основной сигнал воды (сигнал 3, рис. 3 е) представлен кластерами с $R \approx 2 - 3$ и 20 нм (рис. 5 д), а сигнал 4 – кластерами с $R \approx 2$ нм.

Характеристики слоев воды на поверхности частиц панкреатина в различных органических средах приведены в табл. 1. Расчеты выполнялись для каждого сигнала воды, регистрируемого в спектрах, в предположении, что общая концентрация воды была постоянной и равной 50 мг/г в образцах, не содержащих HCl , и 120 мг/г в присутствии хлористоводородной кислоты.

При замене воздушной среды жидким CDCl_3 взаимодействие частиц панкреатина с водной средой несколько возрастает за счет роста вклада от

слабосвязанной воды. Добавление полярного CD_3CN приводит к значительному уменьшению концентрации слабосвязанной воды и росту количества незамерзающей воды, обусловленному сигналом 3, а также водой, ответственной за сигнал 2, которая не замерзает во всем диапазоне температур. Для сигнала 2 величина $\Delta G^s = 4,2$ кДж/моль, что обусловлено формированием растворов, из которых вымерзание воды может осуществляться только при очень низких температурах. В присутствии хлористоводородной кислоты значительная часть незамерзающей воды обусловлена кластерами воды, частично растворяющих HCl или образующих с ней растворы (сигналы 4, 5). Значительный вклад от слабосвязанной воды появляется только в присутствии ДМСО. Вероятно, в этом случае в сложной многокомпонентной системе, состоящей из частиц твердого панкреатина, адсорбированных на его поверхности молекул воды, HCl и органических веществ, часть воды формирует объемные кластеры, плохо растворяющие посторонние вещества. Эти кластеры могут замерзать при относительно высоких температурах.

Таблица. Термодинамические параметры слоев воды, адсорбированной панкреатином в различных средах

Среда	Хим. сдвиг м.д. (№ сигнала)	ΔG^s , кДж/моль	C_{uw}^s , мг/г	C_{uw}^w , мг/г	γ^s , Дж/г
воздух	7 (№ 2)	-2,2	6,5	43,5	-0,6
$CDCl_3$	4 (№ 3)	-2,3	1,5	46,2	-0,5
	5 (№ 4)	-	-	12,0	-0,4
$7CDCl_3$ + $1CD_3CN$	1,2 (№ 2)	-4,2	1,9	1,1	-0,1
	4,2 (№ 3)	-2,8	22,9	20,1	-1,7
	7,3 (№ 5)	-2,1	1,0	1,9	-0,1
	Всего				-1,9
$CDCl_3$ + 10 % HCl	1 (№ 2)	-2,9	3,3	1,6	-0,2
	3,5 (№ 3)	-3,4	38,4	46,8	-2,2
	5 (№ 4)	-1,8	20,2	13,7	-1,1
	7,3 (№ 5)	-2,1	0,8	3,2	-0,08
	Всего				-2,5
$7CDCl_3$ + $1CD_3CN$ + 10 % HCl	1,2 (№ 2)	-3,3	5,5	2,3	-0,3
	4 (№ 3)	-3,2	68,7	24,7	-3,4
	5,8 (№ 4)	-3,0	5,3	5,9	-0,4
	7,3 (№ 5)	-2,3	2,3	6,6	-0,2
	Всего				-4,2
$7CDCl_3$ + 1DMSO + 10 % HCl	1 (№ 2)	-3,2	3,4	1,3	-0,2
	3,5 (№ 3)	-2,9	34,8	47,6	-2,2
	5 (№ 4)	-6,4	25,9	11,2	-1,5
	7,3 (№ 5)	-3,4	5,5	2,4	-0,3
	Всего				-3,9

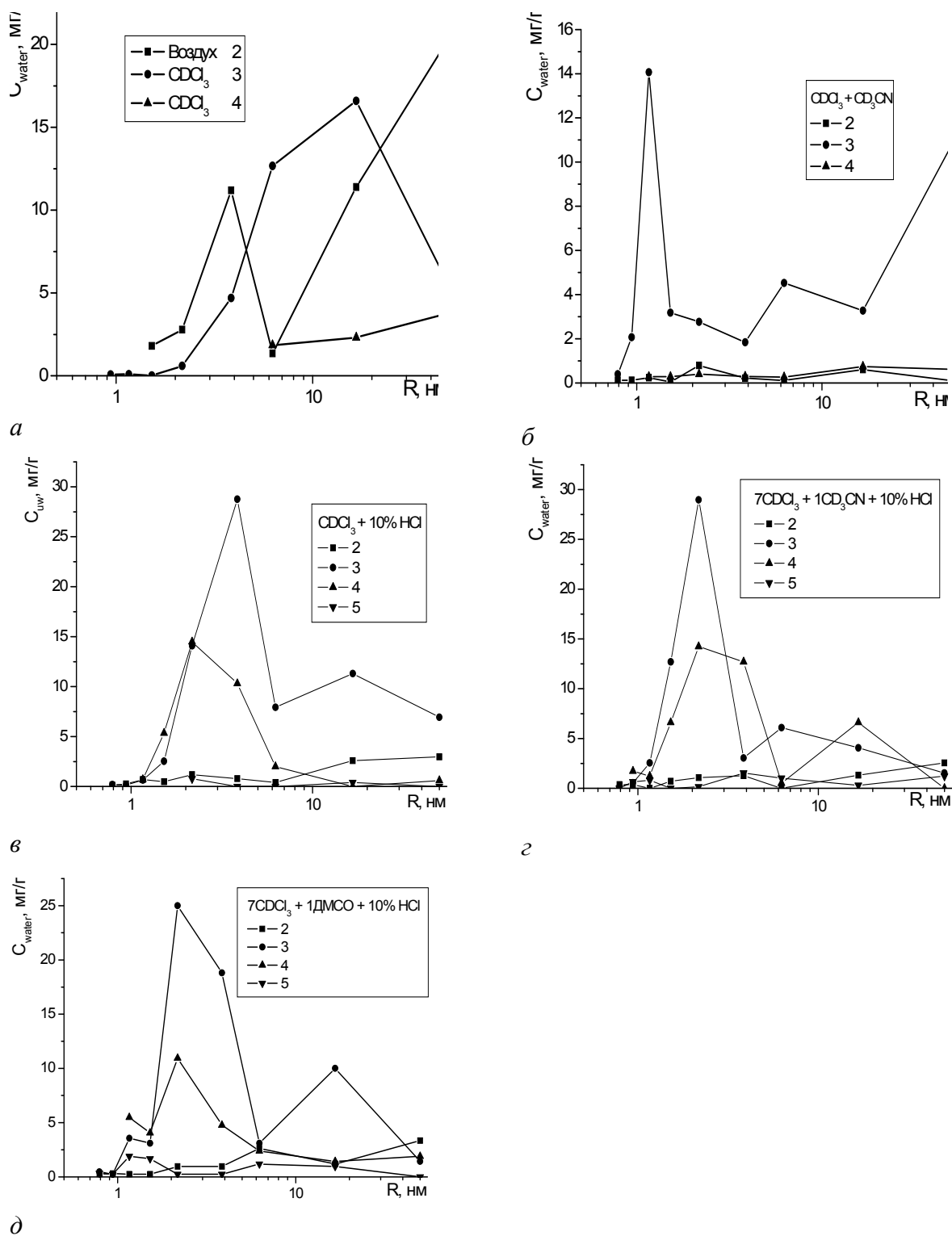


Рис. 5. Распределения по радиусам кластеров воды, адсорбированной на поверхности твердых частиц панкреатина, в воздушной среде и средах органических растворителей.

Выводы

Вода, адсорбированная частицами твердого панкреатина, может находиться в виде системы кластеров, различающихся по степени ассоциированности и прочности связывания воды. Слабополярная среда хлороформа стабилизирует адсорбированную

воду в виде кластеров с химическими сдвигами $\delta_H = 3,5$ и $4,5$ м.д., средний радиус которых составляет 15 и 6 нм, соответственно. В присутствии HCl появляются кластеры раствора H_2O-HCl ($\delta_H = 8$ м.д.), из которых вода вымерзает при относительно высокой температуре в виде кристаллов со средним радиусом 2 и 20 нм.

В смесях органических растворителей $CDCl_3-CD_3CN$ и $CDCl_3-DMCO$ присутствие полярных веществ слабо влияет на химический сдвиг основного сигнала адсорбированной воды, что свидетельствует о плохой растворимости этих веществ в кластерах (доменах) сильноассоциированной воды.

На кривых распределения по радиусам кластеров адсорбированной воды, рассчитанных на основе ур. Гиббса–Томсона, присутствуют 2 – 3 максимума, расположенных в области 2–3, 10 – 20 нм, относящихся к сильносвязанной воде и 50 – 100 нм, относящихся к слабосвязанной воде.

Литература

1. МОЗ України, Держ. Фармакол. Центр. Лист № 512—853/А від 20.02.2006 р.7.
2. *Коротько Г.Ф.* Секречия поджелудочной железы: 2-е изд. – Краснодар: 2005. – 312 с.
3. *Маев И.В.* Клинико_фармакологический анализ эффективности лечения панкреатической недостаточности с помощью заместительной ферментной терапии // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2005. – № 4. – С. 65–73.
4. Наноматериалы и нанокмозиты в медицине, биологии, экологии /Под ред. А.П. Шпака, В.Ф. Чехуна, составители Горбик П.П., Туров В.В. – Киев: Наукова думка, 2011. – 444 с.
5. *Гулько В.М., Туров В.В., Горбик П.П.* Вода на межфазной границе. // Киев: Наукова думка, 2009. – 694 с
6. *Туров В.В., Гулько В.М.* Кластеризованная вода и пути ее использования. – Киев: Наукова думка, 2011. – 313 с.
7. *Gun'ko V.M., Turov V.V.* Nuclear Magnetic Resonance Studies of Interfacial Phenomena. – New York: Taylor & Francis, 2013. – 1070 p.
8. *Kinney, D.R., Chaung I-S., Maciel G.E.,* Water and the Silica Surface As Studied by Variable Temperature High Resolution 1H NMR. // J. Am. Chem. Soc. – 1993. – V. 115, N15. – P. 6786-6794.
9. *Strange J.H., Rahman M., Smith E.G.* Characterisation of porous solids by NMR // Phys. Rev. Lett. – 1993. – V. 71. – P. 3589–3591.
10. *Petrov O.V., Furo I.* NMR cryoporometry: Principles, application and potential // Progr. In NMR. – 2009. – V.54, N 2. – P. 97–122.
11. Термодинамические свойства индивидуальных веществ / Под ред. В.П. Глушкова.– М.: Наука, 1978. – 495с.
12. *Turov V.V., Gun'ko V.M., Turova A.A. et al.* Interfacial behavior of concentrated HCl solution and water clustered at a surface of nanosilica in weakly polar solvent media // Colloids and Surface A: – 2011. – V. 390. – P. 48–55.

ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН І ХЛОРИСТОВОДНЕВОЇ КИСЛОТИ НА БУДОВУ ГІДРАТНОЇ ОБОЛОНКИ ПАНКРЕАТИНУ

Л.П. Морозова¹, А.П. Угнівенко¹, Т.В. Крупська¹, І.С. Чекман², В.В. Туров¹

¹Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України,
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, e-mail: v_turov@ukr.net

²Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця,
01601, Київ, бульвар Тараса Шевченка, 13

Методом низькотемпературної ¹H ЯМР-спектроскопії вивчено вплив органічних речовин і хлористоводневої кислоти на стан води, адсорбованої порошком панкреатину з фіксованою кількістю (50 мг/г) залишкової води. Показано, що вода, адсорбована частками твердого панкреатину, присутня у вигляді системи кластерів з різною асоційованістю і силою зв'язування води. Слабополярне середовище хлороформу стабілізує адсорбовану воду у вигляді кластерів з хімічними зсувами $\delta_H = 3,5$ і $4,5$ м.ч. і середнім радіусом 15 і 6 нм відповідно. В присутності HCl з'являються кластери розчину H₂O–HCl ($\delta_H = 8$ м.ч.), з яких вода вимерзає при відносно високій температурі у вигляді кристалів з середнім радіусом 2 і 20 нм. В сумішах органічних розчинників CDCl₃–CD₃CN і CDCl₃–DMCO присутність полярних речовин слабо впливає на хімічний зсуви основного сигналу адсорбованої води, що вказує на погану розчинність цих речовин в кластерах (доменах) сильноасоційованої води.

EFFECT OF ORGANIC COMPOUNDS AND HYDROCHLORIC ACID ON THE STRUCTURE OF PANCREATIN HYDRATE COVER

L.P. Morozova¹, A.P. Ugnivenko¹, T.V. Krupskaya¹, I.S. Chekman², V.V. Turov¹

¹Chuiiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Street, Kyiv 03164, Ukraine, v_turov@ukr.net

²O.O. Bogomolets National Medical University, 01601, Kyiv, T. Shevchenko bulv., 13

The effect of organic compounds and hydrochloric acid on the state of water, adsorbed by pancreatin powder with fixed amount (50 mg/g) of residual water was studied using the method of low-temperature ¹H NMR spectroscopy. It is shown that the water, adsorbed on solid particles of pancreatin exists in the form of clusters with various degree of association and binding strength. Chloroform stabilizes adsorbed water in clusters with chemical shifts $\delta_H = 3.5$ and 4.5 ppm and average radius 15 and 6 nm, respectively. H₂O–HCl clusters ($\delta_H = 8$ ppm) appears in the presence of HCl. Water from these clusters freezes at a relatively high temperature in crystals with average radius 2 or 20 nm. In CDCl₃–CD₃CN or CDCl₃–DMSO mixtures the presence of polar compounds has small effect on the chemical shift of the adsorbed water. It shows poor solubility of these substances in clusters (domains) of strongly associated water.